

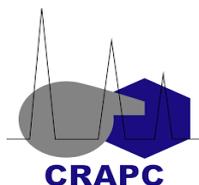
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITÉ de BLIDA 1

Faculté des sciences de la nature et de la vie

Département science alimentaire



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER EN science alimentaire

Spécialité : Agro-alimentaire et contrôle de qualité

Intitulé du mémoire

Analyse des composés α -dicarbonylés de type Méthylglyoxal (MGO) par GC-MS dans différentes variétés de café : entre fraude et réglementation.

Réalisé par :

Ould amar Abir

Nedjari Sabrina

sous la Direction :

Dr. Taibi. N

Dr. Benlammane. S

Soutenu le 13 juillet 2022 devant le jury composé de :

Pr. MEGATLI. S.

Professeur

USDB

Président

Dr. KADRI.B

Maitre de conférences B

USDB

Examinatrice

Dr. TAIBLN

Maitre de Recherche A

CRAPC

Promotrice

Dr. BENLAMMANE.S

Maitre de conférences B

USDB

Co Promoteur

Année universitaire 2021/2022

Résumé

Dans notre étude, nous avons essayé d'établir une relation causale entre la production de Méthylglyoxal et la présence de sucre dans le café. Les composés α -dicarboxylés dont le MGO fait parti sont connus pour être des intermédiaires formés essentiellement lors du traitement thermique de certains aliments. Ils apparaissent à la suite de réactions de caramélisation, de réactions de Maillard et de peroxydation lipidique. Ces derniers formés suite à la fragmentation des hexoses sont identifiés par Chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) et quantifiés par Chromatographie gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme (GC-FID) en utilisant un agent de dérivation. Les 11 cafés analysés, ont révélé la présence des 4 composés dicarboxylés les plus répandus : Méthylglyoxal (MGO), Glyoxal (GO), Diacétyl, Pentane-2,3-dione et Hexane-2,3-dione. Seul le MGO a concerné notre étude. Les valeurs en MGO récupérées dans les cafés se situent entre 47 et 103 $\mu\text{g}/\text{gramme}$ de café. Elles sont relativement plus élevées dans les cafés importés ($83.80 \pm 8.54 \mu\text{g}/\text{g}$) par rapport aux cafés locaux ($66.83 \pm 4.80 \mu\text{g}/\text{g}$). Une rapide analyse des sucres par spectroscopie infrarouge et spectrométrie UV-Visible révélera que les monosaccharides sont retrouvés à des concentrations telles que décrites dans la réglementation Algérienne, alors que les concentrations des sucres totaux sont beaucoup plus élevées. Aux regards des quantités de glucose retrouvées après hydrolyse acide suggèrerait que le café ait été mélangé à un polysaccharide alimentaire au cours du procédé de torréfaction. Afin de démontrer la relation intrinsèque entre la présence de sucre et de MGO dans notre modèle, une analyse par régression linéaire a été réalisée. En outre, la quantité et la qualité des composés α -dicarboxylés dans les mélanges de café sont incontestablement affectées par le type de sucre. En conclusion, nous pouvons confirmer que les cafés sujets de l'étude contiennent des taux de sucres réducteurs conformement à la réglementation et que la présence du Méthylglyoxal est directement liée à la présence d'amidon.

Mots Clés : Composés α -dicarboxylés, Méthylglyoxal, Sucres réducteurs, Sucres totaux, GC-MS et GC-FID.

Abstract

In our study, we tried to establish a causal relationship between the production of Methylglyoxal and the presence of sugar in coffee. The α -dicarbonyl compounds, of which MGO is a part, are known to be intermediates formed essentially during the heat treatment of certain foods. They appear as a result of caramelization reactions, Maillard reactions and lipid peroxidation. The latter formed following the fragmentation of hexoses are identified by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) and quantified by gas chromatography coupled to a flame ionization detector (GC-FID) using a derivatizing agent. The 11 coffees analyzed revealed the presence of the 4 most common dicarbonyl compounds: Methylglyoxal (MGO), Glyoxal (GO), Diacetyl, Pentane-2,3-dione and Hexane-2,3-dione. Only the MGO concerned our study. The MGO values recovered in coffees are between 47 and 103 $\mu\text{g}/\text{gram}$ of coffee. They are relatively higher in imported coffees ($83.80 \pm 8.54 \mu\text{g}/\text{g}$) compared to local coffees ($66.83 \pm 4.80 \mu\text{g}/\text{g}$). A quick analysis of the sugars by infrared spectroscopy and UV-Vis spectrometry will reveal that the monosaccharides are found at concentrations as described in the Algerian regulations, while the concentrations of total sugars are much higher. Looking at the amounts of glucose found after acid hydrolysis would suggest that the coffee was mixed with a food polysaccharide during the roasting process. In order to demonstrate the intrinsic relationship between the presence of sugar and MGO in our model, a linear regression analysis was performed. Furthermore, the quantity and quality of α -dicarbonyl compounds in coffee blends are unmistakably affected by the type of sugar. In conclusion, we can confirm that the subject coffees of the study contain levels of reducing sugars in accordance with the regulations and that the presence of Methylglyoxal is directly linked to the presence of starch.

Keywords: α -Dicarbonyl Compounds, Methylglyoxal, Reducing Sugars, Total Sugars, GC-MS and GC-FID.

ملخص

في دراستنا، حاولنا إنشاء علاقة سببية بين إنتاج ميثيل جليوكسال ووجود السكر في القهوة. من المعروف أن مركبات α -dicarbonyl، والتي تعد MGO جزءًا منها، هي مركبات بسيطة تشكلت أساسًا أثناء المعالجة الحرارية لبعض الأطعمة. تظهر نتيجة تفاعلات الكراميل، تفاعلات ميلارد وبيروكسيد الدهون. تم تحديد الأخير الذي تم تشكيله بعد تجزئة السداسيات بواسطة كروماتوغرافيا الغاز المقترنة بمقياس الطيف الكتلي (GC-MS) وقياسها عن طريق كروماتوغرافيا الغاز المقترنة بكاشف تأين اللهب (GC-FID) باستخدام عامل اشتقاق. كشفت 11 فنجان قهوة تم تحليلها عن وجود 4 مركبات ديكاربونيل الأكثر شيوعًا: ميثيل جليوكسال (MGO)، جليوكسال (GO)، دياسيتيل، بننان -2، 3 ديون، هيكسان -2، 3 ديون. فقط MGO المعنية بدراستنا. تتراوح قيم MGO المستردة في القهوة بين 47 و103 ميكروغرام / جرام من القهوة. وهي أعلى نسبيًا في القهوة المستوردة (8.54 ± 83.80 ميكروغرام / جرام) مقارنة بالقهوة المحلية (4.80 ± 66.83 ميكروغرام / جرام). سيكشف تحليل سريع للسكريات عن طريق التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء وقياس الطيف بالأشعة المرئية وفوق البنفسجية أن السكريات الأحادية توجد بتركيزات كما هو موصوف في اللوائح الجزائرية، في حين أن تركيزات السكريات الكلية أعلى من ذلك بكثير. إن النظر إلى كميات الجلوكوز الموجودة بعد التحلل المائي الحمضي يشير إلى أن القهوة قد اختلطت مع عديد السكاريد الغذائي أثناء عملية التحميص. من أجل إظهار العلاقة الجوهرية بين وجود السكر وMGO في نموذجنا، تم إجراء تحليل الانحدار الخطي. علاوة على ذلك، تتأثر كمية ونوعية مركبات α -dicarbonyl في خلطات القهوة بشكل واضح بنوع السكر. في الختام يمكننا أن نؤكد أن البن موضوع الدراسة يحتوي على مستويات من السكريات المختزلة وفق اللوائح وأن وجود ميثيل جليوكسال مرتبط بشكل مباشر بوجود النشا..

الكلمات المفتاحية: مركبات α -Dicarbonyl، ميثيل جليوكسال، سكريات مخفضة، إجمالي السكريات، GC-MS و .

GC-FID

Tout d'abord, nous remercions Dieu le Tout-Puissant de nous avoir donné la force et la volonté de commencer et de terminer cette thèse.

Etudier dans ce domaine peut être très stressant et même parfois frustrant, mais avec l'aide de Dieu, nous avons réussi à atteindre nos objectifs

El Hamdouli 'Allah

Remerciement

Tout d'abord, nous voulons exprimer notre gratitude à notre promotrice " Madame TAÏBI Nadia", pour avoir pris le temps de nous superviser tout en nous prodiguant de précieux et inestimables conseils. Son expérience nous a aidés à surmonter toutes les difficultés auxquelles nous avons pu être confrontés au cours de notre travail.

Nous tenons également à remercier le Dr. BENLAMMANE. Samira de l'Université de BLIDA 1 pour avoir assuré la Codirection de ce travail. Sa patience, ses orientations et ses encouragements nous ont donné beaucoup de courage.

Nous souhaitons aussi exprimer notre gratitude à chacun des membres du jury qui ont accepté de prendre le temps de juger ce modeste mémoire dans son ensemble, et nous offrir l'opportunité de partager un espace de discussion et de réflexion. Leur vision de professionnelle est plus qu'estimable.

Nous désirons aussi formuler notre reconnaissance aux nombreux professeurs que nous avons eus tout au long de notre cursus universitaire ; chacun d'entre eux nous a aidés à enrichir nos connaissances. Leur présence et leur aide ont forgé notre caractère et nous ont aidés à nous épanouir.

Nous voulons également remercier tout spécialement Mr. Rachid AMERAOUI, pour son aide extraordinaire et son attitude positive, il a toujours été là quand nous avons besoin d'une aide professionnelle, merci beaucoup.

Nous souhaitons remercier tous ceux qui nous ont inspirés ou motivés de quelque manière que ce soit, de près ou de loin.

Dédicace 1

Avec l'expression de ma reconnaissance je dédie ce travail À mes très chers parents qui n'ont jamais cessé de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs, quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point de vous remercier comme il se doit. Je vous aime.

À ma très chère sœur hanine qui ma encourager et soutenir tout au long de mes études.

Et mon cher frère Abdelghani qui m'a vraiment aidé. Merci d'être là pour moi.

À mon cher binôme Sabrina et sa famille, Toute ma gratitude pour eux et leur générosité

À ma meilleure amie Zineb qui m'a toujours soutenu

A ma tante et mes chères cousines, et à tous mes amis proches anciens et nouveaux, merci de votre soutien et de votre complicité. Mes sincères gratitudees à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

OULD AMAR ABIR

Dédicace 2

Je dédie ce modeste travail à une personne très spéciale dans ma vie et la plus proche de à cœur : "Ma très chère et tendre mère". Ma mère a sacrifié sa vie pour que je puisse construire la mienne. Ses précieux conseils et son soutien incommensurable, elle a réussi à me guider vers la voie de la réussite. La personne qui a été plus qu'un parent pour moi, elle a endossé plusieurs rôles ; celui d'une mère, d'un père et d'une amie. Merci maman pour cette merveilleuse complicité, que Dieu te protège et te garde.

Je veux aussi dédier à mon défunt **père, toujours présents dans nos mémoires et nos cœurs ce modeste travail**. Merci papa d'avoir porté ta petite fille à bout de bras pendant toutes ces années et d'avoir fait de moi une personne responsable avec des valeurs morales et des principes à tout épreuve, je suis très fière de toi, je l'ai toujours été. Puisse Dieu t'accueillir en son vaste paradis.

A **ma sœur zineb** qui m'a toujours poussée à être meilleure, tu m'as soutenue quoiqu'il arrive. Merci de toujours croire en moi et en mes aptitudes.

A **mon frère faycal** pour toutes les heures qu'il m'a consacrées, malgré ses horaires de travail difficiles, renonçant parfois à son confort pour que je puisse m'épanouir.

A **ma grand-mère** qui a été plus qu'une grand-mère pour moi. Ses prières m'ont toujours aidée mentalement et spirituellement à franchir les obstacles. Que la miséricorde de Dieu soit sur elle.

Je ne peux en aucun cas oublier de remercier Govid qui a toujours été là et qui a travaillé très dur pour m'aider à traverser mentalement et physiquement cette épreuve, qui a cru en moi.

Merci Govid d'être présent pour moi

A ma meilleure amie depuis 9 ans **jin**, qui m'a toujours inspirée et soutenue de toutes les manières possibles. Merci Jin.

A mon binôme et mon amie **Abir** pour avoir manipulé et travaillé avec moi sur ce mémoire, j'ai vraiment notre collaboration et notre complicité.

A **Yasmine** et à ma cousine **Sarah** qui n'a pas seulement été une cousine mais aussi une amie chère, **ilhem** aussi, et à tous mes amis proches anciens et nouveaux, merci de votre soutien et de votre complicité.

Mes sincères gratitudee à tous les membres de ma famille de près ou de loin et surtout à mes tantes.

NEDJARI SABRINA

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION GENERALE	1
CHAPITRE 1 SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	1
SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	3
1.1 Composés alpha-dicarbonylés	3
1.2 Méthylglyoxal.....	5
1.3 Formation des composés alpha-dicarbonylés dans les aliments traités thermiquement	6
1.3.1 Formation par la réaction de Maillard.....	6
1.3.2 Formation par auto-oxydation et dégradation des sucres	9
1.4 Méthodes de traitement thermique	10
1.4.1 Méthodes de chauffage à sec	11
1.4.1.1 Torréfaction	11
1.5 Application du traitement thermique	12
1.6 Les Dangers chimiques des traitements thermiques.....	13
1.7 Toxicité des composés alpha-dicarbonylés en particulier le Méthylglyoxal.....	15
1.8 Règlementation concernant les denrées alimentaires en général et le café en particulier	16
1.9 Chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (GC-MS).....	17
1.9.1 Colonnes de chromatographie en phase gazeuse	19
2 Matériel et méthode	21
2.1 Produits chimiques et réactifs.....	21
2.2 Café.....	22
2.3 Détermination des composés alpha-dicarbonylés.....	26
2.3.1 Extraction, identification et quantification du Méthylglyoxal dans le café	26

2.3.1.1	Préparation de l'échantillon pour analyse.....	26
2.3.1.2	Préparation des solutions étalons : 2-méthylquinoxaline (2-MQ) et Naphthalène	27
2.4	Identification des composés alpha-dicarbonylés par Chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS)	28
2.4.1	Instrumentation et conditions chromatographiques :.....	28
2.4.2	Validation de la méthode d'analyse du méthylglyoxal.....	28
2.4.2.1	Spécificité :.....	29
2.4.2.2	Linéarité :	29
2.4.2.3	Exactitude :.....	29
2.4.2.4	Fidélité :.....	29
2.4.2.5	Limite de détection (LDD) et limite de quantification (LDQ)	29
2.5	Identification qualitative et analyse quantitative par spectroscopie Infrarouge à transformée de Fourier (ATR-FTIR) des sucres dans le café :.....	30
2.5.1	Préparation de l'échantillon de café et de la gamme étalon du D-Glucose avec du bromure de potassium (KBr) :	30
2.6	Quantification des sucres totaux et réducteurs dans les échantillons de café par spectrophotométrie UV-Vis :.....	31
2.6.1	Quantification des sucres totaux par la méthode phénol-acide sulfurique (Y. Wang and Ho 2008b).....	31
2.6.2	Quantification des sucres réducteurs par la méthode 3,5 Dinitrosalicylic acid (DNSA)	33
2.7	Etude statistique.....	34
3	RESULTATS	35
3.1	Identification des composés alpha-dicarbonylés par GC-MS et quantification par GC-FID	35
3.1.1	Validation de la Méthode de Quantification	37
3.2	Analyse des sucres :.....	40

3.2.1	Spectroscopie Infrarouge :.....	40
3.2.1	Spectrométrie UV-Visible.....	43
3.2.1.1	Sucres Totaux	43
3.2.1.2	Sucres Réducteurs.....	44
3.3	Saccharose/Sucrose.....	46
3.4	Analyse des comparaisons multiples :.....	48
3.5	DISCUSSION.....	51
	CONCLUSION & PERSPECTIVES :.....	56
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	57
	ANNEXE.....	62

Liste des figures

Figure 1. Structure des 19 Composés alpha-dicarbonylés les plus connus	5
Figure 2. Formation des composés dicarbonylés à partir du glucose et des acides aminés via la réaction de Maillard.....	8
Figure 3. Formation des composés alpha-dicarbonylés à partir de la dégradation et de l'oxydation du Glucose	10
Figure 4. Schéma (en coupe) d'une colonne remplie (à gauche) et d'une colonne capillaire (à droite) : Guillaume George-Licence : CC-BY-NC-SA.....	19
Figure 5. Illustration des phases stationnaires polaire Carbowax® (en haut) et apolaire SE-30 (en bas), greffées sur la surface interne du tube capillaire en silice fondue (Guillaume George-Licence : CC-BY-NC-SA)	20
Figure 6. Méthode d'extraction liquide-liquide.....	27
Figure 7. Réaction de dérivatisation utilisée pour déterminer les composés dicarbonylés	27
Figure 8. L'intervalle de mesure dépend de la mesure dans laquelle le système de mesure peut	30
Figure 9. Réaction de formation du complexe coloré en phénol-sulfurique	32
Figure 10. Réaction du sucre réducteur avec le réactif acide 3,5-dinitro-salicylique.	33
Figure 11 Réduction du DNSA en acide 3, amino-5 nitrosalicylique en solution alcaline.....	34
Figure 12. Chromatogramme montrant les différents dérivés des composés alpha-dicarbonylés obtenus en mode SCAN par GC-MS	35
Figure 13. Droite d'étalonnage de la 2-Méthylquinoxaline dopée avec 5µl de Naphtalène	36
Figure 14. Profile du Méthylglyoxal dans les 11 variétés de café ; I : Importés, L : locaux...	37
Figure 15. Spectre ATR-FTIR d'un échantillon de café (E11.1).....	41
Figure 16. Spectre infrarouge acquis en double d'un échantillon de café (E9.1 et E9.2) utilisant la spectroscopie ATR-FTIR	41
Figure 17. Courbe d'étalonnage du Glucose obtenu à partir d'un spectre ATR-FTIR.....	42
Figure 18. Profile des sucres totaux extraits de l'analyse par spectroscopie ATR-FTIR.....	43

Figure 19. Courbe d'étalonnage du D-Glucose obtenue après traitement au phénol-acide sulfurique.....	44
Figure 20. Dosage des sucres totaux par la méthode du Phénol-acide sulfurique	44
Figure 21. Courbe d'étalonnage du D-Glucose par la méthode au DNS	45
Figure 22. Dosage des sucres réducteurs par la méthode au 3,5 acide Dinitrosalicylic	46
Figure 23. Estimation du taux de Saccharose dans les cafés locaux et importés	47
Figure 24. Estimation des Sucres Totaux, Réducteurs et du Saccharose dans les 11 échantillons de café	48
Figure 25. Analyse comparative entre les sucres totaux analysés par la méthode utilisant l'UV-Visible (rouge) et la spectroscopie infrarouge (bleu)	49
Figure 26. Superposition du Méthylglyoxal et des sucres totaux dans un modèle de réciprocity	49
Figure 27. Superposition du Méthylglyoxal et des sucres réducteurs dans un modèle de réciprocity.....	50
Figure 28. Superposition du Méthylglyoxal et du Saccharose dans un modèle de réciprocity	50

Liste des tableaux

Tableau 1. Les effets secondaires liés aux traitements thermiques	14
Tableau 2. Produits chimiques utilisés dans l'analyse du Méthylglyoxal.....	21
Tableau 3. Réactifs chimiques utilisés	22
Tableau 4. Liste des principaux cafés vendus dans le monde.....	23
Tableau 5. Types de café utilisé pour notre étude.....	25
Tableau 6. Les différentes concentrations de Méthylglyoxal produites lors de la dégradation des sucres dans les échantillons de café locaux et importés	36
Tableau 7. Données d'étalonnage et paramètres de validation pour la détermination par GC-FID de la MGO	39
Tableau 8. Exactitude et précision du dosage de la solution étalon 2-MQ	39
Tableau 9. Evaluation quantitative du taux de sucre dans les échantillons de café par Spectroscopie infrarouge.....	42
Tableau 10. Evaluation quantitative des sucres totaux dans les échantillons de café par Spectrométrie UV-Visible.....	43
Tableau 11. Evaluation quantitative des sucres réducteurs dans les échantillons de café par Spectrométrie UV-Visible.....	45
Tableau 12. Concentration de saccharose rapportée dans les 11 échantillons de café.....	47
Tableau 13. différentes concentrations de la gamme étalon de la 2-MQ.....	62
Tableau 14. différentes concentrations de la gamme étalon du D-Glucose et de KBr	63

Liste d'abréviations

A-DC :	α -Dicarbonylés.
ATP :	Adénosine Triphosphate.
2-MQ :	2-Méthyl-quinoxaline.
AGEs:	advanced glycation end products.
ATR-FTIR :	Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier.
CV :	Coefficient de variation.
DNSA :	3,5-Dinitrosalicylic Acid.
FDA:	Food and Drug Administration.
GC-FID :	Chromatographie phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme.
GC-MS :	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.
HAA :	Amines aromatiques hétérocycliques.
HMF :	5-Hydroxyméthylfurfural.
LDD :	Limite de Détection.
LDQ :	Limite de Quantification.
MGO :	Méthylglyoxal.
MRP :	Maillard réaction Product.
NA :	Nitrosamine.
OP-D :	O-Phénylène-diamine.

RSD : Relative Standard Déviation.
SD : Standard Déviation.
SDI: Standard Deviation of Intercept.
SE: Standard Error of Intercept.

INTRODUCTION

GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Les composés α -dicarboxylés sont une classe de composés carbonylés hautement réactifs, précurseurs clés des arômes et des colorants alimentaires. La formation de ces dits fragments (glyoxal, méthylglyoxal, butane-2,3-dione) à partir de mono et de disaccharides dans des conditions de caramélisation et de réaction de Maillard a largement été étudiée par de nombreux auteurs mais reste toujours un problème d'actualité quand il s'agit de répondre à un problème de santé publique. Ils sont également impliqués dans la formation de nombreux composés toxiques tels que le 5-hydroxy-méthyl-furfural (HMF), l'acrylamide et le 4(5) - méthyl-imidazole) au cours de la transformation des aliments, ce qui réduit considérablement leur valeur nutritionnelle. Les nombreux systèmes de modélisation utilisant les sucres et parfois les acides aminés sont unanimes pour dire que les monosaccharides forment une plus grande quantité de dicarboxyles que les disaccharides et que le glucose forme plus de composés dicarboxyles que le fructose. **Shaw et al., 1968** ont démontré lors d'expérience de clivage du fructose que l'hydroxyacétone, la 1-hydroxy-butane-2-one représentaient les précurseurs de cinq composés alicycliques. **Huyghues-Despointes et Yaylayan (1996)** démontrent à leur tour que le chauffage du méthylglyoxal à 100°C pendant 8 min n'engendrerait pas moins de 40 composés à l'exemple du propane-1,2-diol, de l'acide acétique, de l'acétol et du 2,4-diméthyl-1,3-dioxolane, ce qui nous amène à nous interroger quant aux procédés thermiques utilisés dans l'industrie du café.

Dans notre présente étude, nous nous sommes intéressés à une matrice qui est très prisée du consommateur Algérien et qui est consommée à outrance. En moyenne 3-4 tasses de café sont ingurgitées par jour et par personne augmentant de ce fait les quantités de Dicarboxyles sanguins. Cette boisson infusée préparée à partir des cerises de café torréfiés serait originaire des hauts plateaux de l'Ethiopie et de l'Afrique tropicale, sa découverte remonte à 850 ans, et la situe en Abyssinie. Après avoir fixé notre matrice, nous nous sommes attelés à répondre à notre problématique à savoir l'existence d'une relation de causalité entre la production de Méthylglyoxal dans les cafés et l'ajout de sucre. Deux aspects ont été considérés ; un aspect purement analytique en utilisant les systèmes chromatographiques de haute performance couplés à différents détecteurs (MS et FID) ainsi que des méthodes d'analyses s'appuyant sur la spectroscopie infrarouge et la spectrométrie UV-Visible pour le dosage des sucres et un autre aspect celui du contrôle de la qualité en insistant sur la notion de fraude. Les points cardinaux de notre étude ont permis de faire ressortir l'aspect réglementaire

touchant à certaines denrées alimentaires plus exactement le café, comme l'ajout d'additifs et les techniques de traitements en industries.

Le manuscrit se compose de trois grands en trois chapitres. Le premier chapitre est réservé à une synthèse bibliographique concernant la formation des composés alpha dicarbonylés de type méthylglyoxal et son effet sur la santé, Le second chapitre est consacré à la partie matérielle et méthodes. Le troisième chapitre regroupe les résultats obtenus et leurs discussions.

Enfin nous terminerons par une conclusion générale sur les principaux résultats de cette étude.

CHAPITRE 1
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1 Composés alpha-dicarbonylés

Les composés α -dicarbonylés (α -DC) sont des composés largement présents dans les aliments traités thermiquement mais aussi dans ceux stockés depuis longtemps, ce sont des composés organiques de faible poids moléculaire, de couleur jaune, renfermant deux groupes carbonyles sur le carbone α 1. Ils sont produits à partir de réactions de caramélisation, de la réaction de Maillard et de la peroxydation lipidique lors de la transformation des aliments (torréfaction, cuisson au four, grillade et friture) (**Ethania and Française 2001**). Ils se forment également dans les aliments et les boissons fermentés via le métabolisme des micro-organismes et dans les plantes via la formation de produits de défense contre les stress environnementaux, tels que la salinité, la sécheresse et le froid, nous les retrouvons aussi dans les aérosols atmosphériques, les fumées et les produits médicaux (**Budryn et al. 2009**). Bien qu'ils soient répertoriés comme nocifs pour la santé, de nombreuses études attirent l'attention du consommateur sur les aspects organoleptiques et les propriétés sensorielles dégagés par ces produits à l'exemple de la saveur, de la couleur et des arômes. Un panel de 19 composés (α -DC) a été quantitativement et qualitativement détecté dans les produits de grande consommation parmi lesquels nous retrouvons le glyoxal (GO), le méthylglyoxal (MGO), le 2,3-butanedione (2,3-BD), et la 3-désoxyglucosone (3-DG), la Figure 1 englobe l'essentiel de ces composés. Le MGO et le GO étant les plus étudiés, ils ont été détectés dans les boissons non-alcoolisées (**Y. Wang and Ho 2008a**) le miel et le café.

Comme décrit plus haut, ces produits chimiques sont des intermédiaires de la réaction de Maillard. Celle-ci se produit via la dégradation de Strecker. Au cours de cette réaction chimique, les acides aminés sont convertis en aldéhydes par les dérivés carbonyles. Cette dégradation oxydative conduit très souvent à la formation de molécules aromatiques à l'exemple des oxazoles, des pyrazines et des thiazoles (**Marceau and Yaylayan 2009**). Outre les molécules conventionnelles (MGO et GO), le furanéol a aussi été découvert dans les préparations crues et transformées comme le café et les amandes torréfiés formé essentiellement par cyclisation ou la réorganisation des aldéhydes. Finalement, les composés alpha-dicarbonylés peuvent réagir avec de nombreuses molécules telles que les peptides mais aussi les phospholipides pour produire des produits finaux de la glycation avancée (AGEs= Advanced glycation end Products) (**Y. Wang and Ho 2008a**).

Dans les systèmes biologiques, le méthylglyoxal est un composé hautement mutagène et cytotoxique formé par fragmentation non-enzymatique du triose phosphate glyceraldéhyde-3-phosphate (GAP) et du dihydroxyacétone phosphate (DHAP) au cours de la glycolyse. Cette étape incontournable du métabolisme glucidique contribue à repositionner l'équilibre énergétique entre des situations physiologiques et pathologiques. Une alternance qui est constamment gérée par le système glyoxalase.

Il faut savoir que tous les organismes combinent des systèmes intrinsèques et extrinsèques pour se protéger et se défendre contre un éventuel stress qu'il soit oxydatif ou chimique. De ce fait, un rôle central a été attribué à la voie de détoxification du méthylglyoxal dans l'organisme. L'étape de détoxification comporte de nombreuses réactions chimiques dites spontanées conduisant à la production de D-lactate, elles visent à générer de l'énergie intracellulaire (ATP) nécessaire à la prolifération cellulaire, à la maturation et à la croissance tumorale. Le glutathion (GSH) réagit avec le méthylglyoxal pour donner un hémithioacétal, qui est converti en S-D-lactoyl-glutathion par la glyoxalase I. Ce thioester est hydrolysé en D-lactate par la glyoxalase II. Il a également été rapporté qu'en l'absence totale de GSH chez une levure ; le stress oxydatif provoquait des dommages aux niveaux cytoplasmiques et nucléaires ce qui engendraient une inhibition de leurs activités traductionnelle et transcriptionnelle et donc la mort cellulaire (**Taïbi.N.,al 2020**).

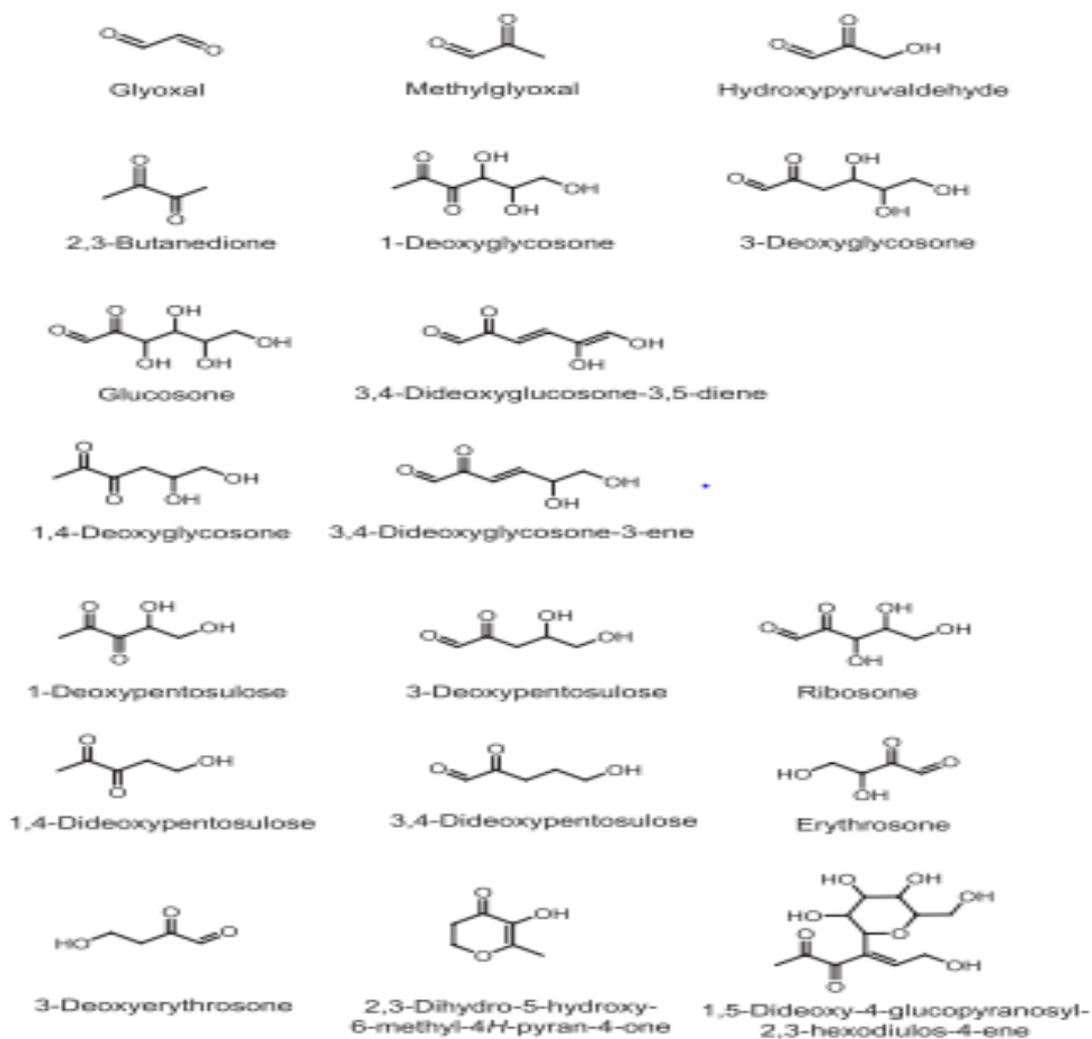


Figure 1. Structure des 19 Composés alpha-dicarbonylés les plus connus

1.2 Méthylglyoxal

Le MGO connu également sous le nom de Pyruvaldéhyde est produit pendant l'auto-oxydation des sucres, la dégradation des lipides pendant le stockage et la transformation, et la réaction de Maillard. Le Méthylglyoxal est un composé aldéhyde hautement réactif précisément lors qu'il est produit de manière endogène dans les cellules et de manière exogène en raison des procédés d'auto-oxydations. Il est intéressant de noter que le diabète a été la première maladie à mettre en évidence une production accrue de MGO dans l'organisme.

La population générale est régulièrement exposée au MGO lors de la consommation de boissons alcoolisées (vin et bière), d'aliments (café, pain, soja et miel) et de produits

laitiers car c'est au cours des procédés de fermentation microbienne que les micro-organismes libèrent du MGO dans les aliments. Ce dernier est utilisé comme aromatisant dans la synthèse organique mais aussi dans les formulations de bronzage.

La glycation non-enzymatique, également connue sous le nom de réaction de Maillard, est une série complexe de réactions entre des sucres réducteurs et des composés aminés. Des études antérieures ont démontré que les composés dicarbonylés réactifs à l'exemple, du méthylglyoxal [MGO] et du glyoxal [GO] sont des produits intermédiaires issus de la réaction de Maillard, ils modifient irréversiblement et progressivement les protéines au fil du temps pour donner des produits finaux d'avancée (AGEs), qui contribuent au développement et au maintien du diabète sucré et de ses complications (**J. Wang and Chang 2010**). Plusieurs études ont montré que les concentrations de MGO dans le plasma de patients diabétiques étaient plus élevées que celles retrouvées dans le plasma de personnes saines.

1.3 Formation des composés alpha-dicarbonylés dans les aliments traités thermiquement

Les composés α -Dicarbonylés proviennent essentiellement des réactions de brunissement des saccharides issus de procédés sous vide ou sous pression atmosphérique, il en résulte une production de caramel aromatique d'où le terme de caramélisation, de la réaction de Maillard et de la peroxydation des lipides pendant la transformation des aliments. La manière dont les α -DC sont formés dépend étroitement de la composition de la matière alimentaire (nutriments) et des paramètres de leur transformation. Par exemple, la caramélisation nécessite des températures supérieures à 120 °C ou un pH compris entre 3 et 9, tandis que la réaction de Maillard se déroule efficacement à des températures supérieures à 50 °C et à un pH entre 4 à 7 (**Kroh 1994**). Parmi ces réactions, la réaction de Maillard et la dégradation des sucres ont été les mieux étudiées.

1.3.1 Formation par la réaction de Maillard

On assimile souvent la Réaction de Maillard à la réaction de brunissement non-enzymatique, Cette dernière appellation est beaucoup plus générale car elle englobe, non seulement la précédente, mais aussi, toutes autres réactions qui affectent les composants alimentaires au cours des procédés technologiques de cuisson, de déshydratation, de transformation et de conservation. Les différentes étapes de cette réaction de condensation entre les sucres et les acides aminés (**Cha, Debnath, and Lee 2019b**). Et d'une part, la

formation de composés volatils responsables de la flaveur des aliments c'est-dire du goût de l'odeur et de l'arôme et, d'autre part, la formation des pigments bruns de haut poids moléculaire (mélanoidines) qui constitue à la majeure partie de la réaction.

Il faut savoir que la réaction de Maillard a subi très peu de modifications depuis les travaux de **Hodge 1953**.

Les Aldosylamines issus du glucose (aldose) donneront des cétosylamines par réarrangement d'Amadori. Les cétooses (fructose) sont transformés en cétosylamines qui se réarrangent en aldosylamines. Ces derniers sont la clé de voute de la chimie des arômes formés au cours de la réaction de Maillard. Par dégradation thermique et déshydratation, ils donnent des composés carbonylés (aldéhydes, α -dicétones, réductones, déshydroréductones) qui vont jouer un rôle primordial dans la formation des composés volatils.

Les différentes étapes de la réaction de Maillard comptent :

1. Formation des intermédiaires d'AMADORI et HEYNS.
2. Réarrangement des intermediares d'AMADORI et HEYNS : réductones et déshydroréductones.
3. Formation des composés volatils :
 - 3.1 Déshydratation des intermédiaires d'AMADORI et HEYNS réarrangés.
 - 3.2 Rétroaldolisation des sucres réarrangés.
 - 3.3 Dégradation des acides aminés selon Strecker.
 - 3.4 Formation des hétérocycles.
 - 3.5 Formation des mélanoidines.

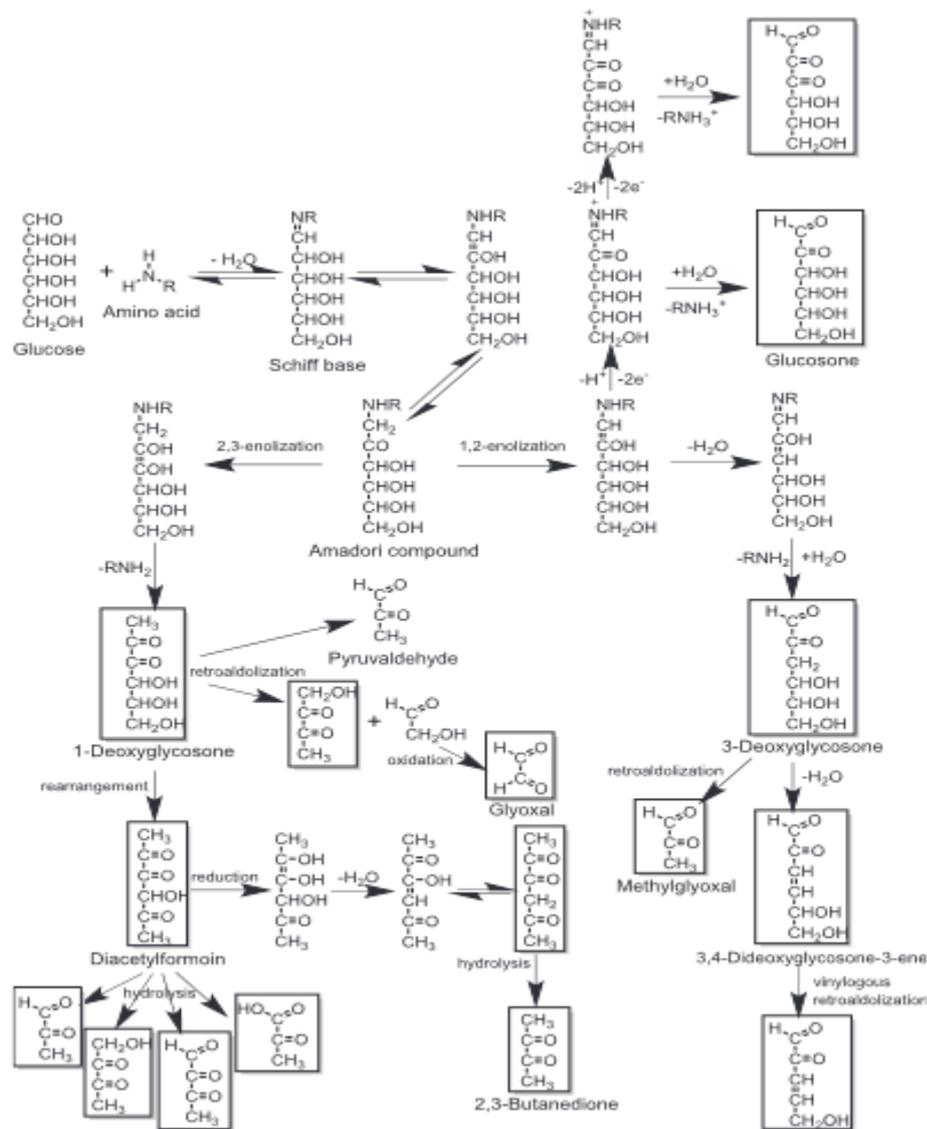


Figure 2. Formation des composés dicarboxylés à partir du glucose et des acides aminés via la réaction de Maillard

Au cours de la préparation et de la conservation des aliments, la réaction de Maillard n'affecte pas seulement les propriétés organoleptiques des aliments mais aussi leur valeur nutritionnelle. **En 1977, Hurrel et al.**, démontrent que sous un régime à base de protéines brunies, les animaux de laboratoires présentaient de nombreux effets physiologiques, biochimiques, et toxicologique. Les données toxicologiques publiées sur les substances aromatisantes autorisées comme additifs (**Moran, E. D., Easterday 1980**) font apparaitre des produits dont les doses léthales aigue (DL_{50}) sont comprises entre 100 et 400 mg/Kg. Dans les arômes dans lesquels les molécules odorantes sont à l'état de trace, ces problèmes de toxicité ne semblent pas se poser.

1.3.2 Formation par auto-oxydation et dégradation des sucres

Il a été rapporté que d'autres sucres réducteurs pouvaient agir comme précurseurs des composés α -dicarbonylés. Des composés tels que le glyoxal, le méthylglyoxal et le diacétyl peuvent provenir de l'isomérisation et de la rétro-aldolisation de la molécule de sucre correspondante et de l'auto-oxydation sans la présence de protéines, ou par clivage du 1-désoxyhexosulose. Par exemple, la formation de MGO, le composé α -dicarbonylé le plus commun, a été observée pendant le traitement thermique du glucose, du fructose, du maltose et du maltulose. En effet, les quantités de MGO obtenues à partir des monosaccharides étaient significativement plus élevées que celles obtenues à partir des disaccharides, de même que la quantité obtenue à partir du glucose par rapport au fructose. Ces composés α -dicarbonylés formés par la dégradation des sucres se produisent dans n'importe quelles conditions liées au traitement des aliments, mais sont plutôt très favorables dans des conditions alcalines. **(Zheng, Ou, and Ou 2019)**

La dégradation des sucres réducteurs est un processus fondamental dans la formation des composés aromatiques, du goût et de la couleur pendant la transformation des aliments **(Zheng, Ou, and Ou 2019)** La dégradation des aldoses et des cétooses, implique généralement une myriade de réactions d'isomérisation, de déshydratation ou d'oxydation, conduisant à des intermédiaires α -dicarbonylés relativement plus réactifs. Il faut savoir que la formation du MGO par condensation rétro-aldol se produit principalement dans les aliments contenant beaucoup d'hydrates de carbone, notamment des monosaccharides. **(Zheng, Ou, and Ou 2019)**

Il a été rapporté que pendant le processus de chauffage, le miel à forte teneur en glucose et en fructose forme du MGO par dégradation du sucre. **(Mottram 2007)** Un exemple concret d'un aliment très consommé.

Bien que le glucose soit considéré comme le principal précurseur des α -DC dans les aliments, le D-galactose et certains oligosaccharides peuvent également en produire, comme la 3-désoxy-galactosone (3-DGal), le galactose et la 3-désoxy-pentosone (3-DPS). Sur cette base, **Bravo et al. Et Hellwig et al. 2010** suggèrent deux voies de formation du 3-DGal. Lorsque les aliments sont chauffés et/ou que l'eau devient limitée, l'intermédiaire 3,4-DGE se déshydrate et forme le produit final thermodynamiquement stable HMF.

Ces fragments de sucre possèdent une activité de brunissement beaucoup plus élevée que les monosaccharides (**Hayashi and Namiki 1986**) et jouent un rôle clé dans la formation de certains composés aromatiques, comme les pyrazines. **Weenen et al.** ont proposé trois différents mécanismes de clivage pour la fragmentation de la partie sucre : rétro-aldolisation, clivage b-dicarbonyl et clivage a-dicarbonyl. (**Hollnagel and Kroh 1998**)

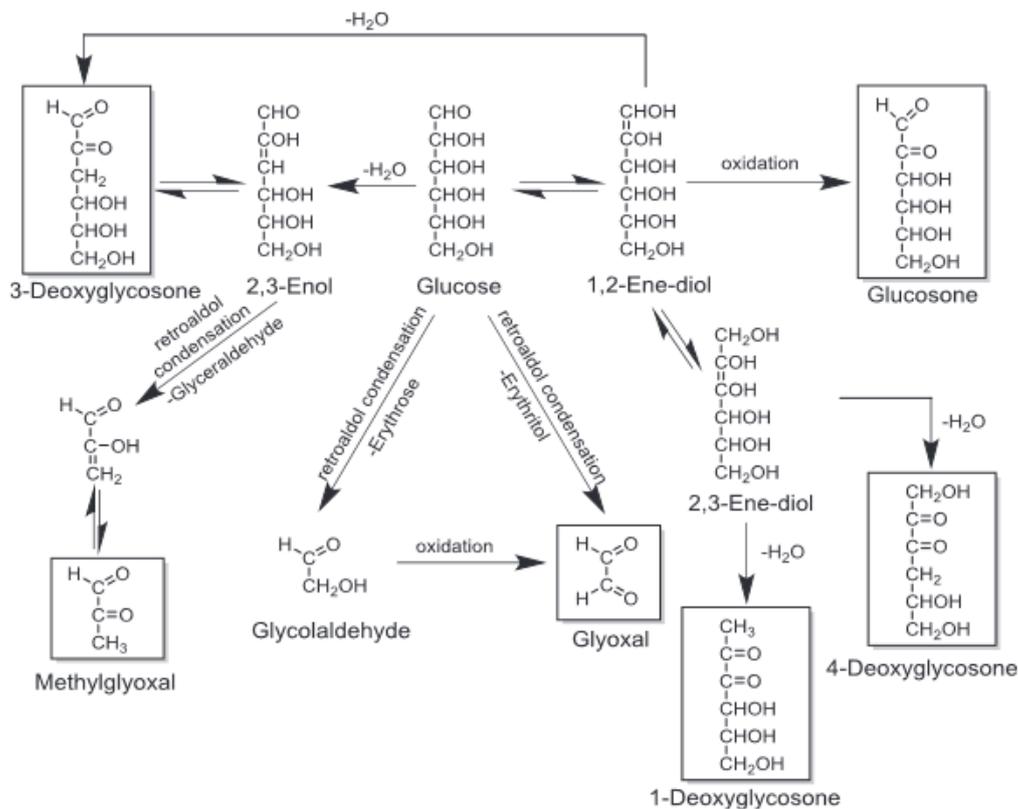


Figure 3. Formation des composés alpha-dicarbonylés à partir de la dégradation et de l'oxydation du Glucose

1.4 Méthodes de traitement thermique

Le traitement thermique est le chauffage des aliments à une température spécifique pendant une période de temps prolongée et est prévalent dans de nombreux processus de technologie alimentaire. Le besoin croissant d'améliorer la sécurité et la qualité des aliments a conduit au développement de nouvelles technologies de traitement thermique. Selon la forme de chauffage, le traitement thermique peut être divisé en deux catégories : les procédés à chaleur sèche et les procédés à chaleur humide. Les procédés à chaleur sèche sont toutes les

techniques qui transfèrent de la chaleur aux aliments sans humidité. En revanche, la chaleur humide comprend toutes les techniques qui impliquent un chauffage avec de l'humidité.

De nombreuses études sur le Méthylglyoxal ont permis de fixer les facteurs impliqués dans sa formation. Par exemple, **Martins et al.2017** ont montré que le pH n'avait pratiquement aucun effet sur la formation de MGO. En revanche, une augmentation de la température de 100 à 120 °C multipliait les niveaux de MGO par deux. **Nedvidek et al.**, apportent à leur tour de l'eau à l'édifice en montrant qu'en changeant certaines conditions expérimentales les données étaient quelques peu inversées. En effet, de faibles quantités de MGO ont été enregistrées lorsque le pH varié de 5 à 7 dans un mélange réactionnel contenant de la glycine et de l'alanine chauffé dans un tampon phosphate pendant 12 h. Par conséquent, la température est un facteur clé affectant la formation et la concentration des composés dicarboxylés.

1.4.1 Méthodes de chauffage à sec

Les aliments sont chauffés à sec en les entourant directement de flammes ou indirectement d'air ou d'huile étouffée. Les deux procédés se déroulent à des températures plus élevées (jusqu'à 300 °C), ce qui entraîne une série de changements sensoriels et organoleptiques qui diffèrent de la cuisson à la chaleur humide. En particulier, le brunissement de la surface et le développement de la saveur dus à la réaction de Maillard, ainsi que la variation de la croûte résultant de la dénaturation des protéines de surface, sont des caractéristiques importantes, notamment dans les produits de viande rôtie et les produits cuits à base de céréales (**Zheng, Ou, and Ou 2019**) . Il existe au moins sept méthodes courantes de chauffage à sec, telles que le grillage, la grillade, le rôtissage, la cuisson au four, le sautage, la friture et la cuisson à la poêle (**Fellows 2017**) . Dans notre étude, nous nous sommes intéressés uniquement à la torréfaction puisqu'elle a un lien direct avec le café.

1.4.1.1 Torréfaction

La torréfaction est utilisée pour améliorer et modifier la qualité des aliments, prolonger la durée de conservation de ces derniers et améliorer l'efficacité du traitement ultérieur. Les températures et durées optimales de torréfaction requises dépendent de plusieurs facteurs, tels que le degré de torréfaction requis, le type de torréfacteur, ainsi que le type et la variété de la matière première. La chaleur est transférée sous forme de rayonnement et de

convection à la surface de l'aliment, puis pénètre dans l'aliment par conduction (**Zheng, Ou, and Ou 2019**). La réaction de Maillard et la caramélisation déshydratent la surface et brunissent l'aliment. Le café, en particulier, en contient beaucoup, ce qui entraîne des changements chimiques dans le grain de café vert, bien qu'il y ait également des changements physiques évidents dans la structure du café. La torréfaction des grains de café est un processus clé dans la préparation d'une infusion de café, car la torréfaction produit l'arôme et les saveurs uniques de l'infusion.

Cette technique permet de cuire les aliments de manière assez uniforme, car toutes les surfaces des aliments sont exposées à la source de chaleur. Cela diffère du grillage à la poêle, par exemple, où la surface qui touche la poêle chaude est beaucoup plus chaude que celle qui est tournée vers le haut. Lorsqu'ils sont utilisés comme méthode de cuisson à chaleur sèche, le rôtissage et la cuisson au four exigent que les aliments soient exposés de manière à ce que l'air chaud et sec fournisse de la chaleur plutôt que la vapeur provenant des aliments.

1.5 Application du traitement thermique

Diverses techniques de traitement "non traditionnelles" ont suscité un grand intérêt dans l'industrie alimentaire ; toutefois, l'application de la chaleur (traitement thermique) reste le moyen prédominant de traiter la plupart des aliments transformés. Le traitement thermique reste l'une des méthodes les plus importantes dans la transformation des aliments en termes de sécurité alimentaire et de propriétés nutritionnelles et organoleptiques. Compte tenu des limites pratiques du coût, du rendement et des pratiques traditionnelles, le traitement thermique restera probablement le principal moyen de traiter les aliments à valeur ajoutée.

Les systèmes de traitement thermique pour les produits alimentaires sont conçus pour atteindre au moins un, mais généralement plusieurs, des objectifs suivants : Détruire les micro-organismes indésirables qui provoquent l'altération du produit ou qui sont des agents pathogènes pour l'homme, -Inactiver les systèmes enzymatiques natifs du produit, qui pourraient autrement affecter la qualité du produit, et -Donner au produit certaines caractéristiques de qualité souhaitables, notamment la saveur, la couleur et la texture (**Hui and Sherkat 2005**). Le traitement thermique n'affecte pas seulement la qualité des aliments consommés de manière idéale (de nombreux aliments consommés et traités sous forme cuite, tels que les saveurs cuites au four et grillées, ne peuvent être produits par d'autres moyens), mais il a également un effet conservateur sur les aliments par la destruction des enzymes, des micro-organismes, des insectes et des parasites.

Souvent, les meilleures opportunités d'amélioration de ces types de processus thermiques se présentent lorsque l'expérience opérationnelle se mêle à une bonne compréhension des principes fondamentaux du processus en question. Cependant, sans une compréhension des principes de base du transfert de chaleur et de masse, les tentatives d'amélioration des procédés peuvent se traduire par une série désordonnée d'ajustements au coup par coup d'un procédé donné (**Hui and Sherkat 2005**). **Deming, 2005** appelle à un "système de connaissance profonde », dans lequel on doit d'abord chercher à comprendre les caractéristiques/propriétés/comportements fondamentaux d'un procédé ou d'un système avant de tenter d'améliorer ce procédé. Dans le cas du traitement thermique des produits alimentaires, les principes de transfert de chaleur et de masse constituent la base principale de cette "connaissance approfondie". Ce n'est que lorsque ces principes fondamentaux sont bien compris que l'ingénieur agroalimentaire peut s'assurer que tout changement dans la conception ou le fonctionnement du procédé est orienté vers l'amélioration du résultat du procédé, qu'il s'agisse de la sécurité, de la qualité ou du rendement du produit.

De nouvelles technologies avancées de traitement thermique, telles que le chauffage ohmique et le chauffage diélectrique (par exemple, le chauffage par micro-ondes et le chauffage par radiofréquence) (**Leong and Oey 2022**), ont été développées pour accroître l'efficacité du traitement thermique tout en garantissant la sécurité alimentaire et en éliminant les effets indésirables sur les propriétés organoleptiques, sensorielles et nutritionnelles des aliments. La nouvelle technologie de chauffage est basée sur la génération de chaleur directement dans l'aliment, ce qui a des implications pour l'amélioration de l'efficacité énergétique globale du processus de chauffage lui-même. Le traitement thermique touche un grand nombre de produits destinés à la consommation à l'exemple des viandes, des poissons, des produits laitiers, les aliments en conserve, les plats cuisinés, les légumes et les jus concentrés.

1.6 Les Dangers chimiques des traitements thermiques

Les aliments sont un mélange de nombreux nutriments, notamment des protéines, des acides aminés, des glucides, des lipides, des vitamines et des minéraux. Il est bien connu que le traitement thermique, tel que la cuisson, favorise des réactions chimiques complexes entre les composants alimentaires. Les modifications chimiques des composants alimentaires provoquées par un traitement thermique élevé ont soulevé de nombreuses questions quant aux

conséquences ultérieures de la réduction de la valeur nutritive et de la formation de certains Produits chimiques toxiques.

Toutefois, la chaleur peut également modifier de façon Spectaculaire la texture et la saveur des aliments, ce qui peut altérer un plat, que ce soit pour le meilleur ou pour le pire.

Un danger chimique lié aux aliments peut apparaître lors la formation de nouvelles substances au sein de la matrice alimentaire.(ANSES 2015) En effet, les réactions chimiques peuvent se produire et provoquer la formation de composés dont certains peuvent être indésirables. Ces substances sont qualifiées de composés néoformés, elles peuvent se former au cours de traitements thermiques. Ces dites réactions sont dépendantes du couple temps-température (pour des températures allant de 10°C, réaction lente, à plus de 200°C, réaction rapide (ANSES 2015).

Les amines aromatiques hétérocycliques (HAA) représentent un grand groupe de composés chimiques, dont beaucoup présentent des propriétés cancérigènes et mutagènes. Ils sont typiquement produits à la suite d'un traitement thermique à haute température, ils peuvent subir une activation métabolique par la N-hydroxylation produisant un intermédiaire directement impliqué dans la toxicité générale et l'ADN. L' Acrylamide est également retrouvé dans de nombreux aliments transformés thermiquement en tant que produit intermédiaire des réactions de Maillard, connues sous le nom de brunissement, il est généré dans les produits alimentaires contenant une teneur élevée en sucres réducteurs, pareillement pour le 5-hydroxyméthylfurfural (HMF), les Furanes et les Nitrosamines (NA) qui proviennent principalement d'aliments traités thermiquement à plus de 130 C°. Les acroléines, les chloropropanols et les chloroesters se forment à une température généralement supérieure à 150 C° (Koszucka and Nowak 2019).

Tableau 1. Les effets secondaires liés aux traitements thermiques (jiyang.2013)

Produits	Les Effets secondaire :
Acrylamide	Neuro-, hépato- et génotoxiques.
5-hydroxyméthylfurfural (HMF)	Cancer du côlon induit dans des cellules de hamster chinois V79.
Furane	Une activité cancérigène et cytotoxique sur les animaux et des effets nocifs sur la santé

	humaine Il a été classé par le Centre international de recherche sur le cancer dans le groupe 2B, comme peut-être cancérigène pour l'homme.
Nitrosamines (NA)	Une série de maladies telles que le cancer gastrique, colorectal et œsophagien
Acroléine	Augmente l'expression génétique des marqueurs de l'inflammation et du stress oxydatif dans la culture de cellules épithéliales bronchiques primaires.
Chloropropanols et chloroesters	Une diminution du gain de poids corporel, une augmentation du poids relatif des reins, une anémie induite et une nécrose des cellules épithéliales dans les canaux épидидymaires chez les rats mâles F344 et les rats Zucker obèses (3-MCPD).

1.7 Toxicité des composés alpha-dicarbonylés en particulier le Méthylglyoxal

Les nombreuses études menées sur les produits chimiques volatils formés dans les aliments et boissons ont montré une certaine toxicité à l'égard de diverses maladies pour ne citer que le diabète et la maladie d'Alzheimer. Plus de 1000 produits volatils ont été identifiés dans les aliments cuits, l'analyse des composés carbonylés, tels que l'acétaldéhyde, l'acroléine, le glyoxal, le méthylglyoxal et le diacétyl, formés dans les aliments riches en lipides sont très souvent incriminés. Leur détection est donc cruciale pour évaluer correctement la sécurité sanitaire des aliments. Le Méthylglyoxal, le Glyoxal et le Diacétyl se forment principalement lors de l'oxydation des lipides, ils sont également connus comme d'importants précurseurs de produits chimiques à saveur hétérocyclique dans la réaction de Maillard. Il est établi que leur libération lors de la cuisson aurait des effets nocifs sur la santé humaine). (**Angeloni,, Zambonin, & Hrelia, 2014**)

Les carbonyles réactifs, dont le méthylglyoxal (MG), sont considérés comme des composés toxiques car ils modifient de manière irréversible les protéines, les lipides, l'ADN et produisent des produits terminaux de la glycation avancée (AGEs). Ces composés

pathogènes sont souvent des déclencheurs impliqués dans certaines maladies métabolique et reproductive. **Nevin et al., 2018** admettent que sous certaines conditions, la fertilité masculine est fortement influencée par notre mode de vie, celle-ci serait en grande partie liée à l'alimentation. Des tests de glycation réalisés sur des spermatozoïdes sont très accablants, ils révéleront que les AGEs à l'exemple de la Carboxy-méthyl-lysine (CML) auraient des localisations électives (préférentielles) sur toute la tête du spermatozoïde. Dans la maladie neurodégénérative d'Alzheimer (MA), le Cétoaldéhyde méthylglyoxal est connu pour induire des dommages cellulaires et la glycation des protéines (**Koszucka and Nowak 2019**), il s'accumule dans les neurones déclenchant un stress oxydatif subordonné à la dégénérescence. (**Zheng, Ou, and Ou 2019**) En règle générale, le système de détoxification endogène appelé Système glyoxalase repose sur la réactivité de deux enzymes pour réguler le déséquilibre engendré par la production des espèces réactives à l'oxygène (ROS). Les auteurs montrent clairement que les motoneurones spinaux seraient beaucoup plus vulnérables aux composés dicarboxylés.

1.8 Règlementation concernant les denrées alimentaires en général et le café en particulier

Le commerce des denrées alimentaires impose des spécifications telles que le respect de la sécurité d'emploi, de la valeur nutritionnelle et des caractères organoleptiques des produits de grande consommation qui restent une priorité inscrite dans une législation inspirée par l'Organisation mondiale de la santé (O.M.S), l'Organisation des Nations unies pour l'agriculture et l'alimentation (F.A.O) et de la Commission du Codex Alimentarius ayant pour rôle d'élaborer des documents internationaux pour définir des produits alimentaires ou établir des usages en matière d'hygiène ou de communication. Dans ce type de document, la véracité des informations figurants sur l'étiquetage des produits à consommation (nom du produit, son origine et sa quantité) sont particulièrement surveillées et font souvent l'objet de contrôle impromptu et imprévu.

L'esprit des textes applicables aux dits professionnels s'appliquent à l'ensemble de la filière agroalimentaire depuis la production primaire, animale et végétale jusqu'à la distribution au consommateur final, en passant par l'industrie agroalimentaire, les métiers de bouche, et le transport. Les principes généraux de la législation alimentaire sont très souvent subordonnés au contexte économique, au développement des activités communautaires dans le secteur des denrées alimentaires mais aussi à la composante de la politique industrielle.

Aujourd'hui, la grande majorité des législations alimentaires nationales reposent sur une harmonisation des mesures adaptées s'accommodant aux besoins et aux attentes des consommateurs, des producteurs, des fabricants et des commerçants. La législation est très souvent fondée sur des preuves scientifiques et sur une évaluation des risques, elle est renforcée par des dispositions exécutoires ayant recours à des procédures simples.

La législation concernant le café repose sur des appellations réglementées, ainsi que l'indique le Journal Officiel du 10 décembre 1965, chaque mot à sa valeur :

« CAFÉ » : boisson à base de café (moulu), la quantité de ce produit doit être de 5 grammes minimum par décilitre de boisson.

« CAFÉ EXPRESS, OU EXPRESSO », « EXPRESS », « EXPRESSO » : mise en œuvre de 7 grammes de café moulu par décilitre de boisson.

« CAFÉ INSTANTANÉ » : boisson réalisée avec du café lyophilisé ou atomisé.

Tout comme les textes de loi étrangères, la loi Algérienne impose une réglementation assez stricte et des vérifications très sévères en matière d'hygiène, de salubrité et d'innocuité des aliments à tous les industriels des PME et PMI qui participent à la mise à la consommation des produits alimentaires et de veiller à ce que celles-ci ne portent pas préjudice à la santé du consommateur.

Dans ce contexte, le décret exécutif N° 17-99 du 29 Joumada El Oula 1438 correspondant au 26 février 2017 fixe les caractéristiques du café ainsi que les conditions et les modalités de sa mise à la consommation. Pas moins de 33 articles de loi font état des dispositions relatives aux spécifications et à la présentation des cafés. La proportion du sucre, du caramel et de l'amidon (3%) extrait de l'article 19 du même décret renvoie à la dénomination de café torréfié au sucre, appellation qui est réservée au café tel que défini dans l'article 3 (café vert ou café brut) issus des fruits de plantes des espèces cultivées du genre *Coffea* auquel est ajouté du sucre, du caramel ou de l'amidon au cours des processus de torréfaction ou pour l'enrobage des grains de café au cours de la torréfaction avec ces produits. (**JORA N°9 du 5 mars 2017**).

1.9 Chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (GC-MS)

La chromatographie en phase gazeuse (GC) est l'une des techniques de séparation chromatographiques la plus utilisée, elle permet d'identifier et de quantifier des composés volatils en solution (petites molécules organiques volatiles et semi-volatiles telles que les hydrocarbures, les alcools et les aromatiques, ainsi que les pesticides, les stéroïdes, les acides gras et les hormones) à partir d'un mélange gazeux ou vaporisé après chauffage. Cette technique d'analyse est adoptée dans de nombreux secteurs industriels, notamment la sécurité alimentaire et les tests environnementaux. Grâce à la puissance de détection de la spectrométrie de masse (MS), la GC-MS peut être utilisée pour séparer des mélanges complexes et des niveaux de contamination à l'état de traces. **(Bi-Feng Yuan.,2014)**

La GC-MS peut être utilisée pour étudier des échantillons liquides, gazeux ou solides. L'échantillon est vaporisé dans la phase gazeuse et séparé en ses différents composants à travers une colonne capillaire recouverte d'une phase stationnaire (liquide ou solide). Les composés sont propulsés par un gaz vecteur dit inerte tel que l'argon, l'hélium ou l'azote. L'élution des composés de la colonne chromatographique est fonction de leur point d'ébullition et de leur polarité. Le temps d'élution est appelé ; temps de rétention d'un composé.

Une fois que les composants quittent la colonne GC, ils sont ionisés et fragmentés à l'aide de sources d'ionisation électroniques ou chimiques **(Anuradha Vivekanandan-Giri et al., 2011)**. Les fragments ionisés sont ensuite accélérés à travers l'analyseur de masse de l'instrument, qui est souvent un quadripôle ou un piège à ions. Les ions ainsi obtenus sont séparés en fonction de leurs rapports masse/charge (m/z). L'acquisition des données GC-MS peut être effectuée en mode scan, ou en mode Single Ion Monitoring (SIM).

Les dernières étapes du processus impliquent la détection et l'analyse des ions. Ces ions fragmentés apparaissent en fonction de leurs rapports m/z . Les aires des pics, quant à elles, sont proportionnelles à la quantité du composé correspondant. Lorsqu'un échantillon complexe est séparé par GC-MS, il produit de nombreux pics sur le chromatogramme et chaque pic génère un spectre de masse unique utilisé pour l'identification du composé. En effet, grâce aux propriétés physique et chimique des substances recherchées, une collection de spectres tirée des bases de données est utilisée, celle-ci permet d'identifier la masse de chaque composé et d'en suggérer un nom. Ces bases de données font références à la National Institute of Standards and Technology (NIST) utilisé au CRAPC.

1.9.1 Colonnes de chromatographie en phase gazeuse

Les colonnes chromatographiques représentent la phase stationnaire et l'outil de séparation d'une analyse par chromatographie en phase gazeuse. La phase stationnaire garantit que les différents composés sont séparés de manière idoine et élués de la colonne à des moments différents. Les colonnes chromatographiques sont de deux types : capillaire et remplie. Les colonnes remplies ont un diamètre de quelques millimètres et une longueur de l'ordre du mètre. Elles sont remplies de granules de support inerte, généralement de la silice, dont la surface est imprégnée ou greffée avec la phase stationnaire.

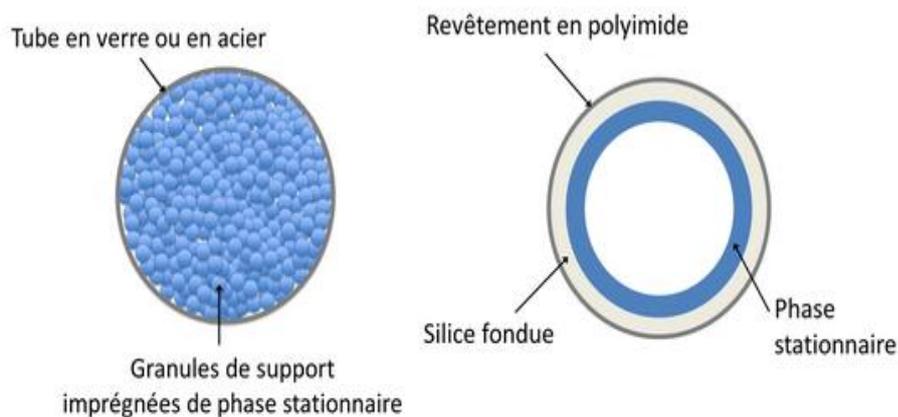


Figure 4.Schéma (en coupe) d'une colonne remplie (à gauche) et d'une colonne capillaire (à droite). (Guillaume George-Licence : CC-BY-NC-SA)

Les colonnes capillaires sont de simples tubes d'acier inoxydable, de verre ou de silice fondue (matériau inerte vis-à-vis de la phase stationnaire et des échantillons) de diamètre intérieur compris entre 0,1 et 0,5 mm, et d'une longueur typique de plusieurs dizaines de mètres, pouvant aller jusqu'à 100 m. Pour tenir dans l'appareil, la colonne est enroulée, avec des spirales ayant 10 à 30 cm de diamètre. La surface interne de ce tube est recouverte d'un film de 0,1 à 5 μm d'épaisseur constitué de la phase stationnaire. Ce film est mis en place par greffage ou simple déposition, le greffage étant généralement préféré pour des raisons de stabilité thermique. Par exemple, la Carbowax® est une colonne capillaire comportant un film polaire de polyéthylène glycol greffé en surface, film qui constitue la phase stationnaire. La SE-30® est une colonne capillaire apolaire comportant un film de polydiméthylsiloxane qui constitue la phase stationnaire (Guillaume George-Licence : CC-BY-NC-SA).

Aujourd'hui, les colonnes remplies sont supplantées par les colonnes capillaires, dont le pouvoir de résolution est bien supérieur.

CHAPITRE 2
MATERIEL ET
METHODES

2 Matériel et méthode

2.1 Produits chimiques et réactifs

La solution de Methylglyoxal (CAS No. 78-98-8), du standard externe : 2-méthylquinoxaline (CAS No. 7251-61-8) et de l'agent de dérivation : o-phénylènediamine (O-PD) (CAS No.95-54-5) ont été acheté sur le site de Sigma-Aldrich (Portugal). Le sulfate de Sodium (CAS No. 7757-82-6), l'hydroxyde de Sodium (CAS No. 1310-73-2) et le D-Glucose (CAS No. 50-99-5) sont fournis par Sigma-Aldrich (Algérie). Quant au Bromure de Potassium (KBr) (CAS No. 7758-02-3), il a été obtenu auprès de Merck-Algérie, l'Acide 3,5 Dinitrosalicylique (Prolabo, France) ainsi que le tartrate de sodium, et le phénol. Tous les solvants utilisés lors de nos expérimentations sont de grade analytique. L'eau utilisée pour la préparation des solutions tampons a été obtenue à l'aide d'un système de purification Purelab plus (USFilter, Ransbach-Baumbach, Allemagne).

Tableau 2. Produits chimiques utilisés dans l'analyse du Méthylglyoxal

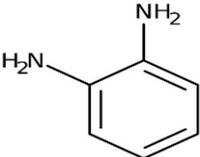
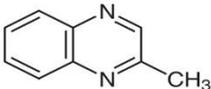
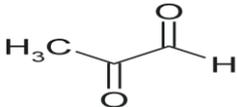
	O-Phénylènediamine	2-Méthylquinoxaline	Méthylglyoxal
Numéro CAS	95-54-5	7251-61-8	78-98-8
Formule Chimique	$C_6H_4(NH_2)_2$	$C_9H_8N_2$	$C_3H_4O_2$
Masse Molaire (g/mol)	108.14112	144.17	72,06266
État Physique	Solide	Liquide	Liquide
Structure			

Tableau 3.Réactifs chimiques utilisés

Réactif utilisé	Formule brute	Numéro cas	Marque
Chloroforme	CHCl ₃	67-66-3	PROLABO
Hydroxyde de sodium	NaOH	1310-73-2	Sigma- Aldrich
D-glucose	C ₆ H ₂ O ₆	50-99-5	Sigma- Aldrich
Phénol	C ₆ H ₆ O	108-95-2	PROLABO
Le bromure de potassium	KBr	7758-02-3	PROLABO
Acide sulfurique	H ₂ SO ₄	7664-93-9	Sigma- Aldrich
3,5-Dinitrosalicylic acid	C ₇ H ₄ N ₂ O ₇	609-99-4	Tokyo Chemical Industry
Tartrate de sodium	C ₄ H ₄ Na ₂ O ₆	6106-24-7	Laboratory Reagents
Sulfate de Sodium	Na ₂ SO ₄	7757-82-6	Sigma- Aldrich

2.2 Café

Le café est la deuxième boisson la plus consommée au monde après l'eau, c'est une boisson excitante obtenue par percolation, infusion ou décoction à partir de graines torréfiées ou moulues d'un caféier. Le caféier est un arbuste de la famille des rubiacées (genre coffea). Le café provient de plantes tropicales cultivées dans des régions chaudes propices à leur développement ; la richesse et la qualité des sols (humus, azote et potassium), les températures optimales comprises entre 17 et 30 C° mais aussi les précipitations annuelles (1200-2000 m²/an) sont autant de facteurs favorisant leur croissance.

Bien qu'il existe environ une centaine (80) de variétés de la plante coffea, seuls deux d'entre elles fournissent 99% de la production mondiale ; Arabica & Robusta. La première étant très sensible aux conditions climatiques et pousserait généralement à une altitude comprise entre 800 et 2200 mètres, quant à la variété Robusta découverte que tardivement se développerait à de basses altitudes et présenterait une plus grande adaptabilité et résistance aux parasites et aux aléas du climat.

Afin de comprendre l'engouement des amateurs de café, voici une liste exhaustive des différents types de café vendus dans le monde :

Tableau 4. Liste des principaux cafés vendus dans le monde

<https://lecafedeclara.fr/types-cafe/>

Types de Café	Propriétés
Café Noir	Café servi directement de la carafe après le brassage sans y ajouter quoi que ce soit pour modifier la saveur
Café avec sucre et/ou lait	Le café est infusé comme le café noir mais en fin de cycle, de la crème ou du lait et du sucre ou un édulcorant artificiel est ajouté pour modifier la saveur
Café Filtré ou égoutté	Une méthode de brassage où le café est placé dans un filtre en papier et où l'eau chaude est versée sur le café, ce qui lui permet de couler dans la carafe
French Press Coffee	Café préparé avec une cafetière à piston. Le piston est utilisé pour presser le café afin de séparer la boisson du marc de café
Café Perlé	Méthode d'infusion dans laquelle l'eau chaude passe dans le marc de café par gravité pour atteindre la force désirée
Café Turc	Une boisson au café traditionnelle servie au Moyen-Orient, le café moulu fin est immergé dans de l'eau, ce qui permet la formation maximale de mousse
Café infusé à froid	Une méthode de brassage qui n'utilise pas d'eau chaude. Au lieu de cela l'eau froide et une période de temps plus longue sont utilisées pour créer la boisson de café froide
Café Glacé	Légèrement différent du café infusé à froid, le café glacé est préparé en utilisant une méthode d'infusion à chaud et ensuite refroidi avant de servir
Café sous vide	Une méthode d'infusion utilisant deux chambres où la pression de vapeur et le vide produisent le café
Espresso	Une méthode d'infusion très populaire avec du café moulu. Une petite quantité d'eau est ajoutée créant un goût et une force particulière au café
Caffe Americano	Café à base d'Espresso où de l'eau chaude est ajoutée à l'espresso, créant ainsi un café de force similaire mais de goût différent du café au goutte à goutte ordinaire
Cafe Cubano	Originnaire de Cuba, cette boisson au café est un espresso additionné de sucre Demerara
Caffe Creama	Une longue boisson espresso servie principalement en Suisse, en Autriche et dans le Nord de l'Italie à partir des années 1980
Cafe Zorro	Une double dose d'espresso ajoutée à l'eau avec un ratio de 1 :1
Doppio	Une double portion d'espresso servie dans une tasse Demitasse
Espresso Romano	Un espresso servi avec une tranche de citron sur le côté
Guillermo	Un espresso chaud versé sur des tranches de citron vert, parfois servi sur de la glace

Ristretto	Expresso fait avec la même quantité de café mais la moitié de la quantité d'eau
Lungo	Le contraire du Ristretto, cette boisson est faite avec plus d'eau
Cappuccino	Expresso à base de lait chaud et de mousse de lait cuite à la vapeur
Latte	Expresso fait avec du lait cuit à la vapeur dans un rapport de 1 :3 à 1 :5 avec un peu de mousse
Flat White	Un expresso similaire à un café au lait avec du lait texturé
Macchiato	Un expresso fabriqué avec une petite quantité de lait en mousse, semblable à un cappuccino seulement plus fort
Breve	Expresso servi avec demi-lait et demi-écrémé
Antoccino	Une seule portion d'expresso servie avec du lait cuit à la vapeur dans un rapport 1 :1
Cafe Bombon	Popularisé en Espagne, cette boisson est un expresso à base de lait concentré sucré
Caffee Gommosa	Un expresso versé sur une seule guimauve
Cortado	Un expresso coupé avec une petite quantité de lait chaud pour réduire l'acidité
Espressino	Une boisson à base d'espresso, de lait cuit à la vapeur et de cacao en poudre
Galao	Originaire du Portugal, cette boisson est un expresso mélangé à du lait e mousse et servi dans un grand verre
Café au lait	Café fort fait avec du lait bouilli dans un rapport 1 :1
Ça Phe Sua Da	Une boisson au café originaire du Viêt Nam qui signifie littéralement « café au lait glacé ». Elle est préparée en mélangeant du café noir avec un quart de lait sucré concentré et versé sur la glace
Café aux œufs	Une boisson Vietnamiennne à base de jaunes d'œufs, de sucre, de lait concentré et de café Robusta
Eiskaffee	Une boisson Allemande à base de café glacé et de glace à la vanille
Kopi Susu	Café préparé à partir de lait concentré sucré que l'on laisse ensuite refroidir pour que les Marcs de café coulent au fond du verre
Café de Vienne	Café ou Expresso fait avec de la crème fouettée et du lait ajouté à certaines occasions
Espresso Con Panna	Café à la crème fouettée
Cravate Noire	Un double espresso combiné avec du café glacé Thaï traditionnel et du lait concentré sucré
Chai Latte	Espresso mélangé avec du thé épicé et du lait cuit à la vapeur
Café liqueur	Café infusé avec 25 ml de liqueur. Parfois servi avec de la crème
Irish Coffee	Café combiné avec du Whisky et de la crème et parfois avec du sucre
Caffè Moka	Similaire au café au lait mais avec du sirop

Dans notre étude, nous avons privilégié les cafés vendus dans le commerce Algérien et qui sont largement consommés par les amateurs de café. Pour rappel les 11 échantillons de café codés E1 à E11 contiennent des quantités variables d'Arabica et de Robusta. La différence entre un café Arabica et robusta réside essentiellement dans la texture du grain mais aussi à la saveur et aux propriétés organoleptiques de la solution de café ; le premier est un café doux, plus ou moins fruité et aromatique dont le taux de caféine est relativement faible, le second est beaucoup plus puissant, corsé, amer au goût terreux. Le taux de caféine (alcaloïde de la famille des méthylxanthines) est assez élevé.

Se rapportant à l'étiquetage, les échantillons E3, E4, E5, E6 et E7 contiennent 100 % de Robusta tandis que l'échantillon E2 est constitué de 20% d'Arabica et de 80% de Robusta. Le reste des échantillons appartiennent à la catégorie des cafés solubles purs ou associés à de la chicorée

Codification	Marques de café	Type des grains
E1	TOUATI	/
E2	BOUKHARI	20% ARABICA /80% ROBUSTA
E3	AROMA	100% ROBUSTA
E4	BONAL	100% ROBUSTA
E5	1001	100% ROBUSTA
E6	FAMICO	100% ROBUSTA
E7	NIZIARE	100% ROBUSTA
E8	NESCAFE	100% CAFE SOLUBLE PUR
E9	CHICOREE	60%CHICOREE SOLUBLE /40% CAFE SOLUBLE
E10	RECORE	/

Tableau 5.Types de café utilisé pour notre étude

E11	MAXWELL HOUSE	CAFE PUR SOLUBLE LYOPHILISE
-----	---------------	-----------------------------

2.3 Détermination des composés alpha-dicarbonylés

2.3.1 Extraction, identification et quantification du Méthylglyoxal dans le café

2.3.1.1 Préparation de l'échantillon pour analyse

Pour notre étude nous avons sélectionné 11 échantillons de café en poudre achetés auprès de différents points de vente dont 7 des marques locale et 4 importés. Après un screening, notre choix s'est porté sur les marques les plus fréquemment consommées en Algérie. La solution de café est préparée dans une cafetière électrique domestique de type Bergmann, 20 grammes de café sont passés à travers un filtre en papier (*Melitta* macht kaffee zum Genuss[®]) entraînés par un volume de 650 millilitres d'eau minérale. Un aliquote de 100 millilitres de café est traité avec 2 ml de *O*-phénylènediamine à 0.5g/L. Le pH de la solution est ajusté à 8 avec 1M d'hydroxyde de sodium (NaOH) puis chauffée au bain marie pendant 2 heures à 70 °C. Après refroidissement, les composés cibles (α -dicarbonylés) sont extraits avec 10 ml de chloroforme. Les échantillons sont évaporés sous flux d'azote puis récupérés avec 1 ml de chloroforme prêt à être injecté en GC-MS. La Figure 6 montre le dispositif de récupération du Méthylglyoxal mis en place.



Figure 6. Méthode d'extraction liquide-liquide

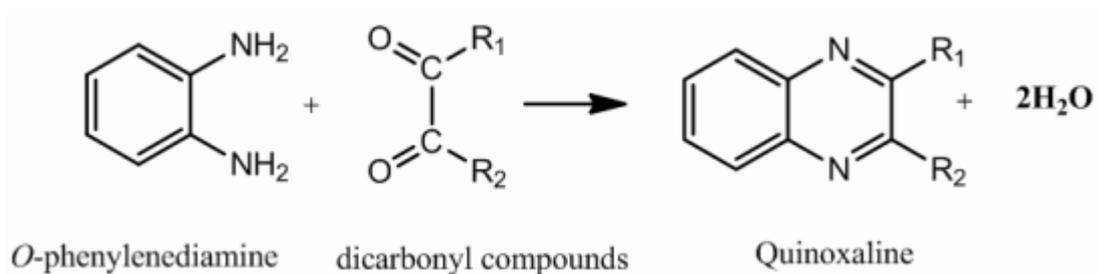


Figure 7. Réaction de dérivation utilisée pour déterminer les composés dicarbonylés

2.3.1.2 Préparation des solutions étalons : 2-méthylquinoxaline (2-MQ) et Naphtalène

Pour la quantification de la méthylquinoxaline dans nos échantillons de café ; produit dérivé du méthylglyoxal, une série de solutions standards de la 2-méthylquinoxaline (2-MQ)

est préparée à partir d'une solution mère de 2000 ppm. Une courbe d'étalonnage constituée de 4 concentrations est ainsi obtenue (10, 50, 100 et 250 ppm). Afin de s'affranchir des erreurs de manipulation, un étalon interne est introduit dans les mélanges à analyser. Les solutions standards (externes) sont dopées avec 5 µl de Naphtalène (10 000 ppm) pour atteindre une concentration finale de 50 ppm. Toutes les mesures ont été réalisées en duplicate.

2.4 Identification des composés alpha-dicarbonylés par Chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS)

2.4.1 Instrumentation et conditions chromatographiques :

L'analyse est menée sur un chromatographe en phase gazeuse de type Hewlett Packard Agilent 6890 Plus couplé à un spectromètre de masse (Hewlett Packard Agilent 5973). L'équipement est doté d'une colonne capillaire (Agilent Technology, Inc. Wilmington, DE 9808-1610) constitué de 5% de phenyl et 95% de diméthyl-polysiloxane renfermant un diamètre interne de 0.25 mm et d'une épaisseur de 0.25 µm. La température de l'injecteur est fixée à 250 °C. 1 µl de la phase organique est injectée dans la colonne en mode Split (10 :1) et un ajustement du débit du gaz vecteur (hélium) à 0.5 ml/min. Le programme de température du four est tout d'abord fixée à 150 °C pendant 2 min puis augmente pour atteindre les 250 °C par palier de 50 °C/min. Le temps de l'analyse ne dépassant pas les 5 min. Un balayage en mode scan a été réalisé dans un intervalle comprenant un rapport masse/charge (m/z) de 130 à 158, ainsi le poids moléculaire de la Quinoxaline, de la 2-Méthylglyoxal (MGO), de la 2,3 Diméthylquinoxaline, de la 2-Ethyl-3-Méthylquinoxaline et de la 2,3-Diéthylquinoxaline a été identifié conformément à la base de données NIST. La quantification a toutefois été réalisée sur une chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme (GC-FID).

2.4.2 Validation de la méthode d'analyse du méthylglyoxal

La méthode développée dans cette étude a été validée par la détermination de la spécificité, la linéarité, l'exactitude, la fidélité et les limites de détection (LDD) et de quantification (LDQ) selon les directives de la Food and Drug Administration (FDA).

2.4.2.1 Spécificité :

La spécificité telle que décrite doit impérativement montrer un pic relatif à l'analyte recherché sans aucune interférence (impuretés, produits autres que la molécule cible). Cette étape est confirmée par l'analyse d'un échantillon dit blanc (PBS) exempt de café, la comparaison des deux chromatogrammes ne révélera pas l'intrusion d'une autre substance au temps de rétention du Méthylglyoxal.

2.4.2.2 Linéarité :

La linéarité est étudiée sur un intervalle de mesure couvert par une série de concentration allant de 10 à 250 ppm sur une période de trois jours. Les résultats obtenus doivent impérativement être proportionnels à la concentration de la substance recherchée.

2.4.2.3 Exactitude :

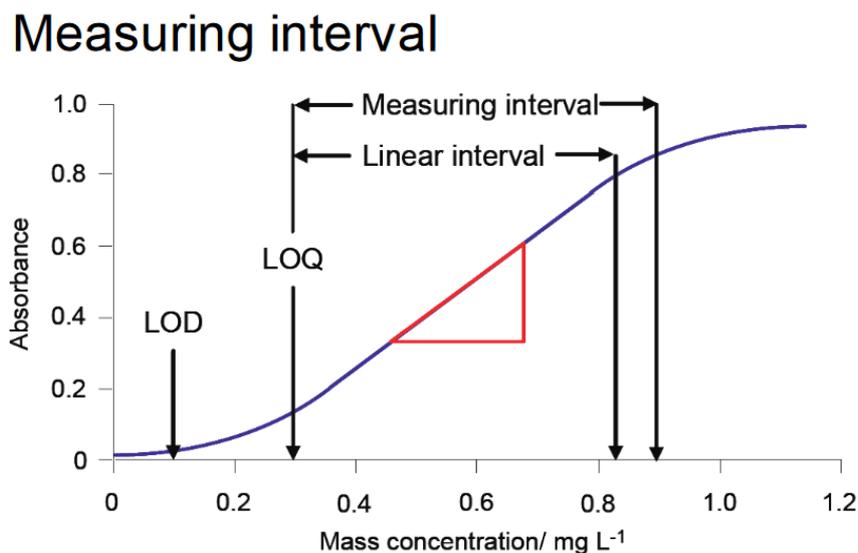
L'exactitude correspond au degré de correspondance entre la valeur obtenue et la valeur de référence. Elle est extraite à partir des échantillons utilisés dans l'étude de la linéarité. Le principe de l'exactitude est de calculer les valeurs de recouvrements en % entre les quantités retrouvées et celles fixées initialement.

2.4.2.4 Fidélité :

La fidélité exprime l'étroitesse de l'accord entre une série de mesure provenant de multiples prises d'essais d'un même échantillon dans les mêmes conditions. La fidélité traduit uniquement la distribution des erreurs aléatoires et n'a aucune relation avec la valeur vraie ou spécifiée. La mesure de fidélité est calculée à partir de l'écart-type des résultats d'essais et peut être exprimée sous forme de coefficient de variation (CV)(Nemet, Varga-Defterdarović, and Turk 2006).

2.4.2.5 Limite de détection (LDD) et limite de quantification (LDQ)

Il existe deux catégories de limites de déclaration : la limite de détection (LDD=



S*3.3) et la limite de quantification ($LDD = S \cdot 10$). La limite de détection correspond au minimum de concentration d'un analyte pouvant être détecté. La limite de quantification correspond au minimum de concentration d'un analyte pouvant être mesuré dans les limites de fiabilité spécifiées. La Figure ci-dessous montre l'intervalle de mesure, les LDD et LDQ.

Figure 8. L'intervalle de mesure dépend de la mesure dans laquelle le système de mesure peut produire des résultats adaptés au but recherché (**Rizzi 1999**).

2.5 Identification qualitative et analyse quantitative par spectroscopie Infrarouge à transformée de Fourier (ATR-FTIR) des sucres dans le café :

2.5.1 Préparation de l'échantillon de café et de la gamme étalon du D-Glucose avec du bromure de potassium (KBr) :

Nous avons utilisé la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier-réflexance totale atténuée (FTIR-ATR) pour la détermination qualitative et quantitative des sucres. Bien qu'elle ne soit pas très sensible et spécifique, cette méthode simple, rapide, peu coûteuse et non invasive permettra de fournir des informations relatives à la présence ou l'absence de groupes fonctionnels spécifiques comme ceux recherchés dans les sucres (D-Glucose), mais aussi la structure chimique des composés organiques.

Pour notre étude, la méthode utilisant le KBr a donc été adoptée. Avant l'analyse, la poudre de KBr conservée dans un contenant ombré et placée à l'étuve à 80°C pendant 2h en raison de sa forte hygrométrie puis broyée avant d'être mélangée au Glucose. Afin d'éviter les contaminations croisées, le port-échantillon est nettoyé à l'acétone entre deux analyses et essuyé avec du papier (**Whatman International Ltd., Maidstone, Angleterre**). Une fois le mélange préparé, il est stocké dans une feuille d'aluminium à température ambiante afin de les protéger de l'humidité et de la lumière.

En parallèle, une courbe d'étalonnage a été préparée à partir de six différentes concentrations standard du D-glucose dans un intervalle de 0,5 à 6,0 % w/w. Une quantité appropriée de D-glucose a été diluée avec du bromure de potassium (1 g) et soigneusement broyée dans un mortier pendant 15 min pour assurer l'homogénéité de l'échantillon. La dilution des échantillons comme présentée ci-dessus a permis de situer les bandes

d'absorbances dans la région linéaire de la loi de Beer Lambert. Afin de déterminer la teneur en sucre dans nos produits commerciaux, un aliquote de 20 mg de chaque échantillon de café en poudre est placé directement sur la surface d'échantillonnage du Crystal ATR de Diamant de l'analyseur ATR-FTIR et mesuré en duplicate. Toutes les expériences sont réalisées à $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$. Pour déterminer la courbe de calibration, les pics d'absorption d'intérêt qui couvrent le domaine spécifique des glucides se situent entre 900 et 1200cm^{-1} . La signature spectrale du glucose est identifiée à 1027 cm^{-1} avec une absorption maximale. Cette bande est caractéristique de la vibration d'étirement C - O, que nous recherchons.

Les mesures spectrales sont collectées sur un spectromètre Brüker Alpha FTIR (**Bruker Optics GmbH, Ettlingen, Allemagne**) équipé d'un détecteur DTGS (sulfate triglycine deutéré). L'accessoire Alpha-P ATR est équipé d'un Crystal ATR en diamant à réflexion unique. Les données sont enregistrées dans la gamme spectrale MIR (mid-infrared) de 4000 à 375 cm^{-1} à une résolution spectrale de 2 cm^{-1} . Pour chaque bruit de fond et spectre d'échantillon acquis, 32 scans sont effectués avec un temps d'exécution moyen de 30 secondes. Une fois les spectres obtenus, ils sont exportés au format Excel pour analyse. Le pourcentage de sucre dans chaque échantillon est calculé en transposant les valeurs d'absorbance dans la courbe d'étalonnage correspondante à la longueur d'onde sélectionnée. La teneur en sucre dans les poudres de café est exprimée en % w/w. Toutes les mesures sont effectuées en duplicate.

2.6 Quantification des sucres totaux et réducteurs dans les échantillons de café par spectrophotométrie UV-Vis :

2.6.1 Quantification des sucres totaux par la méthode phénol-acide sulfurique (Y. Wang and Ho 2008b)

Cette méthode est basée sur le fait que les sucres simples ou complexes et leurs dérivés, y compris les esters méthyliques avec des groupes réducteurs libres ou potentiellement libres, lorsqu'ils sont traités avec du phénol et de l'acide sulfurique concentré vont générer une couleur jaune-orangé, la réaction est sensible et cette couleur est stable. La méthode est simple et rapide et les résultats sont reproductibles. Le changement de couleur de la solution est mesuré dans le visible et proportionnel à la quantité de sucre à l'intérieur de l'échantillon. Les hydrates de carbone sont hydrolysés sous chauffage à un pH fortement acide, cette réaction produit des composés dérivés du furane qui, lorsqu'ils sont condensés

avec des composés phénoliques, produisent des substances colorées. La concentration en sucres totaux est déterminée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 490-500 nm. La sensibilité de cette méthode varie de 10 à 100 µg de sucre total et la quantification est effectuée à partir de la courbe d'étalonnage en utilisant le glucose ou le pentose comme étalon et le calcul est effectué par l'équation de la régression linéaire obtenue à partir de la courbe d'étalonnage. La Figure 9 montre la formation du complexe coloré en Phénol-acide sulfurique.

L'estimation de la teneur totale en glucides dans les solutions de café est déterminée par l'acide phénol sulfurique. 3 g de Glucose dilués dans 100 ml d'eau distillée ont servi à la préparation de la gamme étalon (0.5, 0.25, 0.125, 0.0625, 0.031, 0.015, 0.008%). Réserver 1 ml des 11 cafés dans des tubes à essais, y rajouter 1 ml de phénol à 5% et 1 ml d'eau distillée, agiter et laisser reposer 3 min puis ajouter 5 ml d'acide sulfurique concentré (1N), vortexer. Afin d'obtenir une hydrolyse complète des sucres (Glucose), les tubes sont maintenus à 25-30°C pendant 20 min puis refroidis sous un courant d'eau. L'intensité de la coloration est mesurée à 540 nm sur un spectrophotomètre UV-Vis (**SPECORD® 210 PLUS**).

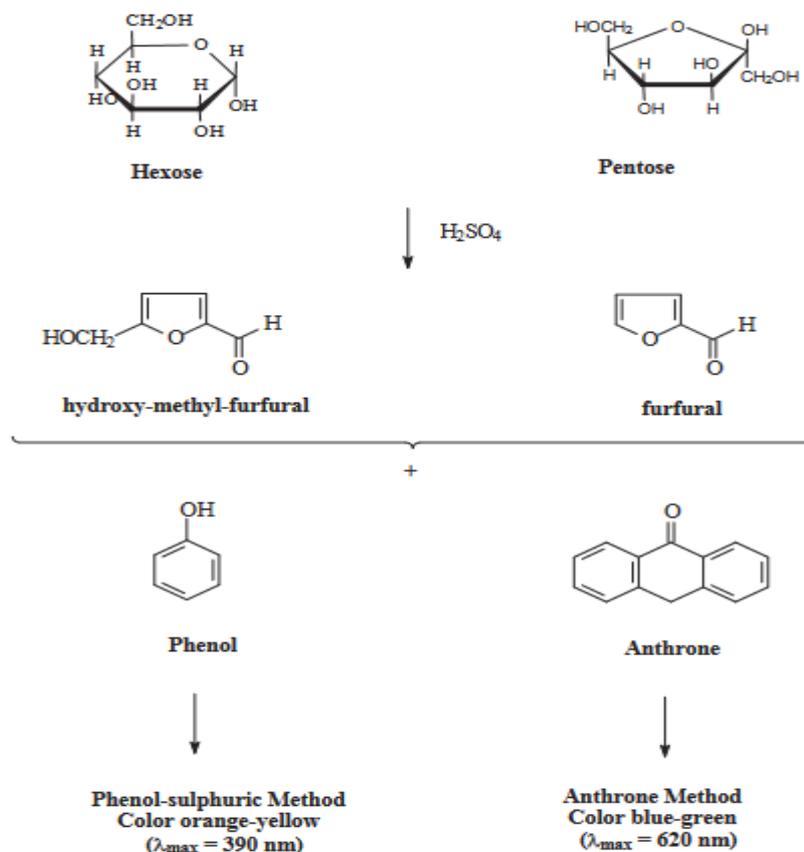


Figure 9. Réaction de formation du complexe coloré en phénol-sulfurique

2.6.2 Quantification des sucres réducteurs par la méthode 3,5 Dinitrosalicylic acid (DNSA) (Fujita et al. 1985)

Cette méthode a été mentionnée pour la première fois par **Summer & Sisler (1944)** et modifiée par **Miller (1959)**, avec cette technique, il est possible de doser le sucre réducteur en tant que sucre total. Le sucre agit comme un réducteur chimique en raison de la présence d'un groupe aldéhyde libre ou d'un groupe cétone dans sa molécule. En milieu alcalin, les sucres réducteurs sont capables de réduire l'acide 3-5-Dinitrosalicylique en acide 3-amino-5-nitrosalicylique, partout où le groupement aldéhyde est oxydé en acide aldonique (**Figure 10**). L'acide 3-amino-5-nitrosalicylique est un produit de couleur orange, et l'intensité de la couleur dépend de la concentration du sucre réducteur. L'hydroxyde de sodium assure la réaction du glucose avec l'acide 3-5-Dinitrosalicylique par alcalinisation moyenne. Outre l'acide 3-5-Dinitrosalicylique, on utilise également dans cette méthode le sel de Rochelles (tartrate de potassium et de sodium), phénol, bisulfite de sodium et hydroxyde de sodium. Le phénol optimise la quantité de couleur produite et le bisulfite de sodium stabilise la couleur en présence de phénol (**Miller, 1959**). La sensibilité de la méthode est de 100 à 500 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ de sucre réducteur. Une solution standard de glucose ou de fructose est utilisée pour construire la courbe d'étalonnage et obtenir l'équation de la ligne droite pour quantifier les échantillons.

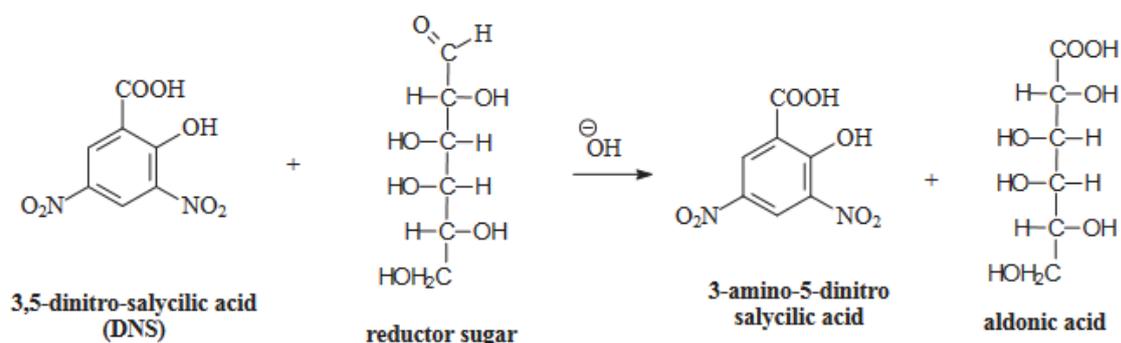


Figure 10. Réaction du sucre réducteur avec le réactif acide 3,5-dinitro-salicilique.

La teneur en sucres réducteurs totaux est mesurée à l'aide de l'acide 3,5-Dinitrosalicylique (DNSA). Le glucose réduit en acide 3-amino-5-nitrosalicylique, ce qui donne une solution de coloration rouge-orangé mesurée par spectrophotométrie à 540 nm. La solution de café (0.031 g/ml) est diluée 10 fois et un aliquote de 1 ml est mis à réagir avec la même quantité de DNSA (1 ml) puis mis à incuber dans un bain marie 10 min à 95°C. Le

mélange est ensuite refroidi puis le volume est ajusté à 10 ml. Les solutions de glucose de concentrations connues (0.25, 0.125, 0.0625, 0.031) sont utilisées comme standards. La quantité de sucres non réducteurs, telle que la teneur en saccharose (%), a été mesurée en soustrayant la teneur en sucres réducteurs de la teneur totale en sucres, exprimée par l'équation suivante : % Saccharose = Teneur totale en sucre – Sucre réducteur (**Moniruzzaman et al. 2013**)

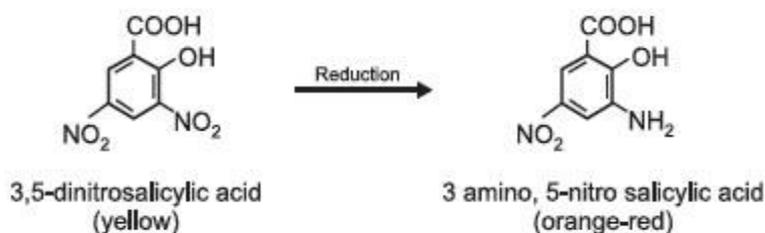


Figure 11 .Réduction du DNSA en acide 3, amino-5 nitrosalicylique en solution alcaline

2.7 Etude statistique

Le traitement des résultats a été effectué sur le logiciel statistique SPSS Statistics 17.0 pour Windows à l'aide d'une analyse de variance (ANOVA unidirectionnelle) à un niveau de confiance de 95%. Il a concerné l'évaluation du Méthylglyoxal (MGO) et des Sucres (totaux, réducteurs et saccharose) dans les cafés. Nous avons également démontré l'hypothétique relation entre l'addition de sucre et l'apparition de ce métabolite intermédiaire qu'est le MGO par l'étude de la régression linéaire.

CHAPITRE 3

RESULTATS ET DISCUSSION

3 RESULTATS

3.1 Identification des composés alpha-dicarbonylés par GC-MS et quantification par GC-FID

Il est largement admis que les produits alimentaires sont les principales sources en composés alpha-dicarbonylés car ils sont facilement générés dans les aliments riches en sucre ou les aliments riches en lipides comme le miel, les biscuits, les boissons et pour notre grand bonheur le café. Une boisson très prisée par le consommateur Algérien. Dans notre étude, nous nous sommes donc naturellement tournés vers ce produit car il fait partie des produits alimentaires régit par la réglementation Algérienne (**JORA N°9 du 5 mars 2017**). De ce fait, les composés α -dicarbonylés détectés dans les systèmes-modèles naturels (produit vendu en état) contenant aussi-bien des monosaccharides que des disaccharides comme rapportés dans le JORA (caramel, amidon, sucre etc.) ont fait l'objet d'une étude approfondi.

Les onze cafés analysés par Chromatographie gazeuse ont montré la présence de quatre pics correspondant aux produits dérivés des 04 composés alpha-dicarbonylés recherchés ; Quinoléine ($m/z=130$), 2-Méthylquinoxaline ($m/z=144$), 2,3-Diméthylquinoxaline ($m/z=117$), 2-Ethyl, 3-Méthylquinoxaline ($m/z=171$) et ont été identifiés sur la base de leur spectre de masse (m/z) respectif conformément à la NIST Database. La Figure 12 montre l'ordre d'élution des composés alpha-dicarbonylés retrouvés dans le café.

Afin d'éviter toute interférence avec l'agent de dérivation ; le O-phénylènediamine, les mélanges réactionnels ont été menées en condition basique. L'utilisation du naphtalène s'est avéré être un étalon interne très intéressant pour séparer les dérivés carbonylés.

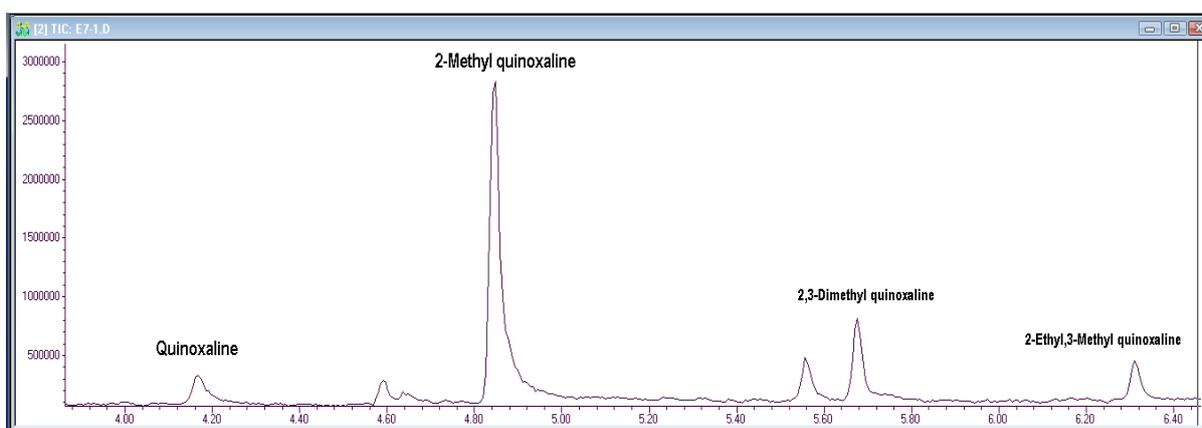


Figure 12. Chromatogramme montrant les différents dérivés des composés alpha-dicarbonylés obtenus en mode SCAN par GC-MS

Les dérivés des composés α -dicarbonylés générés dans les cafés ont été détectés sur une GC-MS et quantifiés sur une GC-FID (détecteur à ionisation de flammes) comme produits de dégradation des sucres. En raison de nombreuses fluctuations enregistrées lors de l'analyse ; manque de répétabilité et de reproductibilité, nous avons fait le choix d'utiliser un étalon interne (Naphtalène). Ce dernier est rajouté dans tous les points de la gamme étalon à un volume (5 μ l) et une concentration fixe (50 ppm).

La courbe étalon préparée à partir des dilutions sériques de la 2-Méthylquinoxaline (étalon externe) a permis de calculer par extrapolation les valeurs du Méthylglyoxal dans nos différents échantillons. Le calcul a été réalisé sur la base d'un rapport comprenant la surface des pics (S.STD/S. EI) en fonction de la concentration (C.STD/C. EI). La Figure 13 montre une droite d'étalonnage linéaire $Y = 1,1113x - 0,0156$ avec un coefficient de régression (r) supérieur à 0.99.

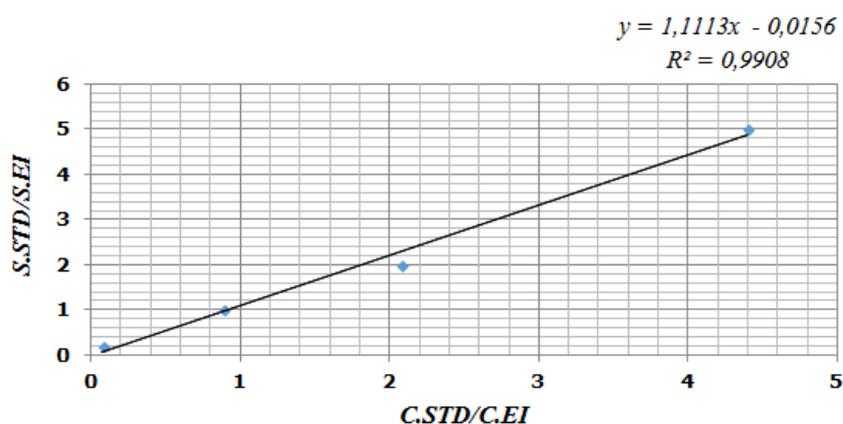


Figure 13. Droite d'étalonnage de la 2-Méthylquinoxaline dopée avec 5 μ l de Naphtalène

Les quantités initiales de Méthylglyoxal retrouvés dans les 11 cafés se situent entre des valeurs de 47.22 ± 0.49 et 102.80 ± 11.71 mg. g⁻¹ de café. La plus petite concentration étant enregistrée dans l'échantillon E6 (local) et la plus élevée dans l'un des cafés importés codé E9. Les niveaux de Méthylglyoxal dans les échantillons E1 et E11 sont quasiment identiques (74.35 ± 8.25 vs 73.57 ± 12.90 mg. g⁻¹), idem pour les échantillons E3 (67.59 ± 8.81), E7 (67.20 ± 9.78), et E8 (65.80 ± 8.32) respectivement.

Tableau 6. Les différentes concentrations de Méthylglyoxal produites lors de la dégradation des sucres dans les échantillons de café locaux et importés

Echantillons	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11
[C]%	74,3462	88,229	67,5928	59,358	63,8656	47,2188	67,2004	65,8057	102,797	93,0509	73,5685

E6 : la concentration la plus faible ; E9 : la concentration la plus élevée.

Les résultats présentés dans la Figure 14 montrent que par rapport aux échantillons locaux, les cafés importés présentent des concentrations relativement plus élevées (E9 et E10) en Méthylglyoxal., même si l'analyse statistique ne confirme pas cette différence (P=0.09). Le profile présenter ci-dessous montre une certaine disparité entre les deux groupes.

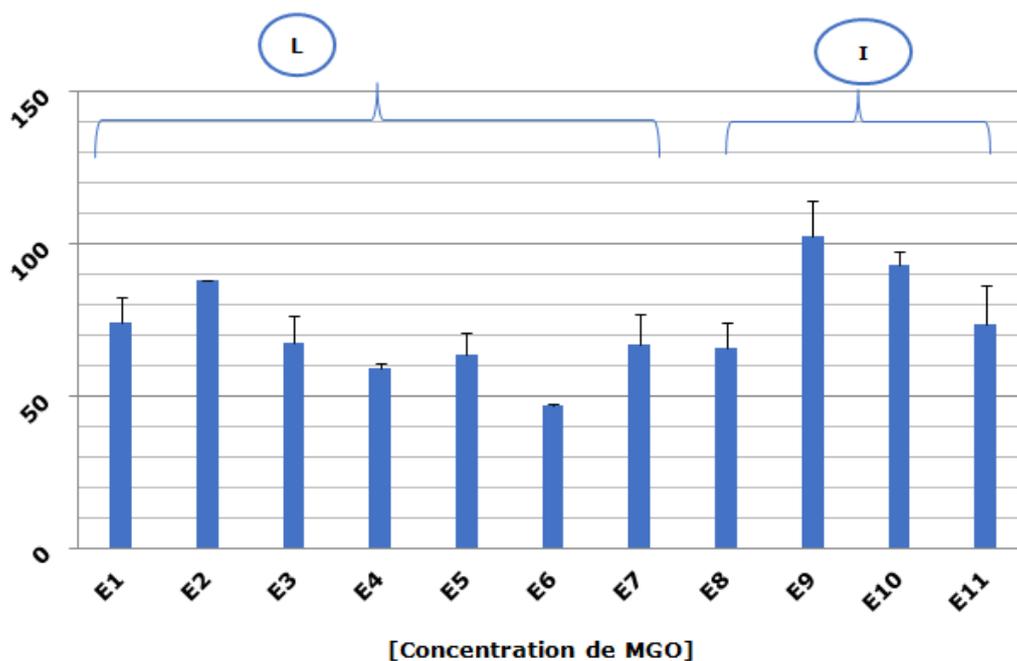


Figure 14. Profile du Méthylglyoxal dans les 11 variétés de café ; I : Importés, L : locaux

3.1.1 Validation de la Méthode de Quantification

Courbe de calibration et Linéarité : La linéarité a été établie en analysant quatre concentrations standards d'étalonnage de la 2-Méthylquinoxaline sur l'étalon interne allant de 0.2 à 5 ppm. Selon le tracé, il apparaît une réponse linéaire comme le montre la Figure 13. Les solutions standards ont été injectées en duplicata et pendant trois jours successifs. L'équation de régression linéaire pour la 2-MQ/Naphtalène est de type : $Y = 1.1113x - 0.0156$ avec un coefficient de régression (r) supérieur à 0.99 (Tableau 6).

Spécificité du dosage : La spécificité du dosage a également été évaluée par l'observation de toute interférence. Le blanc analytique (absence de l'analyte recherché) associé aux différents échantillons de café n'a montré aucun signal parasite au temps de

réretention (RT-4.861) de la 2-Méthylquinoxaline confirmant la sélectivité de la méthode proposée.

Sélectivité du dosage : L'analyse chromatographique des 11 échantillons de café préparée dans les mêmes conditions a permis de mettre en évidence un pic unique correspondant à la 2-Méthylquinoxaline (2-MQ) après un balayage spectrale complet assistée par la base de données (NIST) dans l'intervalle du poids moléculaire ($m/z=144$) de l'analyte recherché.

Limite de détection et limite de quantification : La limite de détection (LDD) et la limite de quantification (LDQ) ont été calculées à partir de la courbe d'étalonnage en injectant la plus faible concentration en étalon et en utilisant les équations suivantes : $LDD=3.3*s/S$; $LDQ=10*s/S$, où s est l'écart type de la réponse et S la pente de la courbe d'étalonnage. La LDD est donc de 1.64 ppm et la LDQ est de 4.98 ppm (Tableau 7). Techniquement parlant, la limite de détection correspond à la concentration permettant d'obtenir un pic d'amplitude supérieure ou égale à trois fois celle du bruit de fond et la limite de quantification est égale à 10/3 fois la limite de détection.

Recouvrement : Des étapes de recouvrement ont été réalisées sur trois échantillons de café épuisés en Méthylglyoxal. L'ajout en excès de l'agent de dérivation a permis la transformation complète de l'analyte recherché, confirmé par une analyse préliminaire en GC. Lesdits échantillons (au total 3) ont été dopés avec 20 μ l de MGO pur (40%) et traités conformément à notre protocole. Le taux de récupération de la 2-Méthylquinoxaline se situait entre 60 et 80 %.

Exactitude et précision : Des solutions de travail standard contenant de la 2-MQ à des concentrations connues sont préparées et injectées deux fois dans la même journée pendant trois jours consécutifs. Afin d'éviter toute altération physico-chimique, les échantillons sont conservés au réfrigérateur. La récupération moyenne de l'analyte se situe entre 45 et 95 %. Une erreur survenue lors de l'injection de la plus faible concentration (10 ppm) a quelque peu biaisé le calcul comme rapporté dans le Tableau 8. Les erreurs standards à la déviation (RSD) sont de 0.27 à 21%. Les données ont montré que les coefficients de variations étaient compris entre 10% et 22% en intra et 15% en inter. Nous avons remarqué que cette méthode est relativement précise pour des concentrations fixées à 50 ppm et au-delà. En dessous de cette valeur la précision est quelque peu sujette à controverse. A 100 ppm le taux de recouvrement est le plus important ; il se situe entre 92 et 95%.

Tableau 7. Données d'étalonnage et paramètres de validation pour la détermination par GC-FID de la MGO

Paramètre	GC-MS
Validation de l'Equation de Regression	
Pente/Slope ^a	1.1113
Ordonnée à l'Origine/Intercept ^b	-0.0156
Coefficient Correlation (r)	0.9954
Validation de la Réponse	
Intervalle de Concentration (ppm)	10-250
LDD (ppm)	1,64361945
LDQ (ppm)	4,98066499
Précision Moyenne %	80
SE of intercept	0.16688692
SD of intercept	0.5535013
% RSD (SD X100/X')	21.97
% Erreur (% RSD/ \sqrt{n})	6.6242

RSD : Relative Standard Deviation; **LDD**: Limite de Détection; **LDQ**: Limite de Quantification ; **SE** : Standard Error of Intercept ; **SD** : Standard Deviation of Intercept

Tableau 8. Exactitude et précision du dosage de la solution étalon 2-MQ

Jours	[Con] ppm	Result.1	Result.2	X	RSD (%)	Intra-assay	Recovery (%)	Average Recovery (%)	Inter-assay
Jour1	0.2	0,0991434	0,080149	5,727215	10,810033	10,21452898	57,27215042	82,18579455	15,28279109
	1	0,9958061	0,991878	47,40675	0,2700768		94,81349932		
	2	2,1627523	1,9084712	95,427848	8,6852896		95,42784785		
	5	3,7138213	5,0279621	203,0742	21,092716		81,22968062		
Jour2									
	0.2	0,1371081	0,0738542	8,2748333	22,82223	13,06480791	82,74833251	82,47084067	
	1	0,8336361	0,9507728	41,492334	8,4285963		82,98466774		
	2	2,1713552	2,0048695	91,986671	5,4035843		91,98667125		
	5	3,7108383	4,653786	180,40923	15,604821		72,16369116		
Jour3									
	0.2	0,1183537	0,0487312	4,4606521	49,656336	22,56903639	44,60652078	73,96578093	
	1	0,802344	0,9617339	40,386888	12,555792		80,7737761		
	2	1,9047027	2,1799239	92,590359	9,4567054		92,59035903		
	5	3,7430321	4,8819579	194,73117	18,607312		77,89246782		

J : Jour ; **SD** : Standard Deviation; **RSD=CV**: Relative Standard Deviation

3.2 Analyse des sucres :

3.2.1 Spectroscopie Infrarouge :

Avant de lancer l'analyse des sucres, nous nous sommes intéressés tout à bord aux informations nutritionnelles libellées et consignées sur l'emballage des 11 produits. Cette étape a permis de situer les marges d'erreurs ou les non-conformités par rapport à la réglementation Algérienne et de ce fait orienter notre étude. Les quantités de café déposées à la surface du Crystal ATR est généralement de l'ordre de 10 à 20 mg. L'acquisition du spectre infrarouge comme rapporté dans la Figure 15 montre le spectre d'un échantillon de café contenant du sucre obtenu en utilisant la spectroscopie ATR-FTIR. Afin de vérifier le degré de reproductibilité spectrale, l'analyse a été réalisée en double (Figure 16). La recherche des sucres repose essentiellement sur les bandes d'absorption infrarouge caractéristiques de ces derniers qui se situent entre 900 et 1200 cm^{-1} . Le Glucose montre une bande d'absorption unique localisé à 1027 cm^{-1} , celle-ci est caractéristique de la vibration d'étirement C – O et retrouvée dans tous les échantillons de café analysés. L'avantage de cette technique est qu'elle ne détériore pas l'échantillon puisqu'il ne subit aucun traitement préalable. Elle est donc fiable.

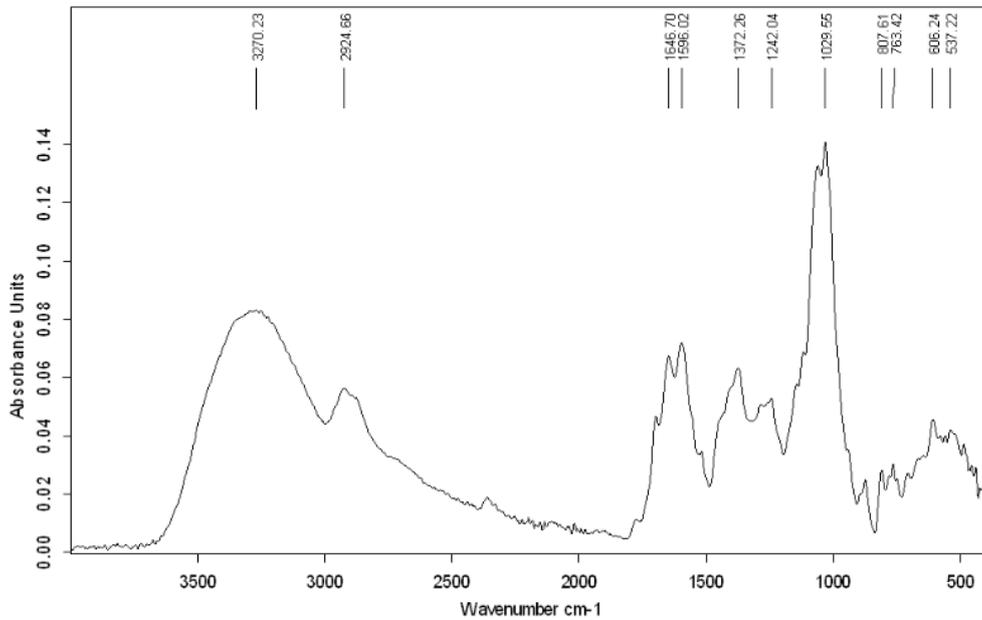


Figure 15. Spectre ATR-FTIR d'un échantillon de café (E11.1)

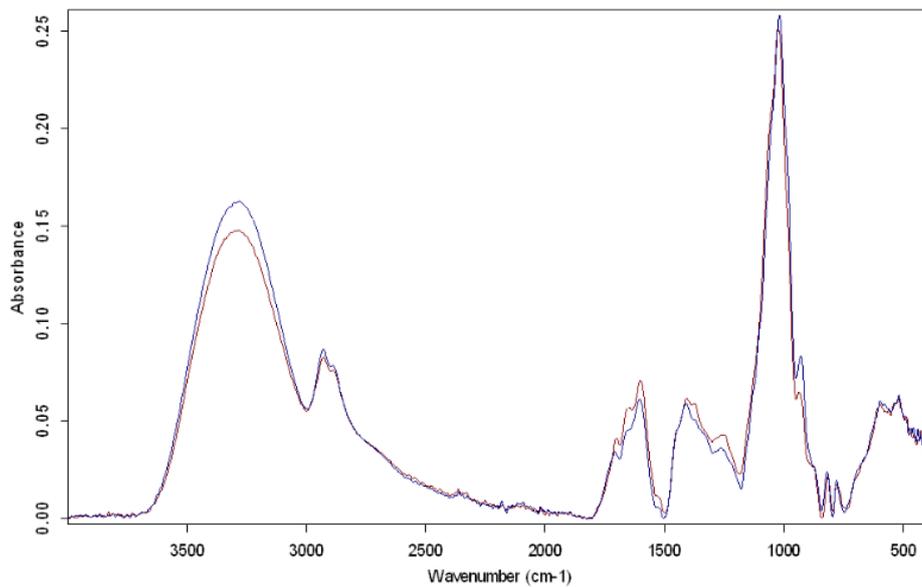


Figure 16. Spectre infrarouge acquis en double d'un échantillon de café (E9.1 et E9.2) utilisant la spectroscopie ATR-FTIR

Sur la base du modèle à nombre d'onde unique (1027cm^{-1}), la courbe d'étalonnage a été définie pour prédire la teneur en sucre dans les poudres de café (**Figure 17**). Les concentrations en Glucose mesurées dans les 11 échantillons de café montrent indéniablement que les cafés importés renferment au minimum 7 fois plus de sucre que les produits locaux.

Les valeurs oscillent entre 3.71 et 11.26 % pour les produits locaux et 20.03 et 49.94 % (Tableau 9) pour les produits à base de café soluble (Chicorée, Nescafé, Ricorée etc) comme le montre la Figure 18 A l'exception de l'échantillon E2 (11.26%), toutes les autres boissons sont plus ou moins dans les normes (3.71-5.63%), cet aspect est conforté par l'analyse statistique qui révélera clairement une différence significative entre les deux produits (P=0.020). La Figure 17 montre la relation linéaire obtenue par l'équation de la droite $Y=0.0076x + 0.0394$; $r=0.97$ comme décrite ci-dessous.

Tableau 9. Evaluation quantitative du taux de sucre dans les échantillons de café par Spectroscopie infrarouge

Echantillons	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11
[C]%	5.63	11.26	3.71	4.49	3.91	5.36	4.14	4.32	27.41	49.94	20.03

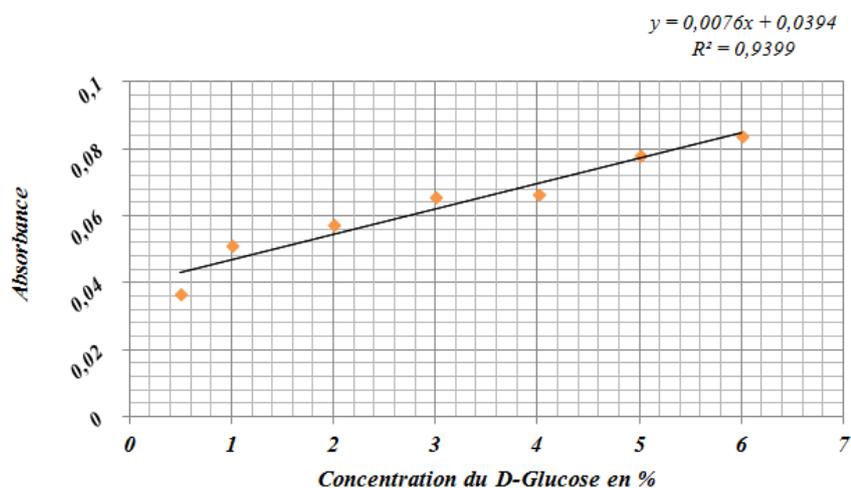


Figure 17. Courbe d'étalonnage du Glucose obtenu à partir d'un spectre ATR-FTIR

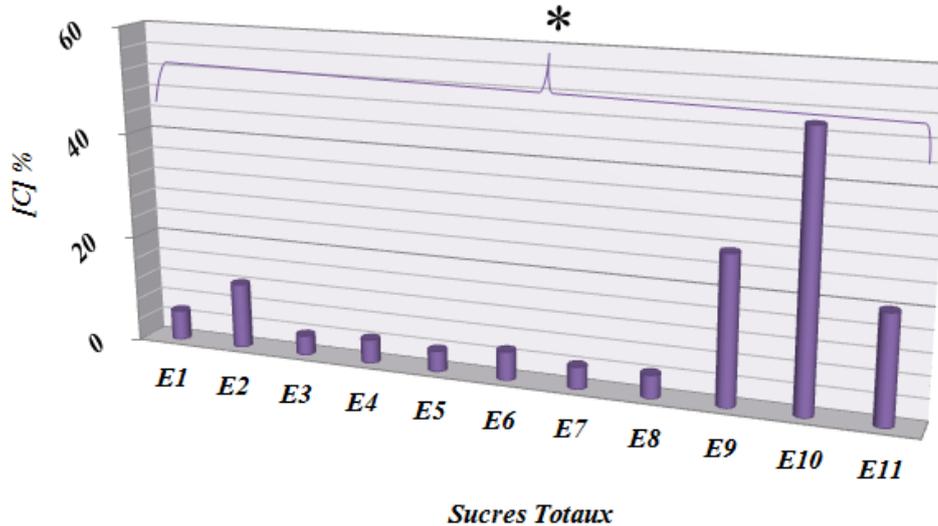


Figure 18. Profile des sucres totaux extraits de l'analyse par spectroscopie ATR-FTIR

3.2.1 Spectrométrie UV-Visible

3.2.1.1 Sucres Totaux

Dans l'ensemble, la teneur totale en sucre des échantillons de café dans la présente étude se situe entre 2,11 et 19,12 %. Le Tableau 10 montre que la quantité de sucres dans les cafés locaux (E1-E7) est beaucoup plus faible que celle enregistrée dans les cafés importés (E9-E 11), ceci se reflète de manière significative ($P=0.008$) lors de l'analyse de la variance. La Figure 20 montre une disparité et un écart entre les deux catégories de café en faveur du groupe (E vs L) qui est clairement perceptible aux regards des valeurs calculées. La droite d'ajustement appelée aussi courbe d'étalonnage sur laquelle repose cette évaluation indique que la régression est linéaire $Y= 7.9788x + 0.0903$ renforcée par un coefficient de corrélation qui avoisine les 1 (Figure 19).

Tableau 10. Evaluation quantitative des sucres totaux dans les échantillons de café par Spectrométrie UV-Visible

Echantillons	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11
[C]%	2.11	7.72	4.86	3.45	4.59	7.08	7.74	6.96	19.12	16.99	11.38

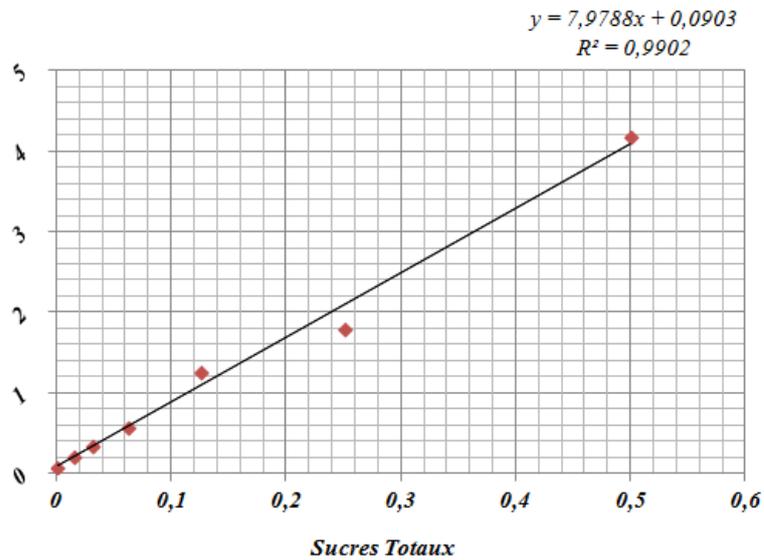


Figure 19. Courbe d'étalonnage du D-Glucose obtenue après traitement au phénol-acide sulfurique

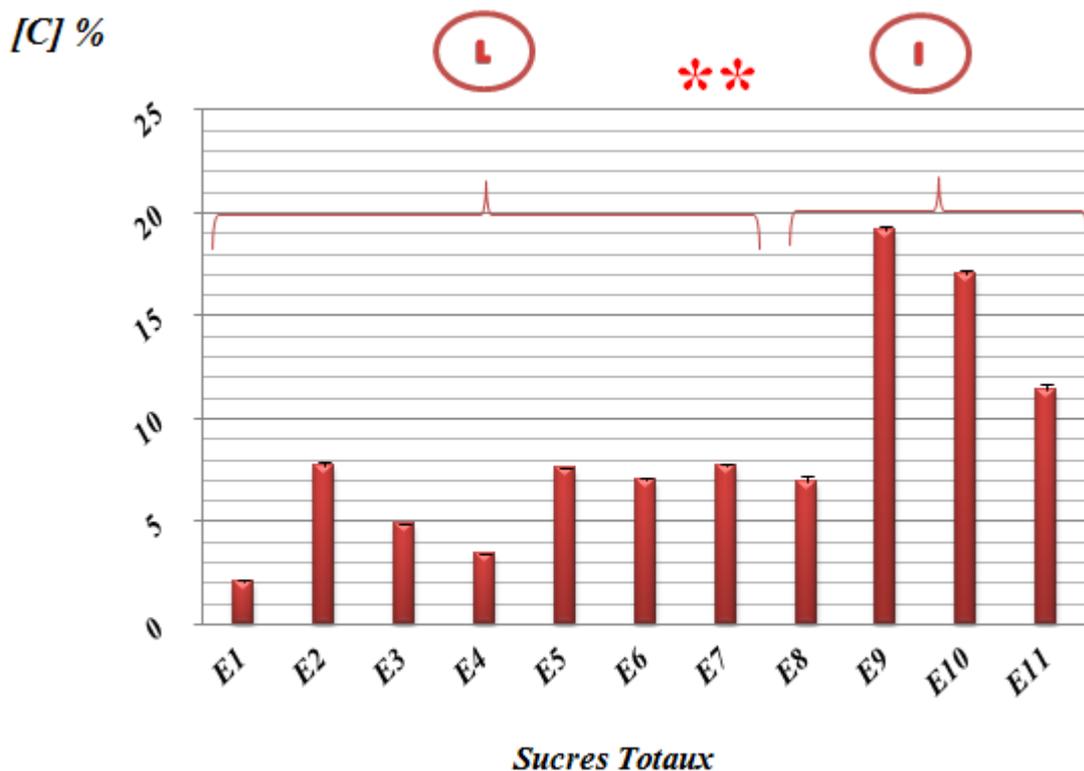


Figure 20. Dosage des sucres totaux par la méthode du Phénol-acide sulfurique

3.2.1.2 Sucres Réducteurs

Dans le Tableau 10, nous remarquerons que les quatre dernières valeurs (E8, E9, E10, E11) sont toujours élevées que ce soit pour les sucres totaux ou réducteurs. Certes, les valeurs ne dépassent pas trop celles affichées dans le JORA ($\leq 3\%$) mais elles restent néanmoins cohérentes avec celles rapportées dans le Tableau 10. Comme pour les sucres totaux, la plus petite valeur est exprimée dans l'échantillon E1 (1.08%) et la plus élevée dans l'échantillon

E10 (3.54%). Il existe de ce fait une logique imparable entre les deux déterminations (sucres totaux vs sucres réducteurs). La disparité observée entre les deux catégories de café est renforcée et consolidée par l'analyse statistique qui révélera une différence hautement significative ($P=0.00005$). Les quatre barres représentées (E8-E11) dans la Figure 22 se démarquent du reste.

Tableau 11. Evaluation quantitative des sucres réducteurs dans les échantillons de café par Spectrométrie UV-Visible

Echantillons	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11
[C]%	1.08	1.74	1.45	1.23	1.75	1.73	1.62	2.88	3.15	3.54	3.03

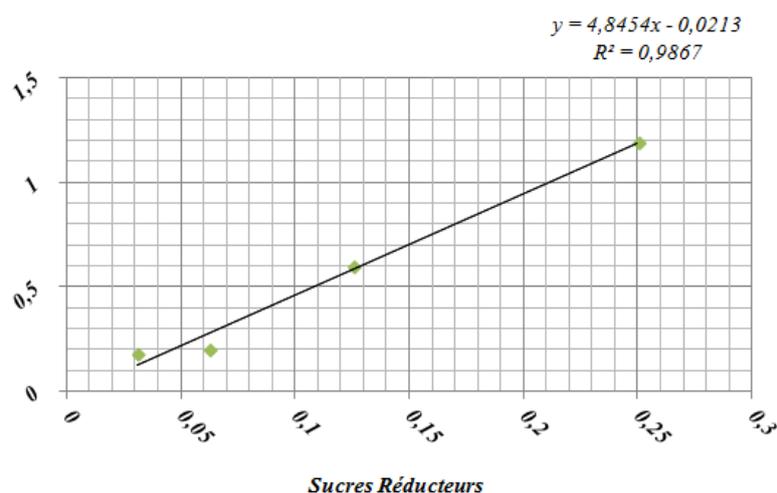


Figure 21. Courbe d'étalonnage du D-Glucose par la méthode au DNS

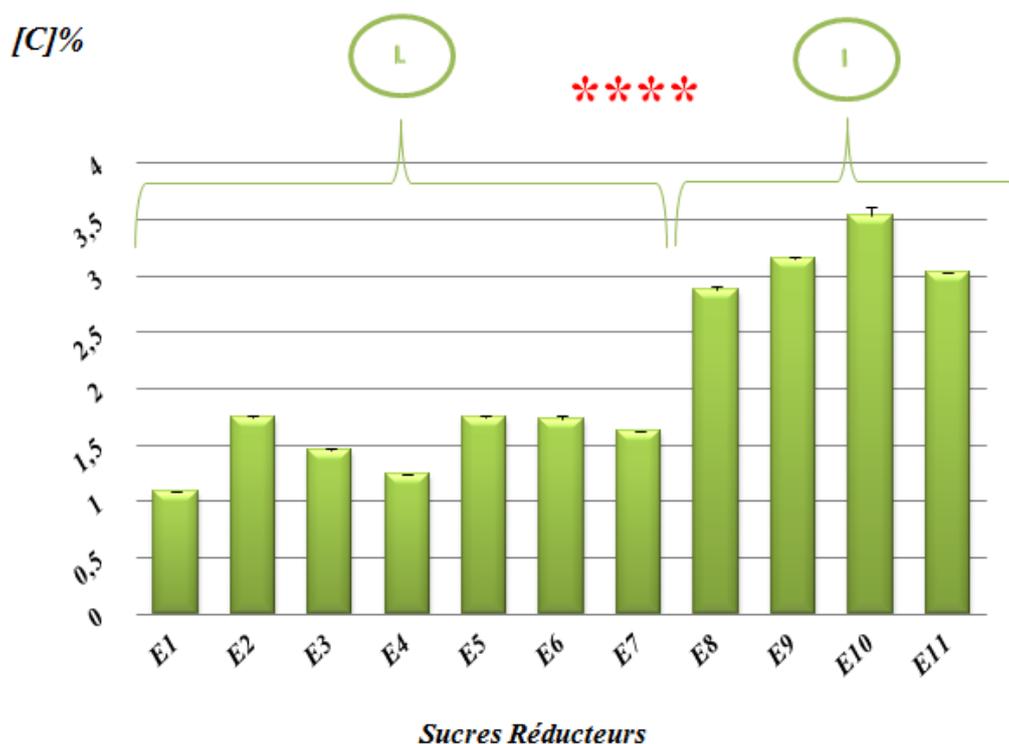


Figure 22. Dosage des sucres réducteurs par la méthode au 3,5 acide Dinitrosalicylic

3.3 Saccharose/Sucrose

Le Tableau 11 montre les niveaux de saccharose dans les 11 échantillons de café obtenus après soustraction des sucres réducteurs des sucres totaux. De prime abord, nous remarquons que les concentrations en saccharose dans les cafés importés sont toujours plus élevées, elles se situent entre 8.34 % et 15.96%. Les autres valeurs sont plus ou moins homogènes entre 5.34 et 6.12 % (E2, E5, E6 et E7). Alors que les échantillons E1 et E4 enregistrent les valeurs les plus basses, nous noterons malgré tout une cohésion aux regards des résultats précédents rapportés pour les sucres totaux et réducteurs. Globalement, la teneur moyenne en saccharose était de $4.28 \pm 0.78\%$ pour les cafés locaux et $10.46 \pm 2.65\%$ pour les cafés importés. L'analyse statistique révélera une différence très significative ($P= 0.01$) entre les deux groupes de café déjà cités voir l'Annexe2. Présentement le graphe de la Figure 23 confirme cet écart. Sans ambiguïté, les échantillons E9, E10 et E11 sont les plus chargés en saccharose. La Figure 24 a permis de déterminer avec précision que les sucres totaux et le saccharose sont majoritaires, les données statistiques le prouvent ($P=0.002$).

Tableau 12. Concentration de saccharose rapportée dans les 11 échantillons de café

Echantillons	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11
[C] %	1,03739645	5,9773099	3,41123871	2,22030963	5,84259789	5,34855058	6,11893897	4,08076112	15,9630364	13,4587112	8,34366642

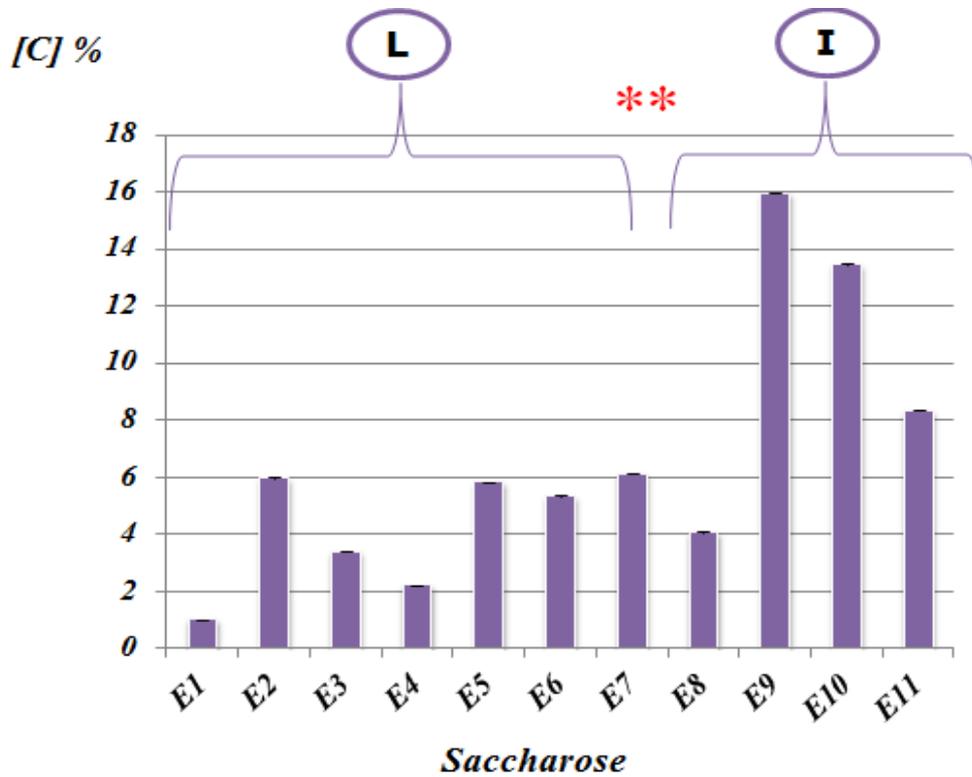


Figure 23. Estimation du taux de Saccharose dans les cafés locaux et importés

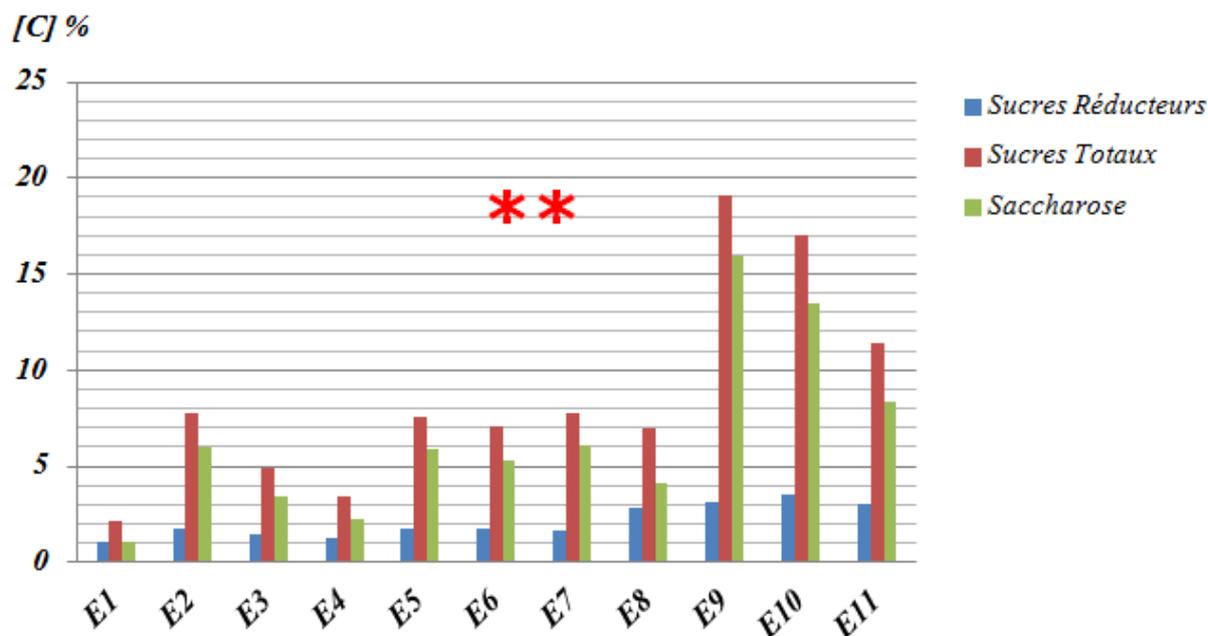
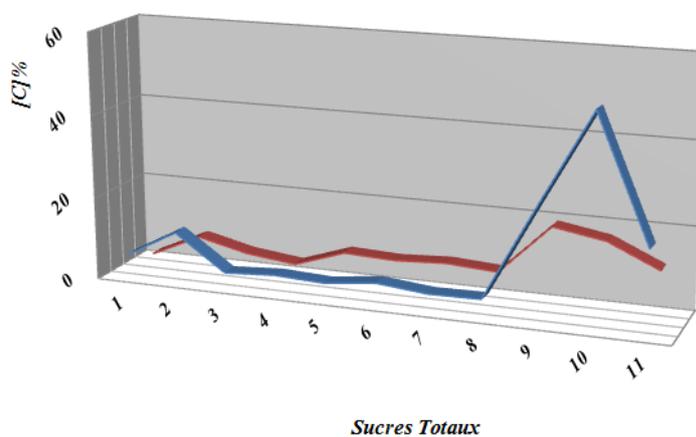


Figure 24. Estimation des Sucres Totaux, Réducteurs et du Saccharose dans les 11 échantillons de café

3.4 Analyse des comparaisons multiples :

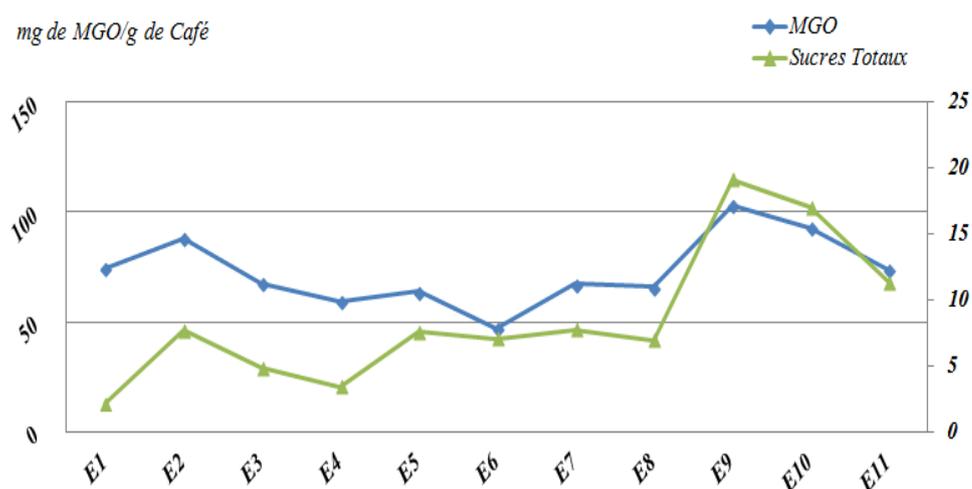
Afin d'évaluer la sensibilité des méthodes utilisées (spectroscopie infrarouge vs spectrométrie UV-Visible) pour le dosage des sucres totaux, une étude comparative a été réalisée. Bien que les deux courbes (Figure 25) exhibent le même profil, aucune différence significative n'a été enregistrée ($P > 0.05$) quand bien même la valeur de E10 plafonne



(49.94%).

Figure 25. Analyse comparative entre les sucres totaux analysés par la méthode utilisant l'UV-Visible (rouge) et la spectroscopie infrarouge (bleu)

Afin de démontrer un parallèle entre l'ajout de sucre dans les cafés et la production de Méthylglyoxal, car il s'agit bien de notre hypothèse de départ. Nous avons réalisé une étude comparative entre le MGO et les sucres totaux. L'analyse de régression linéaire qui est une méthode statistique de modélisation des relations entre différentes variables dépendantes (MGO) et indépendantes (sucres) explique parfaitement le chevauchement entre les deux courbes (Figure 26). Cette relation suit une probabilité conditionnelle qui se confirme aux



regards du coefficient de corrélation ($P=0.01$; $r=0.73$).

Figure 26. Superposition du Méthylglyoxal et des sucres totaux dans un modèle de réciprocity

A quelques différences observées sur les échantillons E6, E7 et E8 attribuées probablement à une sous-estimation des taux de sucres réducteurs dans les échantillons de café, le profil du Méthylglyoxal et de ces dits sucres comme rapporté dans la Figure 27 est quasiment identique. Nous remarquons que notre approche hypothético-déductive est validée par notre démarche inductive. Avec des données brutes, réelles et des observations concrètes, nous avons réussi à expliquer le phénomène recherché, même si l'étude statistique ne va pas dans ce sens ($P=0.06$; $r=0.57$) mais pourrait malgré tout être expliquée par notre première observation à savoir l'estimation réelle du taux de sucre dans le café. Globalement, l'étude est satisfaisante à plus d'un titre.

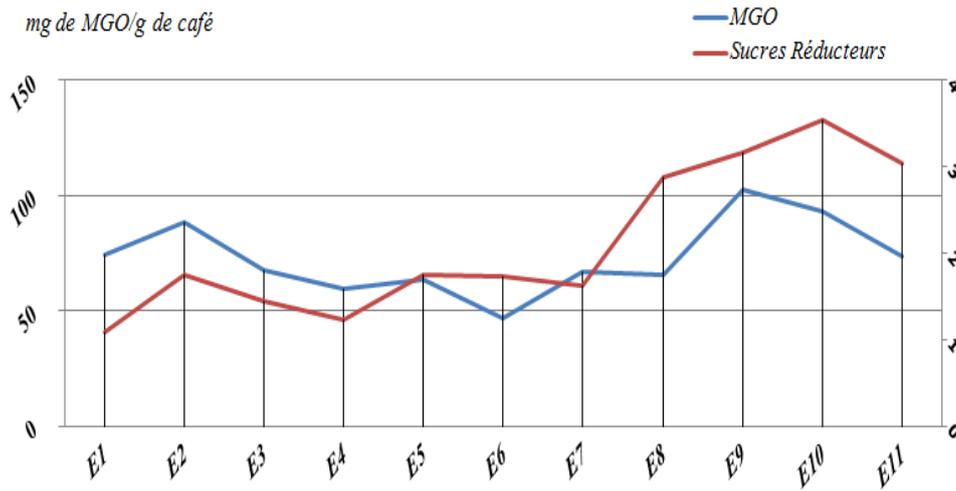


Figure 27. Superposition du Méthylglyoxal et des sucres réducteurs dans un modèle de réciprocité

Nous avons réalisé le même exercice que pour les sucres totaux et réducteurs, et avons établi que le Méthylglyoxal et le saccharose étaient fondamentalement liés ($P=0.009$, $r=0.86$). La Figure 28 telle que présentée ci-dessous montre un profil non sans rappeler celui observé dans les Figures 26 et 27.

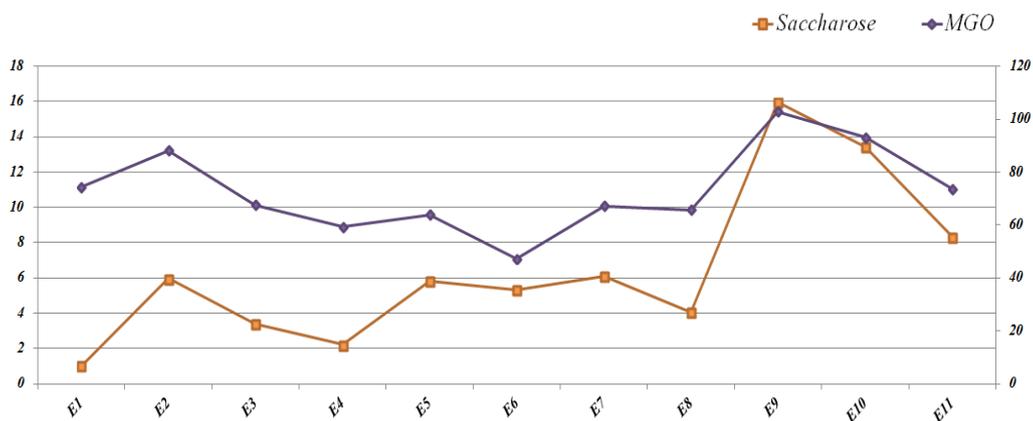


Figure 28. Superposition du Méthylglyoxal et du Saccharose dans un modèle de réciprocité

3.5 DISCUSSION

Les composés alpha-dicarbonylés sont des composés que l'on retrouve dans une large gamme de produits commerciaux (aliments et boissons) à l'exemple du pain, de la dinde rôtie, des jus de tomate et d'orange, des pommes de terre bouillies mais aussi dans les cafés instantanés, infusés et décaféinés. L'air n'est pas exempt de MGO, puisque les fumées de cigarette en renferment aussi (**Moree-Testa and Saint-Jalm 1981**). La présence de ces composés dans nos assiettes n'est pas dangereuse en soi sauf si les quantités produites dépassent largement ce qui est autorisé. Le Méthylglyoxal est connu pour être un intermédiaire de la glycolyse, il est donc présent à l'état physiologique dans toutes les cellules eucaryotes et procaryotes. Au-delà de la fraude manifeste que nous essaierons de démontrer dans notre étude, un autre aspect nous interpelle, celui de leur impact sur la santé publique. Très souvent, les personnes atteintes de maladies chroniques telles que le diabète font généralement confiance à l'étiquetage dans leurs prises de décision ou dans l'estimation journalière de leur consommation en carbohydrates.

Les composés carbonylés se forment généralement à partir de la fragmentation des sucres lors du brunissement non-enzymatique et sont des intermédiaires de la caramélisation et de la réaction de Maillard (**Hollnagel and Kroh 1998**).

Dans notre étude, nous avons voulu démontrer la relation intrinsèque et sine-qua-none entre l'ajout de sucre dans les cafés et la présence de Méthylglyoxal. Les composés alpha-dicarbonylés ont été piégés et déterminés en tant que Quinoxaline tout au long de l'expérience. L'agent de piégeage ou de dérivatisation utilisé est l'o-phénylènediamine (*O*-*PD*), approprié pour ce type de composés. Bien qu'il possède deux groupes amines, leur réactivité est réduite en raison de la présence du résidu aromatique. L'expérimentation a été réalisée en conditions alcalines afin de favoriser la fragmentation des sucres (**Hollnagel and Kroh 1998**).

Dans la majorité des modèles expérimentaux, le glucose et la lysine sont rajoutés intentionnellement dans la réaction en ajustant la température et le pH. Ce système qui a déjà fait ses preuves atteste du bien fondé de cette relation. Dans notre cas de figure, nous avons fait le travail inverse à savoir démontrer la présence du Méthylglyoxal dans les cafés, puis associer cette présence à l'addition de sucre. L'affirmation ou l'infirmité de cette donnée est validée ou pas par le dosage des sucres totaux, des sucres réducteurs et du saccharose. De ce fait, les 4 dérivés des composés alpha-dicarbonylés extraits des 11 solutions de cafés

(locaux vs importés) ont été identifiés par GC-MS (Quinoxaline, 2-Méthylquinoxaline, 2,3-Diméthylquinoxaline et 2-Ethyl, 3-Méthylquinoxaline), seul le Méthylglyoxal a été quantifié par GC-FID. Sur la base des résultats obtenus, nous remarquons que les niveaux de Méthylglyoxal produits dépassent largement ce qui est rapporté dans la littérature. La plus petite valeur enregistrée est de 47.22 μg de MGO/g de café et la plus élevée est de 102.80 μg de MGO/g de café. Dans le modèle réactionnel fermé tel que présenté plus haut, les valeurs du Glyoxal (GO) sont comprises entre 0.36 et 16.78 $\mu\text{g}/\text{g}$, alors que le Méthylglyoxal (MGO) est retrouvé sous forme de trace mais peut aussi atteindre des niveaux allant jusqu'à 50.81 μg de MGO/g (Cha, Debnath, and Lee 2019a). La concentration moyenne en Méthylglyoxal dans les cafés importés est de l'ordre de 83.80 ± 8.54 μg de MGO/g de café alors que dans les cafés locaux, elle est de l'ordre de 66.83 ± 4.80 $\mu\text{g}/\text{g}$. Un parallèle fait avec une marque de café instantané montre que les composés dicarbonylés communément retrouvés contenaient respectivement 23, 100, 20 et 46 μg de glyoxal, méthylglyoxal, diacétyl et éthylglyoxal par gramme (M et al. 1986), des taux de MGO qui semblent se rapprocher des nôtres. Dans d'autres travaux menés par Hayashil et Shibamoto (Hayashil et Shibamoto, 1998), la concentration rapportée en MGO dans le café instantané est de 23 $\mu\text{g}/\text{g}$, pour les cafés infusés décaféinés, cette valeur tourne autour de 47 $\mu\text{g}/\text{g}$ et 25 $\mu\text{g}/\text{g}$ dans le café infusé. Des similitudes ont été retrouvées dans les cafés locaux utilisés pour notre étude.

Dans la deuxième partie de notre étude, nous avons évalué le taux de sucre par deux méthodes ; spectroscopie infrarouge vs spectrométrie essentiellement pour les sucres totaux, et afin de rester dans les limites autorisées par la réglementation Algérienne, nous avons fixé le seuil supérieur de nos solutions étalons à 6% incluant les 3% publiés dans le JORA. Il est à noter que tous les sucres possèdent des bandes d'absorption infrarouge caractéristiques entre 900 et 1250 cm^{-1} qui peuvent être attribuées aux liaisons C-O-H et C-O-C, la quantification se fait donc à ce niveau. Ces pics sont attribués aux vibrations de liaisons contenues dans les molécules de sucres. A partir de l'absorbance des échantillons secs, nous avons remarqué que tous les pics d'absorption du Glucose ont été visualisés et attribués entre 6 et 0.5 %. Toutefois, l'absorbance du glucose à une longueur d'onde de 1027 cm^{-1} comme déterminé dans notre étude, se retrouve augmentée en fonction de la concentration du monosaccharide. Une corrélation entre l'absorbance de tous les échantillons et leurs concentrations a donc été déterminée. En effet, le massif de pic obtenu à cette longueur d'onde est fortement attribué à la vibration de liaison C-O ; pic caractéristique du glucose. Lorsqu'il y a plus d'un sucre simple (glucose, fructose, saccharose) dans

l'échantillon, un chevauchement important des bandes se produit ce qui nécessite le recours à des analyses multivariées. L'analyse du glucose dans le café en lui-même a suffi à démontrer notre hypothèse.

L'utilisation d'une méthode de spectroscopie infrarouge (ATR-IR) non-invasive pour mesurer le glucose est comparée à un dosage classique par UV. L'évaluation des sucres totaux a permis de révéler une incohérence entre le pourcentage de sucres (totaux) retrouvé entre l'UV et l'IR. En effet, une différence de 66% est relevée en faveur des cafés importés. Ce rapport s'inverse en faveur des cafés locaux, néanmoins la différence est minime et négligeable. Même si les valeurs retrouvées entre les deux méthodes sont relativement éloignées, il existe cependant une certaine cohérence. Les cafés solubles prêts à l'emploi présentent toujours les concentrations les plus élevées. Cette disparité observée peut s'expliquer par la présence de nombreux glucides, en particulier, les vibrations du mode squelettique des liaisons glycosidiques observées dans l'amidon ou le saccharose qui aurait subi un shift par rapport aux bandes des spectres du café. Cette surestimation serait probablement attribuée aux différents types de polysaccharides présents dans le café et ses adjuvants (substance introduite frauduleusement dans un produit) qui provoquerait un fort chevauchement des bandes entravant sérieusement l'identification et la quantification des sucres individuels comme décrit par **(Mussatto et al. 2011)**. De ce fait, les liaisons β -glycosidiques devraient apparaître dans le café et ses sous-produits en association avec les arabinogalactanes, les galactomannanes et la cellulose, tandis que les liaisons α -glycosidiques devraient apparaître principalement dans le maïs et l'orge en raison de la présence d'amidon **(Reis, Franca, and Oliveira 2016)**. Bien que cela soit qu'une hypothèse, elle reste toutefois très plausible.

Les résultats du dosage des sucres totaux par UV-Visible dans les produits commercialisés instantanés montrent le même profil que ceux apportés par l'analyse ATR-IR. Certes, les concentrations sont moins élevées, mais elles restent tout de même non conformes. Comment expliquer ce phénomène ? La méthode utilisée pour mesurer les sucres totaux repose essentiellement sur une étape d'hydrolyse acide, le but étant de libérer un maximum de molécules de glucose libres ou de fructose. L'approche expérimentale que nous avons utilisée dans notre étude pourrait être en partie la cause de cet écart. Une optimisation du temps ou de la température de chauffage aurait été plus judicieuse. Cet aspect est largement revendiqué dans les travaux de **Chavan et al., 2015** qui suggère que le traitement à l'acide chaud est beaucoup plus efficace et rentable en termes d'unités de glucose. De plus, la

composition de l'amidon à supposer qu'elle ait été rajoutée au café au même titre que le saccharose (sucre de table) contient des régions amorphes qui sont préférentiellement hydrolysées sous l'effet de l'acide. L'amidon est un polymère de glucose constitué de building blocks ; d'amylase et d'amylopectine, l'ouverture de ces complexes libèrerait des unités de glucose. Selon nous, cette hypothèse est beaucoup plus plausible et expliquerait de manière rationnelle les résultats obtenus. Toujours dans la même logique, nous notons que les 04 cafés (E8, E9, E10 et E11) importés renferment également les taux de sucres réducteurs les plus élevés en comparaison avec les cafés locaux. Ils restent toutefois dans les normes. A ce stade de l'étude, nous aurions pu doser le fructose pour pouvoir objectivement trancher quant à la présence d'amidon ou de saccharose dans les cafés. Malheureusement l'absence de l'étalon (fructose) à quelque peu entraver notre étude et nous a obligé à nous centrer sur l'amidon comme polysaccharide alimentaire, ce point est renforcé par la réglementation Algérienne (caramel, sucre, amidon), le saccharose étant beaucoup plus coûteux. Nous pensons, que ce glucide simple n'aurait pas pu sous l'effet de l'acide apporter autant de glucose que ceux que nous avons comptabilisé avec le dosage.

Les résultats tels que présentés dans notre étude indiquent que tous les échantillons de café contiennent des composés dicarboxylés et que ces derniers sont étroitement liés à la présence de sucres. Pour certains auteurs cette relation ne semble pas évidente, le MGO serait produit lors de la réduction de monosaccharides par la réaction de Maillard. Des études ont rapporté que des boissons dites allégées en sucres à l'exemple des Soda, ne contenaient pas de MGO car les sucres de substitutions rajoutés à la boisson ne renfermaient ni des monos ni des disaccharides attestés par **Weerawatanakorn., 2013**. Cette idée a été renforcée et confortée par les travaux de **Usui et al., 2007**. Bien que certains témoignages montrent que les composés alpha-dicarboxylés sont produits à la suite de la fragmentation du glucose et du fructose, à ce stade de l'étude, nous en sommes que partiellement convaincus puisque nos résultats contredisent les quelques données publiées dans ce contexte. La corrélation entre le MGO et les sucres totaux, en est la preuve ($P=0.01$). Nous ne réfutons pas l'hypothèse selon laquelle, les composés α -dicarboxylés sont issus des sucres de faibles poids moléculaire comme le glucose ou le fructose, mais nous serions enclins à croire que la teneur de ces deux hexoses dans les cafés serait fortement influencée par les procédés de torréfaction (méthode humide vs méthode sèche). En effet, **Kopp et al., 2005** montrent clairement dans leurs travaux que les cerises de café non lavées de type « Arabica » préparées par voie sèche renfermaient des teneurs relativement élevées en fructose et en glucose. Alors que, les

Arabicas traités par la méthode humide, dits lavés en contenaient des quantités beaucoup moins importantes. Ces données expliqueraient en partie nos résultats, principalement ceux se rapportant au dosage des sucres réducteurs (quasiment dans les normes). Il est admis que lors d'une oxydation faible se sont les groupes terminaux réducteurs aldéhydiques, qui s'oxydent en carbonyles validant de ce fait notre théorie de départ. En revanche, les quantités de sucre (glucose) estimée après hydrolyse acide suggèreraient que le café contenait de l'amidon, et qu'au cours de cette étape, les liaisons osidiques de type 1-4 ou 1-6 se sont rompues libérant ainsi des molécules de glucose. Selon **J. Hollo., 1968** l'amidon réchauffé en milieu aqueux se dissout lentement, et plus rapidement dans un milieu faiblement alcalin. En analysant la distillation sèche de l'amidon, Puddington et Cerniani à notre grand bonheur font mention de la formation d'acides, d'aldéhydes et de produits solides volatils, sans toutefois les identifier. Les idées développées par ces auteurs sont largement partagées par les auteurs de ce manuscrit, et nous invite à nous pencher sérieusement sur le chaînon manquant de cette étude à savoir les procédés utilisés en amont dans l'industrie du café avant la mise en emballage du produit fini.

S'il existe véritablement une fraude, celle-ci ne concerne pas l'ajout de glucose et/ou de fructose directement dans les grains de cafés au cours des procédés de torréfaction ou lors des mélanges mais plutôt l'ajout de polysaccharides alimentaires de type « amidon » ; l'amidon étant beaucoup moins cher que le glucose ou le saccharose et beaucoup plus rentable en quantité.

**CONCLUSION
& PERSPECTIVES**

CONCLUSION & PERSPECTIVES :

Bien que les composés α -dicarboxylés aient été retrouvés dans le café, en tant que produit de dégradation et /ou de fragmentation des hexoses, leurs voies de formation ne sont pas tout à fait élucidées. Toutefois, nous avons réussi à rallier la quantité de dicarboxylés à la quantité de sucre utilisé mais aussi au type (Monosaccharides vs Polysaccharides). Parmi les quatre composés α -dicarboxylés identifiés en GC-MS, le Méthylglyoxal extrait du café était récupéré en plus grande quantité. Nous avons pu aussi démontrer qu'il existait une certaine cohérence entre les teneurs en sucres dans les cafés importés et locaux et la présence de MGO.

Nous apportons la preuve indéniable que les produits instantanés contiennent plus de sucre, même si celui-ci est identifié comme étant de l'amidon. Notre démarche a permis de consolider et de corroborer nos résultats car nous pensons aussi à juste titre que les traitements thermiques (sec vs humide) utilisés dans les pratiques industrielles sont tout autant responsables de la qualité gustative (arômes) et organoleptique des produits vendus dans le commerce.

A ce stade de l'étude, il serait intéressant d'explorer les procédés de torréfaction dans les industries du café en Algérie car cela nous permettrait de mieux comprendre nos résultats, et de les valider ou pas, cet aspect est souvent négligé dans nos études et pourtant ils requièrent une importance considérable pour la compréhension de certains phénomènes.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

ANSES. 2015. “Dangers Chimiques Liés à La Présence de Substances Néofonnées Dans Les Aliments Au Cours Des Procédés de Fabrication, de Transformation et de Préparation Des Aliments.” Agence National de Sécurité Sanitaire de l’alimentation, de l’environnement et de Travail. <https://www.anses.fr/fr/system/files/GBPH2014SA0036.pdf>.

Advances in Clinical Chemistry, Volume 67 # 2014 Elsevier Inc. ISSN 0065-2423 All rights reserved. <http://dx.doi.org/10.1016/bs.acc.2014.09.003>

Anuradha Vivekanandan-Giri, Jaeman Byun, and Subramaniam Pennathur,: Quantitative Analysis of amino acid oxidation markers by tandem mass spectrometry, *Methods Enzymol.* 2011 ; 491 : 73–89. doi :10.1016/B978-0-12-385928-0.00005-5.

“Alpha-dicarbonylés (1).”

A. H.-D. a. V. A. Yaylayan, Retro-Aldol and Redox Reactions of Amadori Compounds:

Studies with Variouslly Labeled D- [13 C] Glucose, *J. Agric. Food Chem*, 1996, 44,672-681

Angeloni, C., Zambonin, L., & Hrelia, S. (2014). Role of methylglyoxal in alzheimer’s disease. In *BioMed Research International* (Vol. 2014). Hindawi Publishing Mechanistic Corporation. <https://doi.org/10.1155/2014/238485>

Budryn, Grazyna, Ewa Nebesny, Anna Podśędek, Dorota Zyzelewicz, Małgorzata Materska, Stefan Jankowski, and Bogdan Janda. 2009. “Effect of Different Extraction Methods on the Recovery of Chlorogenic Acids, Caffeine and Maillard Reaction Products in Coffee Beans.” *European Food Research and Technology* 228 (6): 913–22. <https://doi.org/10.1007/s00217-008-1004-x>.

Cha, Jiyeon, Trishna Debnath, and Kwang Geun Lee. 2019a. “Analysis of α -Dicarbonyl Compounds and Volatiles Formed in Maillard Reaction Model Systems.” *Scientific Reports* 9 (1): 8–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41824-8>.

———. 2019b. “Analysis of α -Dicarbonyl Compounds and Volatiles Formed in Maillard Reaction Model Systems.” *Scientific Reports* 2019 9:1 9 (1): 1–6. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41824-8>.

- Dicarbonyl compounds and sugar contents of Thai commercial beverages.”
<https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=TH2019000115> (accessed Jun. 22, 2022).
- Ethania, Dimanche Joumada, and Traduction Française. 2001. “Journal Officiel.” *ITBM-RBM News* 22 (6): 21. [https://doi.org/10.1016/s1297-9570\(01\)90011-1](https://doi.org/10.1016/s1297-9570(01)90011-1).
- Fellows, P.J. 2017. “Food Processing Technology Principles and Practice (Fourth Edition).” *Food Processing Technology*, 813–44.
- Fujita, Yuki, Keiji Wakabayashi, Minako Nagao, and Takashi Sugimura. 1985. “Characteristics of Major Mutagenicity of Instant Coffee.” *Mutation Research Letters* 142 (4): 145–48. [https://doi.org/10.1016/0165-7992\(85\)90013-2](https://doi.org/10.1016/0165-7992(85)90013-2).
- Hayashi, Tateki, and Mitsuo Namiki. 1986. “Role of Sugar Fragmentation in an Early-Stage Browning of Amino-Carbonyl Reaction of Sugar with Amino Acid.” *Agricultural and Biological Chemistry* 50 (8): 1965–70. <https://doi.org/10.1271/BBB1961.50.1965>.
- Hollnagel, A., and L. W. Kroh. 1998. “Formation of α -Dicarbonyl Fragments from Mono- and Disaccharides under Caramelization and Maillard Reaction Conditions.” *European Food Research and Technology* 207 (1): 50–54.
- Hui, Y. H., and Frank Sherkat, eds. 2005. “Handbook of Food Science, Technology, and Engineering - 4 Volume Set,” December. <https://doi.org/10.1201/B15995>.
- J. HOLLÓ (BUDAPEST).1968. L'EFFET DE LA CHALEUR ET DU FROID SUR L'AMIDON. <https://www.agir-crt.com/blog/comportement-hydrothermique-amidon/>
- Koszucka, Agnieszka, and Adriana Nowak. 2019. “Thermal Processing Food-Related Toxicants: A Review.” *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 59 (22): 3579–96. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1500440>.
- Kroh, Lothar W. 1994. “Caramelisation in Food and Beverages.” *Food Chemistry* 51 (4): 373–79. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(94\)90188-0](https://doi.org/10.1016/0308-8146(94)90188-0).
- Lee, Kwang Geun, and Takayuki Shibamoto. 2002. “Toxicology and Antioxidant Activities of Non-Enzymatic Browning Reaction Products: Review.” *Food Reviews International* 18 (2–3): 151–75. <https://doi.org/10.1081/FRI-120014356>.

- Leong, Sze Ying, and Indrawati Oey. 2022. "Application of Novel Thermal Technology in Foods Processing." *Foods* 2022, Vol. 11, Page 125 11 (1): 125. <https://doi.org/10.3390/FOODS11010125>.
- M, Nagao, Fujita Y, Wakabayashi K, Nukaya H, Kosuge T, and Sugimura T. 1986. "Mutagens in Coffee and Other Beverages." *Environmental Health Perspectives* 67: 89–91. <https://doi.org/10.1289/EHP.866789>.
- Marceau, Eric, and Varoujan A. Yaylayan. 2009. "Profiling of α -Dicarbonyl Content of Commercial Honeys from Different Botanical Origins: Identification of 3,4-dideoxyglucoson-3-Ene (3,4-DGE) and Related Compounds." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57 (22): 10837–44. https://doi.org/10.1021/JF903341T/ASSET/IMAGES/MEDIUM/JF-2009-03341T_0005.GIF.
- Moniruzzaman, Mohammed, Siti Amrah Sulaiman, Md Ibrahim Khalil, and Siew Hua Gan. 2013. "Evaluation of Physicochemical and Antioxidant Properties of Sourwood and Other Malaysian Honeys: A Comparison with Manuka Honey." *Chemistry Central Journal* 7 (1): 138. <https://doi.org/10.1186/1752-153X-7-138>.
- Moree-Testa, P., and Y. Saint-Jalm. 1981. "Determination of α -Dicarbonyl Compounds in Cigarette Smoke." *Journal of Chromatography A* 217 (C): 197–208. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)88074-7](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)88074-7).
- Mottram, Donald S. 2007. "The Maillard Reaction: Source of Flavour in Thermally Processed Foods." *Flavours and Fragrances: Chemistry, Bioprocessing and Sustainability*, 269–83. https://doi.org/10.1007/978-3-540-49339-6_12.
- Mussatto, Solange I., Ercília M.S. Machado, Silvia Martins, and J. A. Teixeira. 2011. "Production, Composition, and Application of Coffee and Its Industrial Residues." *Food and Bioprocess Technology* 4 (5): 661–72. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0565-z>.
- Nemet, Ina, Lidija Varga-Defterdarović, and Zdenka Turk. 2006. "Methylglyoxal in Food and Living Organisms." *Molecular Nutrition and Food Research* 50 (12): 1105–17. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200600065>.
- Nieber, Karen. 2017. "The Impact of Coffee on Health Author Pharmacokinetics and Mode of Action Bioactive Components in Coffee."

- P. E. Shaw, Tatum, J. H., & Berry, R. E., Base-Catalyzed Fructose Degradation and Its Relation to Nonenzymic Browning, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1968, 16, 979-982
- Reis, Nádia, Adriana S. Franca, and Leandro S. Oliveira. 2016. “Concomitant Use of Fourier Transform Infrared Attenuated Total Reflectance Spectroscopy and Chemometrics for Quantification of Multiple Adulterants in Roasted and Ground Coffee.” *Journal of Spectroscopy* 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/4974173>.
- Rizzi, George P. 1999. “The Strecker Degradation and Its Contribution to Food Flavor.” *Flavor Chemistry*, 335–43. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-4693-1_28.
- S. Knopp, G. Bytof and D. Selmar, Influence of processing on the content of sugars in green Arabica coffee beans, *European Food Research and Technology*, 2005, **223**, 195-201.
- T. Usui, S. Yanagisawa, M. Ohguchi, M. Yoshino, R. Kawabata, J. Kishimoto, Y. Arai, K. Aida, H.
Watanabe and F. Hayase, Identification and determination of alpha-dicarbonyl compounds formed in the degradation of sugars, *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 2007, 71,
2465-2472.
- Wang, J., and T. Chang. 2010. “Methylglyoxal Content in Drinking Coffee as a Cytotoxic Factor.” *Journal of Food Science* 75 (6): 167–71. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01658.x>.
- Wang, Yu, and Chi Tang Ho. 2008a. “Formation of 2,5-Dimethyl-4-Hydroxy-3(2H)-Furanone through Methylglyoxal: A Maillard Reaction Intermediate.” *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56 (16): 7405–9. <https://doi.org/10.1021/JF8012025>.
- . 2008b. “Formation of 2,5-Dimethyl-4-Hydroxy-3(2H)-Furanone through Methylglyoxal: A Maillard Reaction Intermediate.” *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56 (16): 7405–9. <https://doi.org/10.1021/JF8012025>.
- Wołoszyn, J., M. Wereńska, Z. Goluch, G. Haraf, A. Okruszek, M. Teleszko, and B. Król. 2020. “The Selected Goose Meat Quality Traits in Relation to Various Types of Heat Treatment.” *Poultry Science* 99 (12): 7214–24. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.09.062>.

Zheng, Jie, Juanying Ou, and Shiyi Ou. 2019. *Chemical Hazards in Thermally-Processed Foods*. *Chemical Hazards in Thermally-Processed Foods*. <https://doi.org/10.1007/978-981-13-8118-8>.

ANNEXE 1

1.1 Préparation des Solutions et des gammes étalons :

Solution 1 : Préparation de la solution de dérivation *O*-Phénylènediamine (*O*-PD)

0.5 gramme d'*O*-PD 1L d'eau distillée.

Solution 2 : Préparation de la Solution d'acide 3,5 Dinitrosalicylique (DNSA)

1 grammes d'acide 3,5 Dinitrosalicylique dans 20ml d'une solution de d'hydroxyde de sodium 2 molaire, ajouter 30 g de tartrate de sodium, puis ajuster le volume jusqu'à 100 ml.

Solution 3 : Préparation de la solution de Phénol à 5%

5 grammes..... 100 ml d'eau distillée.

Solution 4 : Préparation d'une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) 1molaire (1M).

4 grammes..... 100 ml d'eau distillée.

1.2 Préparation des solutions étalons de la 2-méthylquinoxaline (2-MQ)

Préparation d'une série de concentration comprenant 6 points : 1000, 500, 250,100, 50 et 10 ppm à partir de la solution mère « M » précisez la concentration de la solution mère (2000 ppm) vérifiez car je ne suis pas sure. 18 microlitres de cette solution (M) sont récupérés dans un tube en verre propre et dilués dans 10 ml de chloroforme.

Tableau 13. différentes concentrations de la gamme étalon de la 2-MQ

Concentration (ppm)	2-MQ (µL)	Chloroforme (µL)
1000	500	500
500	250	750
250	125	875
100	50	950
50	25	975
10	5	995

1.3. Préparation de la gamme étalon du D-Glucose avec du bromure de potassium (KBr)

7 concentrations ont été préparées à partir d'un mix entre le D-Glucose (référence) et le Bromure de potassium. Les proportions de chaque ingrédient sont consignées dans le Tableau 13.

Tableau 14.différentes concentrations de la gamme étalon du D-Glucose et de KBr

Concentration (%)	D-Glucose (mg)	KBr (mg)
0,5	5	995
1	10	990
2	20	980
3	30	970
4	40	960
5	50	950
6	60	940

ANNEXE 2

2. Analyse Statistique

2.1. Analyse de la Variance (ANOVA)

2.1.1 Méthylglyoxal

Analyse de variance: un facteur

RAPPORT DÉTAILLÉ

Groupes	Nombre d'échantillons	Somme	Moyenne	Variance
Colonne 1	7	467,810948	66,8301355	160,724448
Colonne 2	4	335,221708	83,80542692	291,642639

ANALYSE DE VARIANCE

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Entre Groupes	733,499503	1	733,499503	3,58918429	0,090679802	5,117355008
A l'intérieur des groupes	1839,274607	9	204,3638452			
Total	2572,77411	10				

2.1.2 Sucres

2.1.2.1 Analyse des Sucres pour les 11 échantillons de café confondus

Analyse de variance: un facteur

RAPPORT DÉTAILLÉ

Groupes	Nombre d'échantillons	Somme	Moyenne	Variance
Colonne 1	11	23,2471519	2,113377449	0,7484343
Colonne 2	11	95,0496691	8,640879011	27,8840881
Colonne 3	11	71,8025172	6,527501562	20,708888

ANALYSE DE VARIANCE

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Entre Groupes	244,0501528	2	122,0250764	7,41922911	0,002410231	3,315829501
A l'intérieur des groupes	493,4141048	30	16,44713683			
Total	737,4642576	32				

Colonne 1 : Sucres Réducteurs

Colonne 2 : Sucres Totaux

Colonne 3. Saccharose

2.1.2.2 Analyse des Sucres par catégorie (Locaux vs Importés)

Sucres Réducteurs

Analyse de variance: un facteur

RAPPORT DÉTAILLÉ

Groupes	Nombre d'échantillons	Somme	Moyenne	Variance
Colonne 1	7	10,63175383	1,518821975	0,073650911
Colonne 2	4	12,61539811	3,153849527	0,079211836

ANALYSE DE VARIANCE

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Entre Groupes	6,80480206	1	6,804802061	90,12439405	5,50625E-06	5,117355008
A l'intérieur des groupes	0,67954097	9	0,075504553			
Total	7,48434304	10				

Colonne 1 : Sucres Réducteurs (cafés locaux)
Colonne 2 : Sucres Réducteurs (cafés importés)

Sucres Totaux

Analyse de variance: un facteur

RAPPORT DÉTAILLÉ

Groupes	Nombre d'échantillons	Somme	Moyenne	Variance
Colonne 1	7	40,58809595	5,798299422	5,381419816
Colonne 2	4	54,46157317	13,61539329	30,33579405

ANALYSE DE VARIANCE

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Entre Groupes	155,54498	1	155,5449804	11,35402565	0,008262576	5,117355008
A l'intérieur des groupes	123,295901	9	13,69954456			
Total	278,840881	10				

Colonne 1 : Sucres Totaux (cafés locaux)
Colonne 2 : Sucres Totaux (cafés importés)

Saccharose

Analyse de variance: un facteur

RAPPORT DÉTAILLÉ

Groupes	Nombre d'échantillons	Somme	Moyenne	Variance
Colonne 1	7	29,95634213	4,279477447	4,2262694
Colonne 2	4	41,84617506	10,46154376	28,1497416

ANALYSE DE VARIANCE

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Entre Groupes	97,2820392	1	97,28203918	7,973440844	0,019925359	5,117355008
A l'intérieur des groupes	109,806841	9	12,20076013			
Total	207,08888	10				

Colonne 1 : Saccharose (cafés locaux)
Colonne 2 : Saccharose (cafés importés)

3. Régression Linéaire

3.1 Comparaison entre les Sucres Totaux et le Méthylglyoxal

[RAPPORT DÉTAILLÉ](#)

<i>Statistiques de la régression</i>	
Coefficient de détermination multiple	0,72825024
Coefficient de détermination R ²	0,53034841
Coefficient de détermination R ²	0,4781649
Erreur-type	11,5869057
Observations	11

ANALYSE DE VARIANCE					
	Degré de liberté	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Valeur critique de F
Régression	1	1364,466652	1364,466652	10,16314166	0,011042539
Résidus	9	1208,307458	134,2563842		
Total	10	2572,77411			

3.2 Comparaison entre les Sucres Réducteurs et le Méthylglyoxal

[RAPPORT DÉTAILLÉ](#)

<i>Statistiques de la régression</i>	
Coefficient de détermination multiple	0,57077754
Coefficient de détermination R ²	0,325787
Coefficient de détermination R ²	0,25087445
Erreur-type	13,8828341
Observations	11

ANALYSE DE VARIANCE					
	Degré de liberté	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Valeur critique de F
Régression	1	838,1763616	838,1763616	4,348897178	0,066678781
Résidus	9	1734,597749	192,7330832		
Total	10	2572,77411			

3.3 Comparaison entre le Saccharose et le Méthylglyoxal

[RAPPORT DÉTAILLÉ](#)

<i>Statistiques de la régression</i>	
Coefficient de détermination multiple	0,736537337
Coefficient de détermination R ²	0,542487249
Coefficient de détermination R ²	0,491652498
Erreur-type	11,43618508
Observations	11

ANALYSE DE VARIANCE					
	Degré de liberté	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Valeur critique de F
Régression	1	1395,697148	1395,697148	10,67158286	0,009733314
Résidus	9	1177,076962	130,7863291		
Total	10	2572,77411			
