

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministre de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى جيجل

Faculté des Sciences de la Nature et
de la Vie
Département: Microbiologie Appliquée
et Sciences Alimentaires



كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم: الميكروبيولوجيا التطبيقية
وعلوم التغذية

Mémoire de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Agroalimentaire et Contrôle de Qualité

Thème

Caféine et boissons énergisantes

Membres de jury

Président : Dr. Dairi S.

Examinatrice: Dr. Laggoune S.

Encadreur: Dr. Laib E.

Présenté par :

M^{elle} : Taleb Nadia

M^{elle} : Chaalal Wissem

Année Universitaire : 2020-2021

Numéro d'ordre :

Remerciements

*Avant tout, nous tenons à remercier «Allah» le tous puissant, pour nous avoir donné
la force et la patience.*

*Nos profonds remerciements à notre encadreur "Dr. Laïb Essaid "
De nous avoir suivie régulièrement pour la réalisation de ce travail*

*Nous exprimons nos vifs remerciements aux membres de jury qui vont juger notre
travail*

*Nous adressons également nos remerciements et nos salutations à la famille qui
n'arrête pas notre soutien constant pour la réalisation de ce modeste travail*

*Un remerciement A toutes et à tous qui, de loin ou de près, ont contribué à la
réalisation de ce mémoire*

Dédicace

Louange et remerciements à **ALLAH** pour nous avoir accordé le succès et nous avoir inspiré à être patients face aux difficultés que nous avons rencontrées pour accomplir cet humble travail

Maintenant, je dédie ce modeste travail à :

A mon cher père, car il a toujours cru en moi, m'a encouragé et soutenu.

A ma chère maman, qui a toujours tout fait pour en arriver là où je suis aujourd'hui.

A mes frères : *Muhammad, Oussama, Ali* et *Youssef*.

A mes chères sœurs : *Naima, Mariam* et *Chaima*.

A toute ma famille : *Taleb*

A mon cher partenaire *Wissem* qui a partagé les bons et les moments difficiles avec moi

À tous mes amis

Nadia Taleb

Dédicace

Je dédie ce travail à mes parents, pour leur amour et leur support continu.

*A mes sœurs : **Naima, Soumia, Sara, Layla, Khawla et Farida**, qui m'ont toujours soutenu et encouragé même dans les périodes les plus difficiles.*

*A mon cousin : **Daoud** qui m'a beaucoup aidé.*

*A mes chers amis : **Djihane, Wafia, Widade** et particulièrement **Nadia**.*

A toutes les personnes qui m'ont aidé d'une façon ou d'une autre, de près ou de loin dans mon travail.

Wisseem Chaalal

Liste des abréviations	i
Liste des figures	iii
Liste des tableaux	iv
Introduction	1

Chapitre I: Caféine

I.1. Historique.....	2
I.2. Définition	2
I.3. Propriétés physico-chimiques	2
I.4. Principales sources de la caféine	3
I.4.1. Café.....	3
I.4.2. Thé	4
I.4.3. Cacao	5
I.4.4. Noix de cola	6
I.4.5. Guarana	7
I.4.6. Maté	7
I.5. Mode d'action de la caféine	8
I.5.1. Action sur les récepteurs de l'adénosine	8
I.5.2. Inhibition de phosphodiesterase	9
I.5.3. Mobilisation du calcium intracellulaire	9
I.6. Absorption, distribution, métabolisme et élimination de la caféine.....	10
I.7. La dose limite recommandée	12
I.8. Toxicité	12

Chapitre II : Boissons énergisantes

II.1. Définition.....	14
II.2. Composition.....	14
II.2.1. Caféine.....	15
II.2.2. Taurine.....	15
II.2.3. Vitamines B	16
II.2.4. D-glucuronolactone.....	17
II.2.5. Inositol.....	18
II.2.6. Guarana	19
II.2.7. Ginseng.....	19
II.3. Classification	20
II.3.1. Boissons énergisantes régulières.....	20
II.3.2. Boissons énergisantes concentrées.....	20
II.4. Marque des boissons énergisantes	20
II.5. Motifs de consommation	21
II.5.1. Recherche de performance	21
II.5.2. Recherche de sensation	21
II.5.3. Diminuer la sensation de fatigue et recherche de l'amusement	21
II.5.4. Augmentation de l'énergie	22
II.6. Les effets indésirables	22

Chapitre III : Techniques analytiques de la caféine

III.1. Techniques analytiques de la caféine.....	23
III.1.1. Méthodes chromatographiques.....	23
III.1.1.1. Chromatographie liquide à haute performance (HPLC)	23
III.1.1.2. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)	25
III.1.1.3. Chromatographie sur couche mince (CCM).....	26

Sommaire

III.1.2. Électrophorèse capillaire (EC)	26
III.1.3. Techniques spectrométriques	28
III.1.3.1. Spectrométries d'absorption dans l'ultraviolet	28
III.1.3.2. Spectrométrie de masse	28
III.2. Techniques utilisées pour l'analyse de la caféine.....	29
Conclusion	35
Références bibliographiques	37

- AAMU** : 5-Acétylamino-6-amino-3-méthyluracile
- AMPc**: Adénosine monophosphate cyclique
- AFMU** : 5-Acétylamino-6-formylamino-3-méthyluracile
- AFSSA**: Agence française de sécurité sanitaire des aliments
- AR** : Réactif analytique
- Ca**: Calcium
- CCM** : Chromatographie sur couche mince
- CEC**: Électro chromatographie capillaire
- CGE**: Électrophorèse capillaire de gel
- CPG**: Chromatographie en phase gazeuse
- CSHPF**: Conseil supérieur d'hygiène publique de France
- CYP1A2**: Cytochrome P1A2
- CYP2E1**: Cytochrome P2E1
- CZE**: Électrophorèse capillaire de zone
- DAD** : Autonome déclencheur
- DMU**: Acide diméthylurique
- EC**: Électrophorèse capillaire
- HPLC**: Chromatographie en phase liquide à haute performance
- HPCCM**: Chromatographie sur couche mince haute performance
- JC**: avant Jésus-Christ
- MEEKC** : Chromatographie électrocinétique en microémulsion:
- MEKC**: Chromatographie électrocinétique micellaire
- MU** : Acides monométhyluriques
- MX**: Monométhylxanthines
- NAT2** : N-acétyltransférase
- PDA** : Barrette de diodes

Liste des abréviations

PSI : livre force par pouce carré

SM : Spectromètre de masse

SNC: Système nerveux central

USP : Proposition de vente unique

UV: Ultraviolets

XO: Xanthine oxydase

Figure 1: La structure chimique du caféine.....	03
Figure 2: <i>Coffea arabica</i>	04
Figure 3: <i>Coffea canephora</i>	04
Figure 4: <i>Camellia sinensis</i>	05
Figure 5: <i>Theobroma cacao</i>	06
Figure 6: <i>Cola acuminata</i>	06
Figure 7: Guarana (<i>Paulliniacupana</i>)	07
Figure 8: <i>Ilex paraguariensis St Hilaire</i>	08
Figure 9: Schéma d'action de caféine sur les récepteurs de l'adénosine	9
Figure 10: Métabolisme humain de la caféine	11
Figure 11: Structure chimique de la taurine	16
Figure 12: Structure chimique de D-glucuronolactone.....	18
Figure 13: Structure chimique de l'inositol.....	18
Figure 14: <i>Panax Ginseng</i>	20
Figure 15: Schéma de principe d'une chromatographie liquide à haute performance	24
Figure 16: Schéma de principe d'une chromatographie gaz-liquide.....	25
Figure 17: Schéma de principe de l'électrophorèse.....	27
Figure 18: Schéma de principe de spectromètre de masse.....	29

Les Tableaux

Tableau 1 : Limites recommandées de l'apport quotidien maximal en caféine chez la population en bonne santé	12
Tableau 2 : Teneurs des boissons énergisantes en leurs principaux ingrédients.....	14
Tableau 3 : Teneurs moyennes de chaque vitamine B contenue dans les boissons énergisantes ainsi que leurs valeurs seuils de toxicité.....	16
Tableau 4 : Quelques marques les plus populaires et leurs ingrédients.....	21

Introduction

La caféine est un alcaloïde naturel que l'on trouve dans plus de soixante types de plantes, dont les plus importantes sont le café, le cacao, le thé, le maté, le guarana. En outre, la caféine peut être ajoutée à différents aliments, tels que les glaces, les sucreries, les boissons gazeuses et également les boissons énergisantes (Ehlers et al., 2019).

La caféine agit comme un stimulant du système nerveux (Preedy, 2015); cette propriété montre donc la capacité d'améliorer l'humeur, la cognition et d'augmenter la vigilance en bloquant l'activité de l'adénosine et sa liaison à ses récepteurs avec lesquels la caféine entre en compétition et ceci dans les limites de la dose quotidienne autorisée pour la consommation 400 mg par jour (Onalapo et Onalapo, 2019) et toute augmentation de celle-ci peut affecter négativement son consommateur par l'irritabilité nerveuse et l'insomnie (Ehlers et al., 2019).

Les boissons énergétiques représente un produit riche en caféine et autres ingrédients, dont les plus importants sont la taurine, vitamines du complexe B, glucuronolactone, inositol, le ginseng et le guarana (Ehlers et al., 2019). Elle est apparue pour la première fois en 1949 aux États-Unis, aujourd'hui plus de 500 marques différentes de boissons énergisantes ont été lancées dans le monde. Parmi les marques les plus populaires sont : Red Bull, Rockstar et Monster, etc... (Bedi et al., 2014; Rath, 2012).

Plusieurs méthodes d'analyse de la caféine sont maintenant disponibles, chacune présente des avantages et des inconvénients, parmi les meilleures techniques pour le dosage de la caféine dans les boissons énergisantes: la chromatographie liquide à haute performance, la chromatographie en phase gazeuse, l'électrophorèse capillaire, la chromatographie sur couche mince, la spectrométrie UV et la spectrométrie de masse (Armenta et al., 2005).

L'objectif général de notre travail est de déterminer lesquelles de ces techniques sont les meilleures pour analyser la caféine dans les boissons énergisantes.

Le premier chapitre de notre travail est consacré aux généralités sur la caféine, suivi du deuxième chapitre qui représente les boissons énergisantes.

Le dernier chapitre est divisé en deux parties, la première s'articulera sur l'aspect théorique lié aux techniques d'analyse. La seconde aborde un ensemble d'études antérieures liées à l'analyse de la caféine dans différentes techniques.

CHAPITRE I

Caféine

I.1. Historique

On pense que les êtres humains ont consommé de la caféine ou plantes contenant de la caféine depuis l'âge de pierre. Il y a des rapports qui remontent à l'histoire, les personnes se sont habituées à mâcher les graines, l'écorce ou les feuilles de certaines plantes parce que ces plantes avaient été associées à une élévation de l'humeur et à une réduction de la fatigue; et au fil du temps, ils se sont rendu compte que tremper ces plantes dans de l'eau chaude augmentait l'effet stimulant (**Onalapo et Onalapo, 2019**).

Bien que les plantes contenant de la caféine peuvent être utilisées pour leurs effets stimulantes et thérapeutique avant l'histoire enregistrée, la caféine elle-même n'a pas été isolée et nommée pour la première fois jusqu'à la floraison d'intérêt pour la chimie des plantes en Europe au début du 19^{ème} siècle. La découverte en 1819 a été faite par le jeune médecin Friedlieb Ferdinand Runge (**Bennett et Bonnie, 2002**), tandis qu'en 1827, Oudry a isolé la «théine» du thé; qui a été découvert plus tard comme étant similaire à la caféine et la structure de la caféine a été décrite par Hermann Emil Fischer en 1895 (**Preedy, 2015 ; Onalapo et Onalapo, 2019**).

I.2. Définition

La caféine ou 1,3,7-triméthylxanthine est un alcaloïde de la famille des méthylxanthines retrouvée dans les feuilles, les graines ou les fruits de plus de soixante plantes (**Preedy, 2015**), où elle agit comme un pesticide naturel. En revanche, chez l'homme, il agit comme un stimulant du système nerveux central (SNC), évitant temporairement la somnolence et rétablissant la vigilance (**Preedy, 2012**).

La caféine est la substance psycho-active la plus consommée à travers le monde. Toute la caféine provient de sources alimentaires, la majorité provenant du café, du thé et des boissons énergisantes (**Preedy, 2015 ; Raizel et al., 2019**).

I.3. Propriétés physico-chimiques

La caféine est une molécule organique composée des quatre éléments les plus courants: le carbone, l'hydrogène, l'azote et l'oxygène, sa formule moléculaire est $C_8H_{10}N_4O_2$, sa masse molaire est de 194.19 g/mol. La caféine contient un groupe méthyle lié au premier, troisième et septième groupe azote (**figure 1**), ce qui lui donne le nom chimique de 1,3,7-triméthylxanthine (**Preedy, 2012**).

Dans sa forme pure elle s'agit d'une poudre incolore à température ambiante; elle est inodore, mais a un goût légèrement amer. La caféine présente une forte absorption des rayons ultraviolets (UV) bénéfique entre 250 et 280 nm (**Spiller, 1998**), et elle est peu soluble dans la plupart des solvants

polaires, mais elle est très soluble dans les solvants moins polaires. Le point de fusion est de 234 °C - 239 °C (Preedy, 2012) et la température de sublimation à pression atmosphérique est d'environ 178 à 180 °C (Depaula et Farah, 2019).

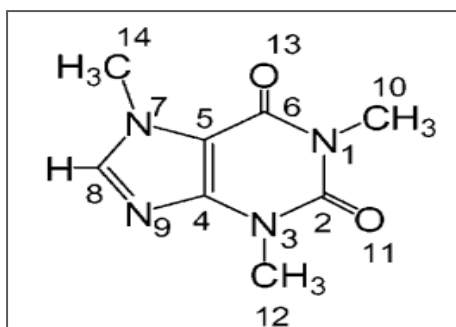


Figure 1 : Structure chimique de la caféine (Preedy, 2012).

I.4. Principales sources de la caféine

La caféine se trouve en quantités variables dans les graines, les feuilles et les fruits de certaines plantes ; et fait partie de l'alimentation humaine, en raison de sa présence dans les boissons à base d'extraits de plantes (Onaolapo et Onaolapo, 2019).

Parmi les principales sources alimentaires de caféine, certaines sont internationalement reconnues, comme le café, le thé et le cacao, mais d'autres sont consommées localement, par exemple le maté et le guarana en Amérique du Sud et noix de cola en Afrique de l'Ouest. La caféine est également un ingrédient commun des boissons énergisantes (Preedy, 2012).

I.4.1. Café

Le café est l'une des boissons les plus consommées dans le monde. La documentation la plus ancienne sur le café remonte au X^e siècle. Cependant, le café peut avoir été cultivé en Éthiopie, où il est indigène, dès 575 après JC (Ramalakshmi et Raghavan, 1999).

L'approvisionnement mondial en café provient principalement de deux principaux types de grains de café, Arabica (*Coffea arabica*) (figure 2) et Robusta (*Coffea canephora*) (figure 3), qui diffèrent par plusieurs caractéristiques ainsi que par leur teneur en caféine. Arabica est favorisé : pour son arôme, sa saveur et son corps plus fins, elle contient 1% de caféine. Par contre, le Robusta est neutre et contient deux fois plus de caféine (Spiller, 1998).



Figure 2 : *Coffea arabica* (Riquembourg, 2016).



Figure 3 : *Coffea canephora* (Riquembourg, 2016).

I.4.2. Thé

La boisson connue sous le nom de thé est une infusion de feuilles transformées de l'une des variétés d'un arbuste à feuilles persistantes appelée *Camellia sinensis* (figure 4) (Hamilton-Miller, 1995). Cette dernière est originaire de Chine, d'Asie du Sud et du Sud-est, mais il est aujourd'hui cultivé à travers le monde dans les régions tropicales et subtropicales (Namita et al., 2012).

Selon le processus de fermentation, le thé est classé en trois types : le thé vert non fermenté, le thé Oolong partiellement fermenté et le thé noir fermenté (Yu et al., 2014). Le thé représente la boisson la plus consommée dans le monde. Ces dernières années, sa consommation est beaucoup plus élevée en raison de ses effets préventifs contre certaines maladies humaines (Mahmoud et al., 2010) ainsi que leur propriétés de rafraîchissement, légèrement stimulant et procure une sensation de bien-être. On a supposé que ces deux dernières propriétés étaient dues à la caféine, par une teneur d'environ 3,5 % (Komes et al., 2009 ; Hamilton-Miller, 1995).



Figure 4 : *Camellia sinensis* (Riquembourg, 2016).

I.4.3. Cacao

Les aliments dérivés des fèves de cacao sont consommés par les être humains depuis au moins 460 à 480 après JC (Spiller, 1998), le cacaoyer est un petit arbre à feuilles persistantes s'appelle *Theobroma cacao* (figure 5), originaire des régions tropicales profondes d'Amérique centrale et du Sud (Onaolapoet Onaolapo, 2019), on distingue trois grandes variétés de cacao : les criollo, les forastero et les trinitario (Júnior et al., 2020).

Les graines (fèves de cacao) sont utilisées dansla production de poudre de cacao, de chocolat, ou de boisson au cacao (Onaolapo et Onaolapo, 2019), quicontiennent une variété de composants biologiquement actifs. Ceux-ci incluent les alcaloïdes puriques, la théobromine, la théophylline et la caféine (Spiller, 1998) par une teneur comprise entre 0,3 à 1% (Rusconi et Conti, 2010).



Figure 5 : *Theobroma cacao* (Riquembourg, 2016).

I.4.4. Noix de cola

Le cola (**Figure 6**) est un genre d'environ 125 espèces d'arbres indigènes de la région africaine des forêts tropicales humides, il existe deux espèces principales : le *Cola acuminata* et le *Cola nitida* (Lawin et al., 2018 ; Adelusi et al., 2020). La graine du fruit représente la partie utilisée telle que chaque fruit contient cinq à six graines nommées noix de kola (Ghedira et Goetz, 2009).

Les noix ont une teneur en caféine 2 à 3 %, elle est plus élevée que celle du café, c'est pour ça la noix de kola est utilisée comme supplément afin d'augmenter l'énergie ou comme aromatisant dans un certain nombre de boissons (Adelusi et al., 2020).



Figure 6 : *Cola acuminata* (Lawin et al., 2018).

I.4.5. Guarana

Le guarana (*Paullinia cupana*) est une plante indigène brésilienne (**figure 7**), les graines représentent la seule partie adaptée à la consommation humaine (**Majhenič et al., 2007**).

Cette plante est depuis longtemps utilisée comme fortifiant par diverses populations amérindiennes (**Benlekehal et al., 2001**), ce qui est sûrement lié à la stimulation fournie par la caféine, qui se trouve dans les graines où ces valeurs sont très élevées atteindre 6 % (**Schimplet et al., 2013**), le guarana peut être considéré comme principale source industrielle de caféine (**Benlekehal et al., 2001**).



Figure 7 : Guarana (*Paullinia cupana*) (**Riquembourg, 2016**).

I.4.6. Maté

Le maté est une boisson très populaire dans certains pays d'Amérique du Sud. Il est fabriqué à partir des feuilles et des tiges d'*Ilex paraguariensis* St. Hil. (**Figure 8**), connu sous le nom de Yerba mate (**Silva et al., 2019**), est une plante originaire de la région subtropicale de l'Amérique du Sud, présente au sud du Brésil, au nord de l'Argentine, au Paraguay et en Uruguay. Il a été consommé par les Indiens d'Amérique du Sud lorsque le nouveau monde a été découvert par les Européens (**Bastos et al., 2007**). La quantité de caféine dans le maté compris entre 0,89 et 1,73% (**Komes et al., 2009**).



Figure 8 : *Ilex paraguariensis* St Hilaire (Heck et De Mejia, 2007).

I.5. Mode d'action de la caféine

Les principaux mécanismes moléculaires responsables des effets centraux de la caféine sont le blocage des récepteurs de l'adénosine, l'inhibition des phosphodiésterases et la translocation du calcium intracellulaire (Preedy, 2012).

I.5.1. Action sur les récepteurs de l'adénosine

La caféine agit comme un bloqueur des récepteurs de l'adénosine dans le cerveau en raison de sa structure chimique similaire à celle de l'adénosine, permettant à la caféine de se fixer aux récepteurs A_1 et A_{2A} de l'adénosine (Heckman et al., 2010 ; Preedy, 2012), cette dernière est une substance chimique naturellement sécrétée par l'organisme. Elle agit comme un messenger dans la régulation de l'activité cérébrale, c'est elle qui module l'état d'éveil et de sommeil. Elle joue le rôle d'un signal de fatigue (Huyghe, 2014). En bloquant ces récepteurs, la caféine conduit à une augmentation de la libération des principaux neurotransmetteurs excitateurs : noradrénaline et adrénaline (Figure 9), entraînant une action stimulante directe sur tout l'organisme et en particulier sur le système nerveux central et la sphère cardiovasculaire. Elle module la libération des catécholamines comme la dopamine et la sérotonine, hormones du plaisir et de la récompense (Riquembourg, 2016).

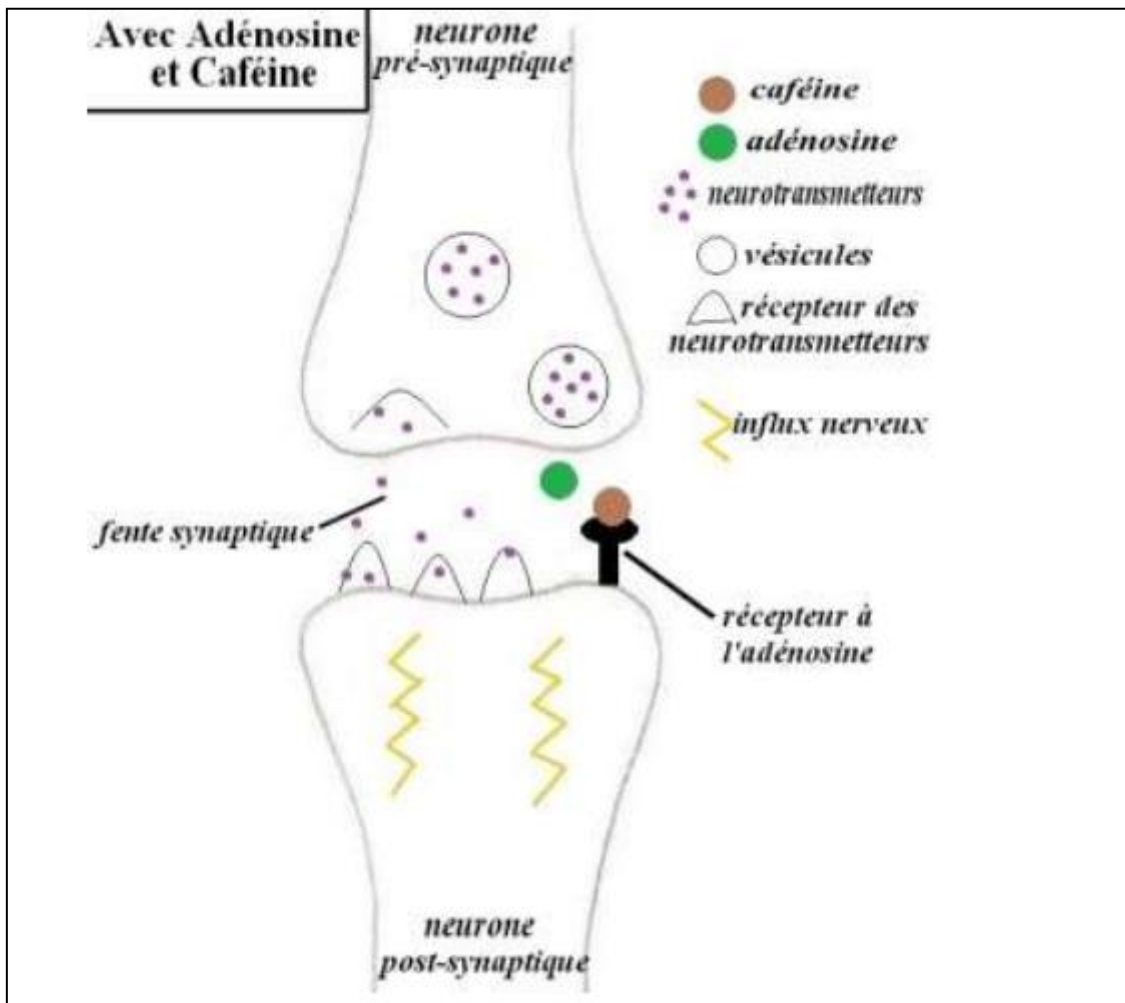


Figure 9 : Schéma d'action de caféine sur les récepteurs de l'adénosine (Huyghe, 2014)

I.5.2. Inhibition de phosphodiesterase

À des doses supratherapeutiques, (Dubé et al., 2010), la caféine inhibe la phosphodiesterase, ce qui dégrade l'adénosine monophosphate cyclique intracellulaire. L'augmentation de l'AMP_c provoquerait la libération d'adrénaline via la stimulation des récepteurs de β -adrénergique (Babu et al., 2008).

L'AMP_c contribue à des effets similaires à ceux d'une stimulation adrénérique, comme la relaxation des muscles lisses, une vasodilatation périphérique, une stimulation myocardique et une stimulation du système nerveux central (Dubé et al., 2010).

I.5.3. Mobilisation du calcium intracellulaire

L'un des mécanismes dans lesquels la caféine agit est le mouvement du calcium dans les cellules. Certains effets de la caféine sur les muscles squelettiques semblent impliquer le calcium ionique (Ca^{++}). Il a été constaté que la caféine à des concentrations élevées, elle interfère avec l'absorption et le stockage du calcium dans le réticulum sarcoplasmique des muscles striés et augmente le transport du calcium à travers la membrane plasmique (**Institute of Medicine et Committee on Military Nutrition Research, 2001**) provoque l'excitabilité et prolonge la durée des contractions musculaires (**Spiller, 1998**).

I.6. Absorption, distribution, métabolisme et élimination de la caféine

Après l'ingestion, la caféine est rapidement absorbée par le tractus gastro-intestinal dans la circulation sanguine (**Nawrot et al., 2003**). Une absorption d'environ 20% se produit dans l'estomac et les 80% restants dans l'intestin grêle (**Depaula et Farah, 2019**). Les concentrations maximales de la caféine dans le sang sont atteintes dans les 1 à 1,5 h suivant l'ingestion (**Nawrot et al., 2003**).

Après l'absorption, la caféine est rapidement distribuée dans la plupart des tissus et dans les liquides organiques (la bile, le lait, la salive, le sperme, la sueur et l'urine). La liaison limitée aux protéines plasmatiques (estimée entre 17 et 30%) combinée aux propriétés relativement hydrophobes de la caféine permet son passage à travers toutes les membranes biologiques et lui permet de franchir facilement les barrières intracellulaires, y compris les barrières placentaire (mère-fœtus-mère) et hémato-encéphalique (**Depaula et Farah, 2019**). Le temps de concentration plasmatique maximale est variable (15 à 120 minutes) et les demi-vies de caféine varient de 2,5 à 4,5 h (**Smith, 2005**).

La caféine est rapidement et largement métabolisée dans les cellules hépatiques (**Smith, 2005**). Par le CYP1A2, CYP2E1, via déméthylation en di et mono méthylxanthines et plus bas par la xanthine oxydase en acides dietmonométhyl urique (**Aranda et Beharry, 2020**) (**figure 10**).

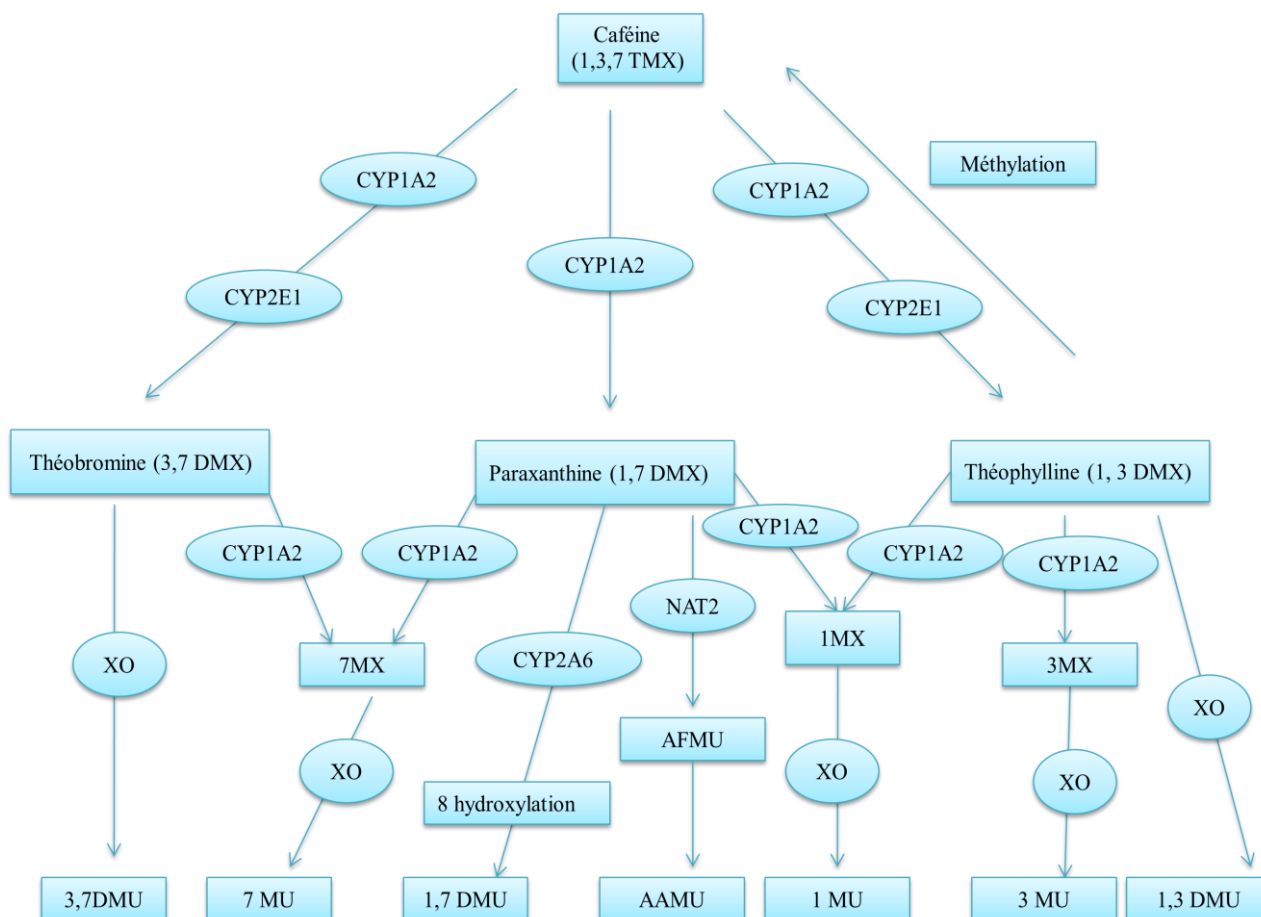


Figure 10: Métabolisme humain de la caféine (Aranda et Beharry, 2020).

La caféine (1, 3,7 triméthylxanthine) subit une déméthylation principalement par CYP1A2 pour former des diméthylxanthines (1,7 Paraxanthine = 84%; 1,3 Théophylline = 12%; 3,7 Théobromine = 4%) (Heckman *et al.*, 2010 ; Preedy, 2012).

Ces diméthylxanthines sont ensuite déméthylés par CYP1A2 et CYP2E1 en monométhylxanthines (1 MX, 3 MX, 7 MX) (Aranda et Beharry, 2020).

L'oxydation est effectuée par la xanthine oxydase (XO) pour produire de l'acide diméthylurique (1,7 DMU; 3,7 DMU) et des acides monométhyluriques (1 MU, 3 MU, 7 MU) La Paraxanthine est également métabolisée par la N-acétyltransférase (NAT2) en AFMU (5-acétylamino-6-formylamino-3-méthyluracile) et se dégrade spontanément ou via NAT 2 en AAMU (5-acétylamino-6-amino-3-méthyluracile). La Paraxanthine subit également une octahydroxylation via CYP2A6 à 1,7 acide diméthylurique (DMU) (Aranda et Beharry, 2020).

La caféine et ses métabolites sont principalement éliminés par les reins (Preedy, 2015), où 90 à 95% de la quantité de caféine consommée est excrétée sous forme de métabolites (Depaula et

Farah, 2019) et seulement environ 0,5 à 2% de la caféine ingérée est excrétée inchangée dans l'urine (**Onaolapo et Onaolapo, 2019**).

I.7. La dose limite recommandée

Afin d'éviter l'apparition d'effets indésirables lorsque l'on consomme de la caféine, des valeurs seuils ont été instaurées pour différents groupes de population par certaines agences de santé publique (**Riquembourg, 2016**).

La Santé Canada a publié ses recommandations sur l'apport quotidien maximal de caféine. L'apport quotidien maximal tient compte de toutes les sources de consommation confondue (**Dubé et al., 2010**). Le tableau 1 donne une idée des doses limites recommandées :

Tableau 1 : Limites recommandées de l'apport quotidien maximal en caféine chez la population en bonne santé (**Dubé et al., 2010**).

Population	Apport quotidien maximal de caféine recommandé
Adultes (en bonne santé)	400 mg (environ 6 mg/kg)
Femmes qui prévoient devenir enceintes, femmes enceintes et mères qui allaitent	300 mg
Adolescents âgés de 13 ans et plus	2,5 mg/kg (selon le poids corporel) (max : 400 mg)
Enfants de 12 ans et moins	2,5 mg/kg (selon le poids corporel)
Enfants 10 - 12 ans	85 mg (selon le poids corporel moyen)
Enfants 7 - 9 ans	62,5 mg (selon le poids corporel moyen)
Enfants 4 - 6 ans.	45 mg (selon le poids corporel moyen)

I.8. Toxicité

Le dépassement de la dose maximale recommandée (400 mg/j) peut conduire à des risques importants pour la santé. Cette dose correspond à 6 tasses de café et 2 à 3 litres de thé consommés

par jour. La dose létale est estimée à 10 grammes par jour, ce qui correspond à la prise de 100 à 130 tasses de café sur une journée (**Petit et al., 2015**).

Ces risques se manifestent par une gamme de réactions indésirables, tels que l'anxiété, la nervosité, l'irritabilité, l'insomnie, les maux de tête et diurèse (**Depaula et Farah, 2019**).

Quant au niveau cardiovasculaire, elle peut provoquer une tachycardie, une arythmie, irrégularité du pouls et augmentation de la fréquence et une athérosclérose (**Depaula et Farah, 2019 ; Geethavani et al., 2014**). La caféine augmente considérablement la contraction cardiaque donc le volume systolique et le débit cardiaque (**Astrup et al., 1990**). La caféine augmente également le niveau d'angiotensine II (un puissant vasoconstricteur), ce qui entraîne une augmentation de la pression artérielle (**Geethavani et al., 2014**).

Les effets gastro-intestinaux de la caféine apparaissent, tels qu'une indigestion acide, des brûlures d'estomac, des douleurs abdominales, des symptômes de gaz ou de constipation, des vomissements et une contraction de la vésicule biliaire (**Spiller, 1998**).

La caféine, affecte la contractilité des muscles squelettiques. Les tremblements sont un effet secondaire fréquent de la consommation de caféine (**Spiller, 1998**).

CHAPITRE II
Boissons énergisantes

II.1. Définition

Les boissons énergisantes ont été introduites dans le monde en 1949 sous le nom de «Dr. Enuf» aux États-Unis; Par la suite, ceux-ci sont devenus disponibles en Europe et en Asie dans les années 1960 (**Bedi et al., 2014**), Par la suite, le marché des boissons énergisantes a connu une croissance exponentielle, avec près de 500 nouvelles marques lancées dans le monde en 2006 (**Rai et al., 2016**).

Le terme boissons énergisantes a été choisi par l'industrie pour soutenir ses initiatives de marketing et promouvoir les propriétés stimulantes de ces boissons. Il n'y a pas de définition pour cela par les autorités réglementaires (**Dubé et al., 2010**), mais il peut être résumé comme des produits liquides ou concentrés contenant un mélange d'ingrédients ayant la propriété de rehausser le niveau d'énergie et de vivacité (**Margaritis et al., 2013**), contiennent de la caféine comme principal ingrédient actif et diverses substances aux propriétés dites stimulantes (**MelinguI, 2020**).

Les boissons énergisantes sont fabriquées avec différentes marques, saveurs et formes. Vous êtes situé dans la plupart des points de vente, avec d'autres boissons sucrées (boissons gazeuses, boissons aux fruits, etc.) et d'autres magasins. Ces boissons sont souvent vendues en canettes, mais aussi en bouteilles et petites presses sous forme de liquide concentré (**MelinguI, 2020**).

II.2. Composition

Les boissons énergisantes contiennent des concentrations élevées de divers composés bioactifs, notamment de la caféine, de la taurine et des extraits de ginseng. Les boissons énergisantes peuvent également contenir de l'inositol, des extraits de guarana, des vitamines du groupe B et du glucuronolactone (**tableau 2**) (**Olas et Bryś, 2019**).

Tableau 2: Teneurs des boissons énergisantes en leurs principaux ingrédients (**MelinguI, 2020**).

Ingrédients	Teneurs par dose
Caféine	50-350 mg
Taurine	25-4000 mg
Glucuronolactone	600-1135 mg
Vitamines du complexe B	Selon la vitamine
Inositol	10-150 mg
Guarana	35-350 mg

Tableau 2 (Suite): Teneurs des boissons énergisantes en leurs principaux ingrédients (MelinguI, 2020).

Ingrédients	Teneurs par dose
Ginseng	25-600 mg
Sucre	0-72 g

II.2.1. Caféine

La caféine est un alcaloïde végétal naturellement présent dans plus de 60 plantes, elle peut également être produite par synthèse chimique (Anses, 2013 ; Pohanka et Dobes, 2013). Elle est bien connue pour être inclus dans le café, le thé, les boissons énergisantes et les produits dérivés à base de café ou de chocolat (Colin-Benoit et al., 2017 ; Pohanka et Dobes, 2013).

La caféine est le stimulant le plus utilisé dans les boissons énergisantes telle que, la teneur en caféine qui varie entre 75 mg et 150 mg par canette contre 80-120 mg et 60 mg dans une tasse (250 ml) de café et de thé, respectivement (Bedi et al., 2014 ; Pound et al., 2017).

Une consommation modérée de caféine peut améliorer la vigilance mentale, la concentration et réduire la fatigue, mais une consommation excessive (plus de 400 mg) de caféine peut provoquer de l'anxiété, des maux de tête, des nausées, de l'agitation et une augmentation du risque d'hypertension et de maladies cardiovasculaires (Chen et al., 2019).

II.2.2. Taurine

La taurine (acide 2-aminoéthyl sulfonique) (figure 11), est un acide amino-sulfonique (Triebel et al., 2007), il est synthétisé naturellement par le corps humain à partir de la cystéine (Oprea et al., 2019) et il est également retrouvé dans les aliments comme les viandes, les poissons, les produits laitiers (Heckman et al., 2010 ; Triebel et al., 2007) et aussi industriellement dans les boissons énergisantes (Loriers, 2011). Cet acide aminé est considéré comme conditionnellement essentiel, car en cas de stress sévère, comme un exercice physique intense, ses réserves se sont épuisées (Raizel et al., 2019).

Il a été estimé que l'apport humain quotidien moyen de taurine se situe entre 40 et 400 mg (Heckman et al., 2010). La taurine interfère avec de nombreuses fonctions physiologiques, car elle agit comme antioxydant, anti-inflammatoire et neurotransmetteur (Mora-Rodriguez et Pallares, 2014), elle joue également un rôle important dans la formation de sels biliaires, la stabilisation des

membranes cellulaires, la régulation de l'osmose et influençant le mouvement des ions calcium (Anses, 2013).

En ce qui concerne la toxicité, la CSHPF a conclu en 1999 que les études toxicologiques n'avaient révélé aucune indication de génotoxicité, ou de cancérogénicité de la taurine (Aguilar et al., 2009).

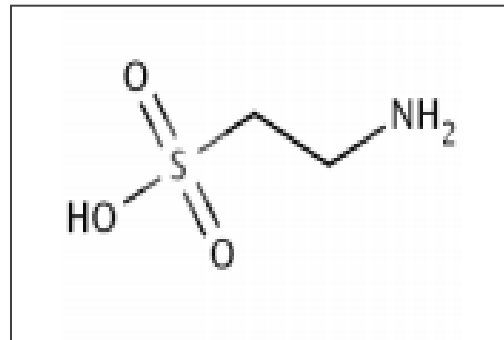


Figure 11 : Structure chimique de la taurine (Aguilar et al., 2009).

II.2.3. Vitamines B

Elles représentent un groupe de 8 vitamines individuelles solubles dans l'eau, généralement appelées complexes B quand elles sont regroupées (Heckman et al., 2010) (tableau 3).

Les vitamines B sont considérées comme essentielles à la santé humaine, car elles exercent des activités biologiques importantes, notamment en tant que coenzymes pour le bon fonctionnement des cellules, en particulier la fonction mitochondriale et la production d'énergie. En raison des grandes quantités de sucre contenues dans les boissons énergisantes, ces vitamines sont nécessaires pour convertir le sucre ajouté en énergie, de sorte que les fabricants de boissons énergisantes peuvent affirmer que leur produit fournit un supplément d'énergie (Raizel et al., 2019).

Tableau 3: Teneurs moyennes de chaque vitamine B contenue dans les boissons énergisantes ainsi que leurs valeurs seuils de toxicité (Riquembourg, 2016).

Vitamine	Nom	Teneur moyenne dans une cannette de 250 ml	Valeurs seuils de toxicité	Remarques
Vitamine B1	Thiamine	0.43 mg	Pas de limite fixée	Peu de risques d'effets secondaires si ingestion massive
Vitamine B2	Riboflavine	1.33 mg	Pas de limite fixée	Aucune toxicité démontrée à ce jour

Tableau 3 (Suite) : Teneurs moyennes de chaque vitamine B contenue dans les boissons énergisantes ainsi que leurs valeurs seuils de toxicité (Riquembourg, 2016).

Vitamine	Nom	Teneur moyenne dans une cannette de 250 ml	Valeurs seuils de toxicité	Remarques
Vitamine B3	Niacine	18.15 mg	Apport maximal tolérable : 35 mg/jour (adulte)	Bouffées de chaleur à partir de 50 mg/jour
Vitamine B5	Acide pantothénique	4.63 mg	Pas de limite fixée	Très peu de risques de toxicité
Vitamine B6	Pyridoxine	3.13 mg	Apport maximal tolérable : 100 mg/jour (adulte)	Signes de neuropathie à partir de 500 mg/jour
Vitamine B12	cobalamine	5.9 µg	Pas de limite fixée	Aucune toxicité établie

II.2.4. D-glucuronolactone

La glucuronolactone (**figure 12**) se produit naturellement dans le corps humain lorsque le glucose est décomposé par le foie. On pense que la D-glucuronolactone aide la désintoxication, aux hormones et autres produits chimiques et à la biosynthèse de la vitamine C. Ces molécules se trouvent principalement dans les tissus conjonctifs (Yunusa et Ahmad, 2011). On le trouve également dans certaines plantes et dans le mucilage utilisé comme épaississant et / ou stabilisant dans l'industrie alimentaire où il est mis dans les boissons énergisantes, car il est censé aider à épuiser le glycogène en empêchant d'autres substances d'épuiser l'apport de glycogène musculaire (Dubé et al., 2010 ; Yunusa et Ahmad, 2011). L'apport alimentaire moyen est de 1 à 2 mg par jour (Riquembourg, 2016).

En ce qui concerne la toxicité, aucun changement pathologique n'a été détecté dans les études expérimentales en raison de l'administration de glucuronolactone pour différents modèles animaux (Kutia *et al.*, 2019).

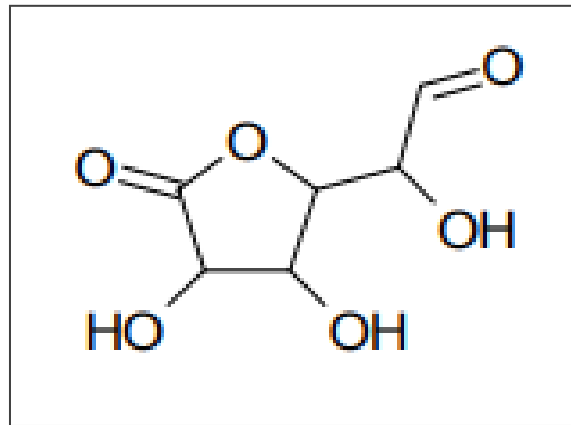


Figure 12 : Structure chimique de D-glucuronolactone (Aguilar *et al.*, 2009).

II.2.5. Inositol

Les inositols sont des molécules polyols cycliques ($C_6H_{12}O_6$) (**figure 13**) d'un poids moléculaire de 180,16 ; ils sont présents dans tous les êtres vivants, soit sous sa forme libre, soit en tant que composant lié aux phospholipides ou aux dérivés de phosphate d'inositol, et participent à de nombreuses voies métaboliques (Croze et Soulage, 2013 ; Facchinetti *et al.*, 2020). Ces composés existent sous neuf formes stéréo-isomères, parmi lesquelles le myo-inositol (MI) est le plus important, le plus largement distribué dans la nature et c'est la forme la plus utilisée en biologie (Michell, 2008). L'apport alimentaire moyen est de 1 g par jour (Riquembourg, 2016).

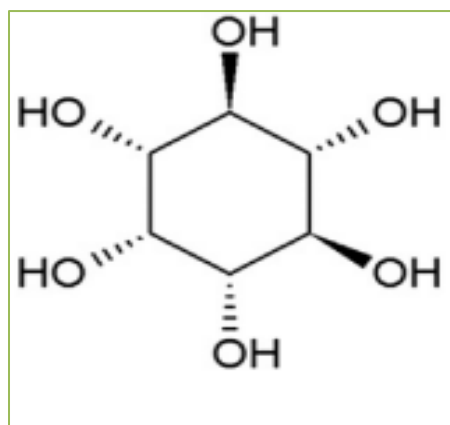


Figure 13 : Structure chimique de l'inositol (Croze et Soulage, 2013).

II.2.6. Guarana

Le guarana est un arbuste de la famille des Sapindacées, dont les graines sont riches en caféine (Petit et al., 2015). Le guarana en quantité de 3 à 5 g fournit 250 mg de caféine, ce qui augmente l'attrait marketing pour les fabricants (Rath, 2012).

Le guarana est devenu un additif naturel de plus en plus populaire dans les boissons énergisantes, ces dernières années, en grande partie en raison de son effet stimulant. Il a été mentionné que la caféine contenue dans le guarana est libérée à un rythme plus lent que la caféine pure, ce qui entraîne un effet stimulant plus précis et plus long. On pense que cette version basse est due au fait que le guarana est insoluble dans l'eau et contient des tanins et des saponines, il est également utilisé comme extrait (Heckman et al., 2010 ; Riquembourg, 2016).

Ses effets positifs résident dans l'augmentation de l'énergie, l'amélioration des performances physiques et la perte de poids (Bedi et al., 2014). Les effets négatifs incluent l'agitation, la nervosité, la tachycardie, les tremblements, l'anxiété, les douleurs thoraciques et les arythmies (Clauson et al., 2008).

II.2.7. Ginseng

Le ginseng (*Panax Ginseng*) (figure 14) est l'un des suppléments à base de plantes les plus célèbres au monde (Bedi et al., 2014 ; Higgins et al., 2010), les personnes l'utilisent depuis plus de 2000 ans dans les pays d'Asie de l'Est (Yunusa et Ahmad, 2011).

La racine est la partie la plus importante du traitement et de la prévention de nombreuses maladies. On pense que ce produit augmente l'énergie, soulage le stress, augmente la mémoire, les capacités cognitives et l'humeur ainsi que l'amélioration des performances physiques (Bedi et al., 2014 ; Higgins et al., 2010). Quant à l'effet inverse, il peut se résumer en insomnie, douleurs mammaires, saignements vaginaux, ménopause, tachycardie, palpitations, hypertension artérielle, œdème, maux de tête, étourdissements (Clauson et al., 2008). Cependant, les quantités de ginseng contenues dans les boissons énergisantes sont bien inférieures aux quantités attendues pour apporter un bénéfice thérapeutique ou provoquer des événements indésirables (Raizel et al., 2019).

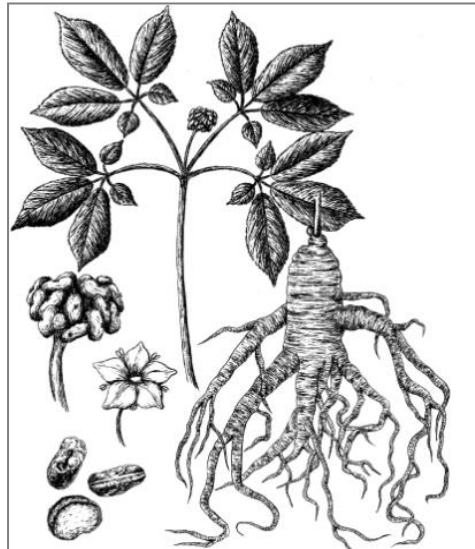


Figure 14 : Panax Ginseng (Riquembourg, 2016).

II.3. Classification

II.3.1. Boissons énergisantes régulières

Les boissons énergisantes régulières sont des formes classiques des boissons énergisantes, conditionnées dans des canettes de 250-500 ml, ou bien dans des bouteilles de 1L (Picard-Masson et al., 2014 ; Titz, 2013).

II.3.2. Boissons énergisantes concentrées







Les Boissons énergisantes concentrées appelées « shots », « Energy shots » ou « shots énergisants » (Loriers, 2011), représentent une forme spécialisée de boissons énergisantes qui contiennent la même quantité de caféine dans une petite quantité de liquide, généralement de petites bouteilles ou canettes de 60 à 90 ml (Bedi et al., 2014).

II.4. Marque des boissons énergisantes

Près de 500 marques différentes de boissons énergisantes ont été lancées dans le monde en 2006. Parmi les marques les plus populaires sont Red Bull, Rockstar, Full Throttle, Amp, So Be No Fear, Monster, Burn et Dark Dog (Tableau 4) (Rath, 2012).

Red Bull et Monster sont les boissons les plus populaires sur le marché, avec une part de marché de 40% et une valeur de vente de 360695000 dollars américains pour le Red Bull, tandis que la boisson Monster a une part de marché de 16% et une valeur de vente de 145501200 dollars américains (Dubé et al., 2010).

Tableau 4 : Quelques marques les plus populaires et leurs ingrédients (Titz, 2013).

Red Bull	Rockstar	Monster	AMP	Burn	Dark Dog
					
Caféine : 80 mg Taurine : 1000 mg DGL : 600 mg B3, B5, B2, B6 B12	Caféine: 80mg Taurine: 1000 mg Guarana: 22 mg Ginseng:22mg	Caféine : 80 mg Taurine : 1000 mg Ginseng: 200 mg B3, B2, B6 B12	Caféine: 143 mg Taurine: 292 mg Guarana: 124 mg Ginseng:29g	Caféine:75 mg Guarana: 22,5 mg DGL: 600 mg B3, B5, B6, B12	Caféine : 80 mg Guarana : 0,02%

II.5. Motifs de consommation

Les consommateurs utilisent ces boissons énergisantes pour plusieurs raisons, la principale étant :

II.5.1. Recherche de performance

La recherche de performance est la principale raison de consommer des boissons énergisantes, car 6 g de taurine par jour améliorent la force physique et l'endurance et la caféine est également censée jouer un rôle dans cette amélioration (Petit et al., 2015).

II.5.2. Recherche de sensation

Les consommateurs de boissons énergisantes sont plus susceptibles de rechercher la sensualité et la nouveauté que les non-consommateurs (Petit et al., 2015).

II.5.3. Diminuer la sensation de fatigue et recherche de l'amusement

Les jeunes consommateurs recherchent l'excitation et l'amusement ; les étudiants consomment également des boissons énergisantes pendant leurs examens pour réduire la fatigue et la durée du sommeil (Concerto et al., 2017).

II.5.4. Augmentation de l'énergie

L'augmentation de l'énergie est une raison importante pour les jeunes de consommer des boissons énergisantes, car l'enquête a indiqué que près des deux tiers des consommateurs de boissons énergisantes buvaient ces boissons pour plus d'énergie (**Picard-Masson et al., 2014**).

II.6. Les effets indésirables

De nombreux effets néfastes sur la santé, y compris la mort, ont été liés à la consommation de boissons énergisantes, avec plus de 5000 cas d'exposition à la toxicité des boissons énergisantes récemment signalés aux centres antipoison américains (**Markon et al., 2019**).

La caféine est le principal ingrédient actif des boissons énergisantes pour lesquelles une consommation modérée est considérée comme sûre (**Raizel et al., 2019**). Mais les études confirment que la plupart des effets négatifs directs des boissons énergisantes. Elle est liée à une consommation excessive de caféine sans le reste des ingrédients et c'est ce que l'AFSSA a rapporté en 2009 confirmant qu'il n'y a pas de risque pour la taurine et la glucuronolactone par la consommation régulière de boissons énergisantes (**Breda et al., 2014 ; Dubé et al., 2010**).

Les boissons énergisantes présentent un risque de carie dentaire et d'usure des dents lorsqu'elles sont consommées fréquemment (**Dubé et al., 2010**). Des recherches récentes ont également indiqué que la teneur en sucre ajouté dans les boissons peut jouer un rôle important dans la prise de poids (**Clauson et al., 2008**).

CHAPITRE III

Techniques analytiques de la caféine

III.1. Techniques analytiques de la caféine

Les méthodes de détection et de mesure de la caféine ont généralement équilibré le développement de la technologie analytique. Comme l'analyse de la caféine au début de ce siècle dépendait de sa purification et de l'approche classique de l'identification chimique, et par la suite les méthodes de détection ont été diversifiées après l'introduction de la spectroscopie ultraviolette, de la chromatographie sur papier, de la chromatographie en phase gazeuse et de la chromatographie liquide, respectivement de 1940 à 1970 (**Christensen et Neims, 1984**).

Ces développements se sont non seulement concentrés sur l'ajout de sensibilité, de facilité et de spécificité, mais ont également augmenté la fiabilité de la mesure des métabolites ainsi que de la caféine elle-même (**Christensen et Neims, 1984**).

III.1.1. Méthodes chromatographiques

La chromatographie tire son nom du fait qu'elle était à l'origine utilisée pour séparer des mélanges de substances colorées et de pigments à partir de feuilles vertes. Une fois que les chimistes ont réalisé que la chromatographie pouvait également être utilisée pour séparer des substances incolores, leur développement a commencé (**Mohrig et al., 2014**). La chromatographie fait référence à l'ensemble des techniques utilisées pour séparer des mélanges complexes en fonction des différentes interactions physiques entre les composés individuels et la phase stationnaire du système. Les composants de base de toute technique chromatographique sont la phase mobile (gaz ou liquide), qui transporte le mélange complexe (l'échantillon) ; phase stationnaire (solide ou liquide), à travers la phase mobile ; la colonne contenant la phase stationnaire et ces composants séparés (élution) (**Larson, 2017**). A la fin de la chromatographie, un chromatogramme, un profil chromatographique ou un profil d'élution du mélange est obtenu (**Ambroise, 1995**).

III.1.1.1. Chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

La chromatographie liquide à haute performance ou chromatographie liquide à haute pression (HPLC) (**Mohrig et al., 2014**) est l'une des techniques les plus utilisées pour la séparation analytique des composés organiques non volatils ainsi que des composés inorganiques. Il s'agit d'une technologie très polyvalente, rapide et précise. En outre, il existe un grand nombre de détecteurs qui peuvent être utilisés pour l'analyse (**Spiller, 1998**).

Principe

Dans ce cas, un fluide appelé phase mobile circule dans un tube appelé colonne. Cette colonne peut contenir des « granulés » poreux (colonne garnie) ou peut être recouverte intérieurement d'un film mince (colonne capillaire). La colonne contient la phase stationnaire qui est polaire en phase normale et la phase mobile dans ce cas est apolaire, ou en phase inverse, qui est l'inverse de la phase normale (**Bourguet et Augé, 2008 ; Konate, 2013**). Dans un premier temps, le mélange à séparer est injecté à l'entrée de la colonne où il se répartit entre la phase stationnaire et la phase mobile. Si la phase stationnaire est bien choisie, les composants du mélange, qui sont généralement appelés solutés, sont maintenus de manière inégale lors du passage dans la colonne (**Konate, 2013**).

De ce phénomène appelé rétention, il résulte que les constituants du mélange injecté se déplacent tous moins vite que la phase mobile et que leurs vitesses de déplacement sont différentes. Ils sont ainsi élués de la colonne les uns après les autres et donc séparés. Un détecteur placé à la sortie de la colonne couplé à un enregistreur permet d'obtenir un tracé appelé chromatogramme. En effet, il dirige sur un enregistreur un signal constant appelé ligne de base en présence du fluide porteur seul au passage de chaque soluté séparé, il conduit dans le temps à l'enregistrement d'un pic. Dans des conditions chromatographiques données, le "temps de rétention" (temps au bout duquel un composé est élué de la colonne et détecté) caractérise qualitativement une substance. L'amplitude de ces pics ou encore l'aire limitée par ces pics et la prolongation de la ligne de base permet de mesurer la quantité de chaque soluté dans le mélange injecté (**Figure 15**) (**Konate, 2013**).

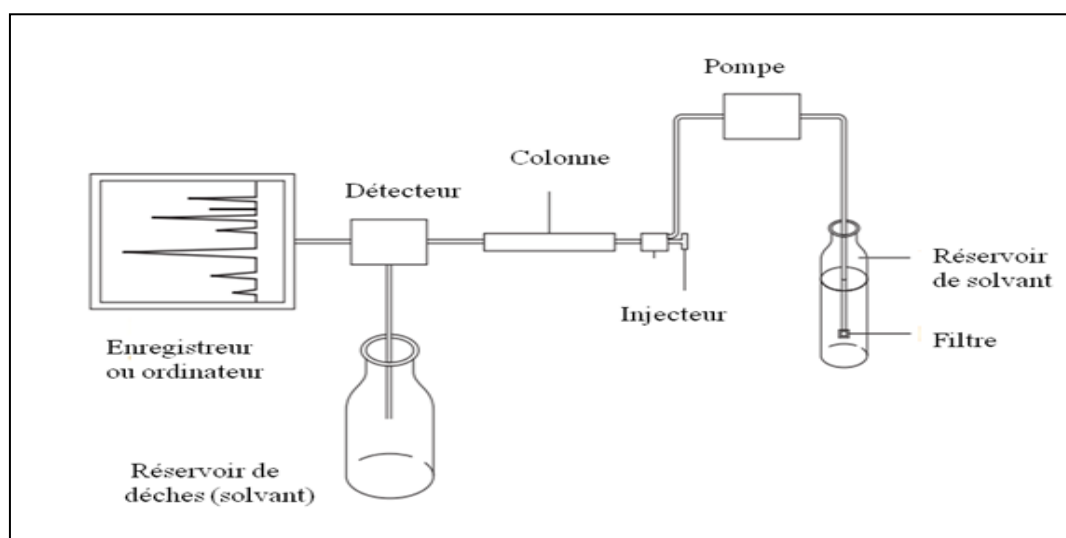


Figure 15 : Schéma de principe d'une chromatographie liquide à haute performance (**Mohrig et al., 2014**)

III.1.1.2. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

Le terme chromatographie en phase gazeuse (CPG) résume les méthodes chromatographiques lorsque la phase mobile est un gaz inerte (azote ou hélium) qui ne joue aucun rôle dans la rétention (Cserháti et Forgács, 1999 ; Gramond et Lefebvre, 2008) et la phase stationnaire est solide (chromatographie d'adsorption) ou film liquide mince déposé sur un support solide inerte ou fixé sur la paroi interne de la colonne (chromatographie de partage) (Gramond et Lefebvre, 2008).

Cette méthode permet de séparer des composés organiques et organométalliques volatils et semi-volatils ; il est possible de convertir des composés non volatils en dérivés volatils par exemple, les acides gras peuvent être convertis en esters (Spiller, 1998).

Est un outil d'analyse extrêmement populaire en raison de sa rapidité, de sa polyvalence, de sa précision et de sa fiabilité. Elle a la capacité de séparer des mélanges complexes grâce à l'utilisation d'un grand nombre de détecteurs (Spiller, 1998).

Principe

Une petite seringue est utilisée pour injecter l'échantillon à travers un septum ou un joint en caoutchouc étanche dans le flux de gaz vecteur dans l'orifice d'injection chauffé. L'échantillon se vaporise immédiatement et le gaz vecteur l'entraîne dans la colonne, un tube en métal, en verre ou en silice fondue qui contient la phase stationnaire. La colonne est enfermée dans un four dont la température peut être réglée entre un peu plus de la température ambiante et plus de 200°C. Une fois que les composants de l'échantillon sont séparés par la colonne, ils passent dans un détecteur, où ils produisent des signaux électroniques qui peuvent être amplifiés et enregistrés (Figure 16) (Mohrig et al., 2014).

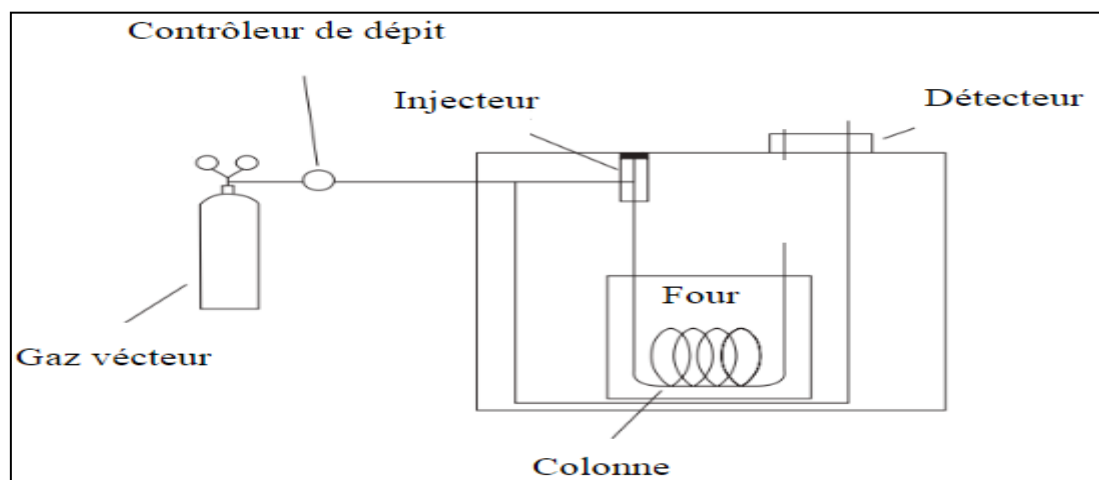


Figure 16 : Schéma de principe d'une chromatographie gaz-liquide (Harvey, 2000).

III.1.1.3. Chromatographie sur couche mince (CCM)

Est une forme de chromatographie en phase liquide où la phase stationnaire est une couche mince de matériau chromatographique sur un support plat en verre, en métal ou en plastique. C'est le type de chromatographie le plus simple et le plus économique, car il ne nécessite pas beaucoup d'instruments et il est possible de séparer plusieurs échantillons en un seul passage, efficace et ne nécessite que des milligrammes de substances (**Lundanes et al., 2013 ; Mohrig et al., 2014**).

La chromatographie sur couche mince s'est également avérée appropriée pour la détermination semi-quantitative de diverses molécules organiques et inorganiques dans des mélanges complexes (**Cserháti et Forgács, 1999**). L'essor de la Chromatographie sur couche mince haute performance (HPCCM) au cours des dernières années a permis d'améliorer la résolution et la vitesse. La quantification est réalisée par des moyens instrumentaux. Cependant, le coût de la détermination instrumentale peut approcher celui de la CPG ou de la HPLC (**Spiller, 1998**).

Principe

La chromatographie sur couche mince repose sur des phénomènes d'adsorption, les molécules présentes avec une phase mobile (un solvant, ou un mélange de solvants) et une phase stationnaire (généralement un gel de silice) sur une plaque habituellement en verre ou en aluminium. Les composés migrent sur la plaque à différentes hauteurs dépendamment de leurs propriétés particulières (polarité). Ils demeurent ensuite adsorbés à la surface de la silice. Après la séparation des composés chimiques, une technique de détection doit être employée afin de pouvoir les identifier (**Institut universitaire sur les dépendances, 2019**).

III.1.2. Électrophorèse capillaire (EC)

L'électrophorèse capillaire est une méthode de séparation de molécules chargées fondée sur leurs différences de mobilité sous l'effet d'un champ électrique (**Baudin, 2008**), ainsi que c'est une technique relativement récente. Elle a été proposée en 1976 et publiée pour la première fois en 1979. Les instruments commerciaux sont devenus disponibles en 1988 et la technique à un large domaine d'application (**Lundanes et al., 2013**).

L'électrophorèse capillaire s'avère être une technique séparative très intéressante, car elle permet des efficacités très importantes, une rapidité de mise en œuvre, de faibles volumes d'échantillon et elle regroupe de nombreuses techniques: l'électrophorèse capillaire en présence de gel (CGE), l'électrophorèse capillaire de zone (CZE), l'électrochromatographie capillaire (CEC), la

chromatographie électrocinétique micellaire (MEKC) et la chromatographie électrocinétique en microémulsion (MEEKC) (Cotton *et al.*, 2006).

Principe

Le capillaire est rempli avec un électrolyte. L'échantillon contenant les molécules à séparer est injecté à l'une des deux extrémités. Ces dernières sont ensuite immergées dans deux récipients contenant ce même électrolyte et recevant les électrodes. Des particules chargées placées dans le champ électrique créé par une tension continue et se déplacent vers le pôle de signe opposé à leur charge à une vitesse proportionnelle à cette charge. Si on dépose une espèce anionique (chargée négativement), elle migrera vers l'anode (+) et une espèce cationique (chargée positivement) du côté de la cathode (-). Des voltages très importants (plusieurs dizaines de kV) sont utilisés pour séparer les molécules sur la base de leur différence de rapport charge / taille. Le tracé obtenu en électrophorèse capillaire est appelé électrophorégramme (Bourguet *et Augé*, 2008 ; Labat *et al.*, 2000).

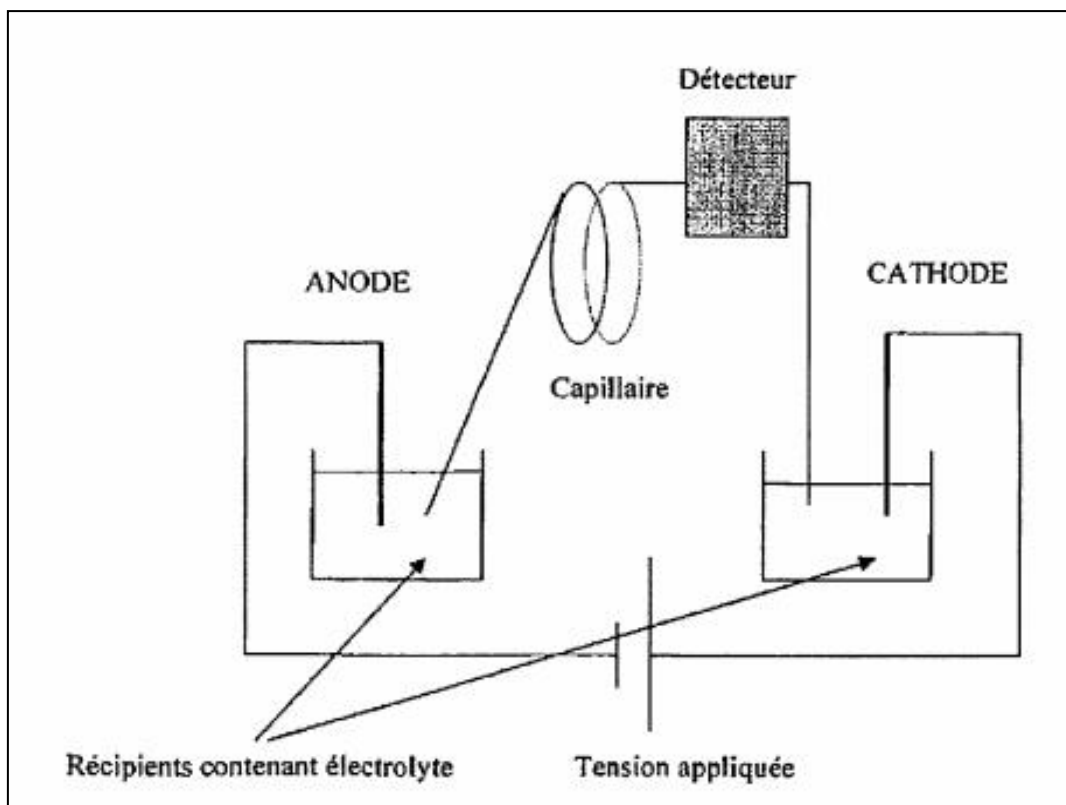


Figure 17 : Schéma de principe de l'électrophorèse capillaire (Labat *et al.*, 2000).

III.1.3. Techniques spectrométriques

Le principe général des techniques optiques consistent en l'exploitation quantitative, dans des conditions expérimentales très strictes, des phénomènes d'interaction entre la matière (atomes, molécules, ions) et les rayonnements (**Bourguet et Augé, 2008**).

III.1.3.1. Spectrométries d'absorption dans l'ultraviolet

La spectrométrie d'absorption dans l'ultraviolet est une ancienne technique encore largement utilisée dans les laboratoires et l'industrie. Il a profité des avancées technologiques récentes miniaturisations, fibres optiques et des ressources de calcul offertes par un outil informatique (**Di Benedetto, 2007**).

La spectroscopie ultraviolette (UV) est la principale méthode de détermination de la caféine. L'échantillon doit être totalement dissous et exempt de particules avant l'analyse finale (**Spiller, 1998**).

Lors de la détermination des caféines par spectroscopie UV dans les aliments, il est nécessaire de séparer le grand nombre de substances qui peuvent potentiellement interférer. Les techniques chromatographiques sont les plus utilisées pour la séparation finale des caféines, afin qu'elles puissent être déterminées par UV, sans interférence (**Spiller, 1998**).

Principe

La région UV s'étend entre 10 et 400 nm, mais les appareils ne permettent des enregistrements au-dessus de 190 nm (**Bourguet et Augé, 2008**).

Le principe de l'absorption UV est la loi de Beer, où l'absorbance (a) = absorbance molaire (ϵ) \times longueur du trajet (b) \times concentration (c) et cette absorption entraîne des transitions électroniques affectant les électrons des liaisons de réticulation et de non-liaison. Un atome ou une partie de molécule susceptible d'être excité par l'absorption de rayons ultraviolets est appelé chromophore. La fréquence d'absorption dépend du type de chromophore et du type de transition électronique (**Bourguet et Augé, 2008 ; Dong, 2019**).

III.1.3.2. Spectrométrie de masse

Est une technique d'analyse qui permet la détermination des masses moléculaires des composés analysés ainsi que leur identification et leur quantification. Elle est fondée sur la séparation et la détection d'ions formés dans une source d'ionisation. Ces ions proviennent de la molécule à analyser (**Menet, 2011**).

La spectrométrie de masse surpasse les autres techniques analytiques en combinant des propriétés, telles que la propriété analytique multiple, la sensibilité, la sélectivité, la capacité à caractériser les composés par masse moléculaire ou formule et la possibilité de combiner avec la chromatographie (Mohrig et al., 2014).

Principe

Le spectromètre de masse est constitué de trois entités disposées en série : la source d'ions, l'analyseur et le détecteur (Figure 18). Les échantillons sont introduits dans la source d'ions à l'état solide, liquide ou gazeuse où ils sont convertis en gaz par l'une des nombreuses techniques d'ionisation (Mohrig et al., 2014). Le choix de la source dépend des propriétés physiques et chimiques des molécules à étudier et des informations requises (Marinach-Patrice et al., 2011). Les ions en phase gazeuse sont ensuite séparés sur la base du rapport masse/charge (m/z) dans l'analyseur de masse (Faull et al., 2008). Où la molécule est détruite pour donner des ions. C'est pourquoi on parle de technologie de rupture. L'échantillon n'est pas prélevé à la fin de l'analyse. Enfin, des ions sont détectés (Bourguet et Augé, 2008 ; Faull et al., 2008).

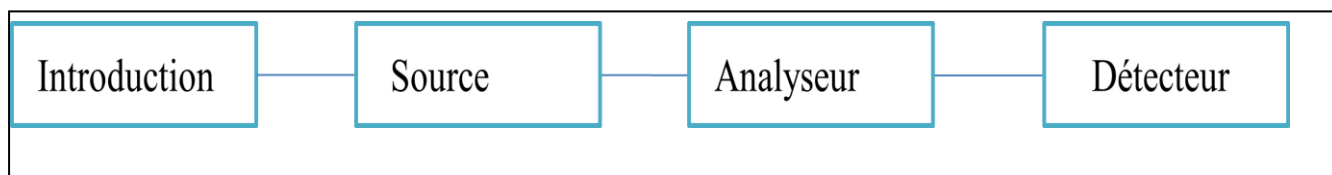


Figure 18 : Schéma de principe d'un spectromètre de masse (Bourguet et Augé, 2008).

III.2. Techniques utilisées pour l'analyse de la caféine

Au Laboratoire Central des aliments, et au Département de contrôle de Qualité, DFTQC, Paparamahal, Katmandou, Népal, une étude a été réalisée par Rai et al. (2016) sur la détermination de la teneur en caféine et en taurine dans les boissons énergisantes par HPLC modèle 1514 (Simadzu Corporation) on utilisant un détecteur UV à 275 nm

L'expérience a été réalisée sur dix types de boissons énergisantes après dégazage par sonication et dilution par l'eau distillée. La préparation a été effectuée par un tampon carbonate 10 mM pH 9 et un tampon phosphate 10 mM, pH 6 représentant la phase mobile HPLC.

Ensuite, 1 ml d'échantillon, 2 ml de solution de carbonate, 0,1 ml de 2,4-dinitrofluorobenzène (DNFB) grade AR ont été mélangés et agités pendant 30 secondes. Le mélange a été placé dans un bain-marie à 40 °C pendant 15 min. Au bout de 15 min, 6,5 ml de tampon phosphate ont été ajoutés au mélange.

La phase stationnaire est une colonne Zorbax Eclipse de C 18 à 40°C et la phase mobile (eau / méthanol (60 /40). 10 µl de la solution préparée de l'échantillon a été injectée avec un débit constant de 1 ml/min.

Selon les résultats de cette étude, les auteurs ont constaté que la teneur en caféine de la majorité des échantillons de boissons énergisantes ne correspond pas aux valeurs mentionnées sur l'étiquette. Ils ont obtenu une teneur moyenne en caféine de 27,37 mg/100 ml, et ils ont suggéré qu'un adulte en bonne santé ne peut pas consommer plus de deux canettes par jour. Ceci est dû au fait que des doses de caféine supérieures à 250 mg/jour peuvent provoquer des effets indésirables tels que l'agitation et l'anxiété.

En 2014, **Gliszczynska-Świgło et Rybicka** ont essayé de déterminer simultanément la caféine et les vitamines hydrosolubles dans les boissons énergisantes à l'aide d'un appareil HPLC de type Waters 600 équipé d'une colonne Nova-Pak C18. La phase mobile est constituée de deux solvants, le méthanol et le NaH₂PO₄ 0,05M. À l'acide hexanesulfonique 0,005 M, pH 3,0 à un débit de 1 ml min.

Les échantillons de boissons énergisantes ont été pesés et dissouts dans 150 ml d'eau déionisées puis dégazés pendant 10 minutes, ensuite transférés dans des fioles jaugées de 200 ml et remplis d'eau jusqu'au trait. Ces échantillons ont été centrifugés pendant 5 minutes à 14000 g. 20 µl d'échantillon préparé ont été injectés. Le détecteur PDA 996 de Waters a détecté la caféine, sur la longueur d'onde appropriée à la caféine 270 nm.

A partir de cette étude, nous avons constaté que le dispositif HPLC-PDA est un outil efficace pour l'analyse quantitative de la caféine dans les boissons énergétiques. Il est également relativement rapide puisqu'il permet d'analyser 13 composés en 30 minutes, y compris la rééquilibration de la colonne avant l'injection suivante.

En 2014, **Riswanto et ses collaborateurs** de la Faculté de pharmacie de l'Université Sanata Dharma en Indonésie, ont réalisé une validation d'une méthode analytique pour déterminer la pyridoxine, la nicotinamide et la caféine dans les boissons énergisantes par chromatographie en couche mince-densitomètre (Silice Gel 60 cm CCM F254). Dix bouteilles de chacune des deux marques de boissons énergisantes ont été utilisées et homogénéisées dans un bécher.

La chromatographie a été réalisée dans une cuve à fond plat de 20 × 20 cm CAMAG jusqu'à une distance de migration de 75 mm en utilisant du méthanol-acétate d'éthyle-ammoniac 25 % 13:77:10 (v/v/v) comme phase mobile. La cuve a été saturée avec la phase mobile (sans papier filtre)

pendant 30 minutes. Après le développement, la plaque a été séchée dans un courant d'air chaud pendant 2 minutes. La plaque a été scannée avec le CAMAC CCM Scanner 3CAT. No. 027.6485SER. No.160602 avec une fente de 6.00 x 0.10 mm et une vitesse de balayage de 20 mm/s. En mode d'absorption, la caféine a été mesurée à 274 nm. La méthode est ensuite validée. Pour la sélectivité, la linéarité, la gamme, la limite de détection, la limite de quantification, la précision, l'exactitude et la robustesse, conformément aux directives USP pour la validation des méthodes analytiques.

Les auteurs ont conclu que la CCM-densitomètre est une bonne méthode pour la séparation de la caféine, et les données de validation ont montré que la caféine peut être quantifiée dans un échantillon de boisson énergisant.

La chromatographie planaire est l'une des méthodes utilisées pour analyser et séparer la caféine dans les boissons énergisantes.

Aranda et Morlock (2006), ont réalisé une étude pour la détermination simultanée de la riboflavine, de la pyridoxine, de la nicotinamide, de la caféine et de la taurine dans les boissons énergisantes par chromatographie planaire avec détection multiple et confirmation par spectrométrie de masse à ionisation électro spray à l'institut de chimie alimentaire de l'Université de Hohenheim, Garbenstrasse 28, D-70599 Stuttgart, Allemagne.

Ils ont préparé des tampons de 2 mg de riboflavine, 25 mg de nicotinamide, 15 mg de pyridoxine, 20 mg de caféine et de taurine dans une fiole jaugée de 100ml remplie d'eau ultra pure jusqu'à 100 ml.

La solution de dérivatisation (pour l'immersion) 0,3g de ninhydrine a également été dissoute dans 100 ml de 2-propanol et d'acide acétique 95 : 5 (v/v). Ensuite, ils ont préparé dix sortes de boissons énergisantes et dégazées pendant 20 minutes dans un bain à ultrasons. Ensuite, ils ont effectué une chromatographie sur des plaques de 20 cm x 10 cm, 200 µm d'épaisseur de gel de silice HPTLC 60 F254 de Merck à dos de verre. L'échantillon et la solution standard ont été appliqués à l'aide d'un passeur d'échantillons CCM 4. La chromatographie a été réalisée dans une chambre à double puits. La plaque a ensuite été séchée pendant 3 minutes dans un courant d'air chaud. Les spectres UV et Vis ont été enregistrés in situ avec un CCM Scanner 3 (CAMAG) à 275 nm. Ensuite la masse a été confirmée par spectrométrie de masse en mode de balayage par ionisation électrospray.

Selon cette étude, la HPTLC est une nouvelle méthode à haut débit. Grâce à sa grande flexibilité, elle permet de détecter rapidement et à moindre coût la teneur en caféine des boissons énergisantes.

La spectrométrie de masse à ionisation par électro nébulisation constituent également une bonne alternative aux analyses de routine en raison de sa simplicité et de sa fiabilité à la fois.

En **2017**, le chercheur **Shar et ses collaborateurs** de l'Institut de chimie de l'université de Sindh, Jamshoro, en Pakistan, ont déterminé la teneur en caféine de plusieurs types de boissons, dont six types de boissons énergisantes: Sting, Red bull, speed, Mad croc cola, Mad croc orange, Boostos. En utilisant un spectrophotomètre UV-Visible à double faisceau à une longueur d'onde de 271 nm après le processus de séparation par HPLC.

500 µg de caféine a été préparé comme solution mère et ensuite des solutions tampons filles via 0,01, 0,1, 0,5, 1, 10 µg/ml par dilution appropriée de la solution mère.

Quant aux échantillons, les boissons énergisantes ont été homogénéisées, filtrées et diluées. Après les avoir séparées par HPLC, la teneur en caféine est déterminée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible.

D'après cette étude, la méthode UV-Visible est simple, précise, sensible et exacte, mais le nombre d'échantillons de boissons analysés est faible.

Les boissons énergisantes contiennent des niveaux appréciables de caféine, et doivent donc être évitées par les enfants dès leur plus jeune âge pour éviter la dépendance à la caféine.

En **2020**, **Al-Bratty et ses collaborateurs** du département de chimie pharmaceutique, Collège de pharmacie, Université de Jazan, et centre de recherche sur la toxicomanie et la toxicologie, en Arabie Saoudite, ont déterminé la teneur en caféine de neuf types de boissons énergétiques disponibles en Arabie Saoudite par CPG couplée au spectrométrie de masse ; la séparation analytique est effectuée sur une colonne CPG capillaire de type HP-5MS.

L'hélium est utilisé comme gaz porteur à un débit constant de 1,2 ml/minute. Concernant la température, elle a été de 280°C à l'injecteur, 270°C dans la ligne de transfert de masse et 300°C pour la source d'ions. Quant au four de la colonne, elle est de 250°C.

Pour ce procédé, ils ont préparé plusieurs solutions : une solution mère standard pour la caféine et une solution de carbamazépine/méthanol comme solution mère pour l'étalon interne, puis une solution de contrôle de qualité pour les niveaux de concentration faible, moyen et élevé.

Une portion de la boisson énergisante a été prélevée directement dans le contenu du produit et diluée 30 à 50 fois dans du méthanol pour chaque produit.

Pour chaque produit, des solutions échantillons ont été préparées à partir de trois récipients différents. Une quantité de 2 ml de chaque étalon de calibration et de chaque solution d'échantillon a été transférée dans un flacon CPG et 2 µl ont été injectés dans le système CPG -MS pour une analyse en trois exemplaires. Le méthanol a été utilisé comme blanc. L'analyse par spectrométrie de masse post-séparation a été réalisée en mode effet d'électrons, et un balayage complet a été effectué sur la plage 100-550 m/z pour surveiller la caféine. La caféine a été déterminée par comparaison directe du temps de rétention et de la spectrométrie de masse des solutions d'échantillons de caféine avec ceux de la solution étalon.

Les résultats ont montré que la méthode CPG-MS, après sa validation, est linéaire, précise, exact et spécifique. Cette méthode est également considérée comme simple, car les échantillons sont injectés directement après les dilutions à analyser.

Les résultats ont également montré que la quantité de caféine réellement présente dans cinq des neuf boissons était supérieure à la quantité indiquée sur les étiquettes, tandis que trois des neuf boissons étaient inférieures aux étiquettes.

Les quantités de caféine détectées dans les boissons testées se situaient dans la limite de sécurité fixée par l'Administration américaine des denrées alimentaires et des médicaments pour la consommation quotidienne de caféine, ce qui indique que la consommation d'une portion de la boisson énergisante n'est pas susceptible d'avoir des effets néfastes sur la santé.

Liotta et ses collaborateurs (2012) du département de la santé publique et de la médecine communautaire, Unité médico-légale, Université de Vérone, en Italie ont utilisé une technique d'analyse rapide (MEEKC) afin de connaître sa capacité de dosage de la caféine dans six types de boissons énergisantes: Imola, Semtex, Burn, Red Bull, Shock et Mixxed Up.

Après la préparation du tampon constitué de 8,85 mM de tétra sodium pH 9,5, SDS 3,3% (p/v), n-hexane 1,5% (v/v) et 1-Butanol 6,6% (v/v). La diprophylline a été utilisée comme standard interne. Ils ont également préparé les échantillons en éliminant les particules par centrifugation, puis en les diluants et en les conservant pendant dix minutes avant l'injection pour éviter le dégazage.

L'injection hydrodynamique a été réalisée en appliquant 0,5 PSI pendant 3 secondes à la base de capillaires en silice fondue non revêtus, d'une longueur effective de 40 cm. Les séparations ont été réalisées en appliquant une tension constante de 20 kV à 258 °C dans les capillaires. La détection a été effectuée en observant les longueurs d'onde correspondant à l'absorption maximale de la caféine : 200 nm et 275 nm.

Cette étude a montré que la méthode MEEKC-DAD est rapide et peu coûteuse pour déterminer la teneur en caféine des boissons énergisantes. Elle a la capacité de traiter les composés chargés et neutres, ce qui en fait une technologie d'électrophorèse capillaire supérieure pour séparer la caféine.

Conclusion

La caféine est la substance psychoactive stimulante la plus consommable dans le monde. Elle provient des sources alimentaires, la majorité provenant du café, du thé, du chocolat et les boissons énergisantes, ces dernières qui représentent une nouvelle source alimentaire de caféine additionnée à une valeur beaucoup plus élevée, compris entre 50 et 350 mg par canette selon les marques, ce qui signifie que les consommateurs s'approcheront de la limite quotidienne recommandée pour la consommation de caféine celle-ci est estimée à 400 mg par jour pour la personne adulte de bonne santé.

Les effets secondaires et la toxicité de ces boissons dû à l'augmentation du risque de surconsommation de caféine, ainsi que le risque de complication dans le cas de consommer des médicaments, de l'alcool ou des drogues, surtout pour les jeunes et les adolescents qu'ils sont représentés la catégorie essentiellement touchée par consommation des drogues, ainsi qu'elle est la catégorie particulièrement ciblée par les entreprises des boissons énergisantes.

Il existe de nombreuses méthodes pour déterminer la teneur en caféine dans les boissons énergisantes. Chacun présente des avantages et des limites liés à sa capacité d'analyse. Par exemple, la chromatographie en phase gazeuse (CPG) est précise, simple, sensible, mais coûteuse et lorsque nous la comparons à la chromatographie sur couche mince (CCM) et à la chromatographie sur couche mince haute performance (HPCCM), nous avons constaté que cette dernière est supérieure en termes de précision et de rapidité de détection, mais elle reste toujours très coûteuse.

Quant à l'électrophorèse capillaire (EC), elle présente une précision supérieure, une faible consommation de solvant et une possibilité d'utilisation des échantillons de taille extrêmement réduite par rapport au chromatographie liquide à haute performance (HPLC).

En fin de compte, et après plusieurs comparaisons, nous concluons que l'électrophorèse capillaire (EC) est la technique la plus appropriée pour analyser la caféine dans les boissons énergisantes.

Depuis quelques années, cette méthode d'analyse est en pleine expansion. Aujourd'hui, elle est reconnue comme une technique à part entière, complémentaire des techniques classiques que sont la chromatographie sur couche mince, la chromatographie liquide haute performance ou encore la chromatographie en phase gazeuse.

Conclusion

La principale forme d'électrophorèse capillaire la plus utilisée pour l'analyse de caféine est la chromatographie électrocinétique en microémulsion a été introduite comme une alternative attrayante à la MEKC pour la séparation des molécules neutres et chargées.

Les principaux avantages de l'électrophorèse capillaire sont la rapidité des analyses et le besoin de très faibles quantités d'échantillon se traduisant par une forte sensibilité. Une fiabilité, une reproductibilité et un coût relativement faible.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES



Adelusi, A. A., Ogunwolu, Q. A., Ugwu, C. A., Alli, M. A., Adesanya, K. A., Agboola-Adedoja, M. O. et Akinpelu, A. O. (2020). Kolanut consumption, its benefits and side effects. *World Journal of Advanced Research and Reviews*, 8(3), 356-362.

Aguilar, F., Charrondiere, U. R., Dusemund, B., Galtier, P., Gilbert, J., et Gott, D. M. (2009). The use of taurine and d-glucurono-gamma-lactone as constituents of the so-called "energy" drinks. Scientific Opinion of the Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food. *The European Food Safety Authority Journal*, 935,1-31.

Al-Bratty, M., Alhazmi, H. A., Javed, S. A., Ahsan, W., Najmi, A., Khuwaja, G. et Khalid, A. (2020). Determination of caffeine content in commercial energy beverages available in Saudi Arabian market by gas chromatography-mass spectrometric analysis. *Journal of Spectroscopy*, 1-9.

Ambroise, M. (1995). Introduction au laboratoire de biochimie médicale. Paris: *ellipses*. p179.

Anses. (2013). Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à l'évaluation des risques liés à la consommation de boissons dites « énergisantes ». *Maisons-Alfort*, 124 p.

Aranda, J. V., et Beharry, K. D. (2020). Pharmacokinetics, pharmacodynamics and metabolism of caffeine in newborns. In *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*, 1-10.

Aranda, M., et Morlock, G. (2006). Simultaneous determination of riboflavin, pyridoxine, nicotinamide, caffeine and taurine in energy drinks by planar chromatography-multiple detection with confirmation by electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1131(1-2), 253-260.

Armenta, S., Garrigues, S., et de la Guardia, M. (2005). Solid-phase FT-Raman determination of caffeine in energy drinks. *Analytica Chimica Acta*, 547(2), 197-203.

Astrup, A., Toubro, S., Cannon, S., Hein, P., Breum, L., et Madsen, J. (1990). Caffeine: a double-blind, placebo-controlled study of its thermogenic, metabolic, and cardiovascular effects in healthy volunteers. *The American journal of clinical nutrition*, 51(5), 759-767.

Babu, K. M., Church, R. J., et Lewander, W. (2008). Energy drinks: the new eye-opener for adolescents. *Clinical Pediatric Emergency Medicine*, 9(1), 35-42.

Bastos, D. H, De Oliveira, D. M, Matsumoto, R. T, Carvalho, A. O., et Ribeiro, M. L. (2007). Yerba mate: propriétés pharmacologiques, recherche et biotechnologie. *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology*, 1 (1), 37-46.

Baudin, B. (2008). Méthodes électrophorétiques. In :Hainque, B., Baudin, B., et Lefebvre, P. Appareils et méthodes en biochimie et biologie moléculaire. Paris :*Médecine-Sciences Flammarion*. p 274.

Bedi, N., Dewan, P., et Gupta, P. (2014). Energy drinks: potions of illusion. *Indian pediatrics*, 51(7), 529-533.

Benlekehal, H., Clotteau, M., Dornier, M., et Reynes, M. (2001). Un produit amazonien particulièrement riche en caféine: la graine de guaraná [*Paullinia Cupana* HBK var. *sorbilis* (Mart.) Ducke]. *Fruits*, 56(6), 423-435.

Bennett, A. W., et Bonnie, K. B. (2002). The world of caffeine: the science and culture of the world's most popular drug. 1st edition. New York: *Routledge*. p10.

Bourguet, E., et Augé, C. (2008). Les Techniques de laboratoire chimie- purification et analyse des composés organiques. Paris: *ellipses*. 154p.

Breda, J. J., Whiting, S. H., Encarnação, R., Norberg, S., Jones, R., Reinap, M., et Jewell, J. (2014). Energy drink consumption in Europe: a review of the risks, adverse health effects, and policy options to respond. *Frontiers in public health*, 2, 134.

Chen, X., Liu, Y., Jaenicke, E. C., et Rabinowitz, A. N. (2019). New concerns on caffeine consumption and the impact of potential regulations: The case of energy drinks. *Food Policy*, 87, 1-10.

Christensen, H. D., et Neims, A. H. (1984). Measurement of caffeine and its metabolites in biological fluids. In:Dews, P.B. Caffeine. Berlin: *Springer*. p39.

Clauson, K. A., Shields, K. M., McQueen, C. E., et Persad, N. (2008). Safety issues associated with commercially available energy drinks. *Journal of the American Pharmacists Association*, 48(3), 55-67.

Colin-Benoit, E., Friolet, R., Rusca, M., Teta, D., et Gobin, N. (2017). Intoxication sévère à la caféine traitée par hémodialyse et hémodiafiltration. *Néphrologie &Thérapeutique*, 13(3), 183-187.

Concerto, C., Infortuna, C., Chusid, E., Coira, D., Babayev, J., Metwaly, R., et Battaglia, F. (2017). Caffeinated energy drink intake modulates motor circuits at rest, before and after a movement. *Physiology & behavior*, 179, 361-368.

Cotton, F., Vertongen, F., et Gulbis, B. (2006). Électrophorèse capillaire et hémoglobinopathies. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée*, 21(1), 45-50.

Croze, M. L., et Soulage, C. O. (2013). Potential role and therapeutic interests of myo-inositol in metabolic diseases. *Biochimie*, 95(10), 1811-1827.

Cserháti, T., et Forgács, E. (1999). Theory and Practice of Chromatography In: Chromatography in food science and technology. New York: *CRC Press*. Pp 1-10.

Depaula, J., et Farah, A. (2019). Caffeine consumption through coffee: Content in the beverage, metabolism, health benefits and risks. *Beverages*, 5(2), 37.

Di Benedetto, D. (2007). Spectrophotométrie D'Absorption dans l'Ultraviolet et le Visible. *Techniques Ingénieur*, 2, 1-20.

Dong, M. W. (2019). HPLC and UHPLC for Practicing Scientists. Hoboken: *John Wiley & Sons*. P 92.

Dubé, P. A., Lefebvre, L., et Duranceau, A. (2010). Boissons énergisantes: risques liés à la consommation et perspectives de santé publique. Direction de la santé environnementale et de la toxicologie, Institut national de santé publique du Québec. 123p.

Ehlers, A., Marakis, G., Lampen, A., et Hirsch-Ernst, K. I. (2019). Risk assessment of energy drinks with focus on cardiovascular parameters and energy drink consumption in Europe. *Food and Chemical Toxicology*, 130, 109-121.

Facchinetti, F., Unfer, V., Dewailly, D., Kamenov, Z. A., Diamanti-Kandarakis, E., Laganà, A. S., et Soulage, C. O. (2020). Inositols in polycystic ovary syndrome: an overview on the advances. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 31(6), 435-447.

Faull, K. F., Dooley, A. N., Halgand, F., Shoemaker, L. D., Norris, A. J., Ryan, C. M., et Katz, J. E. (2008). An introduction to the basic principles and concepts of mass spectrometry. *Comprehensive Analytical Chemistry*, 52, 1-46.

Geethavani, G., Rameswarudu, M., et Reddy, R. R. (2014). Effect of caffeine on heart rate and blood pressure. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 4(2), 1-2.

Ghedira, K., et Goetz, P. (2009). Kola, *Cola nitida* (Vent) Schott et Endl (= *C. vera* Schumann) et *Cola acuminata* (P. Beauv.) Schott et Endl. *Phytothérapie*, 7(1), 37-40.

Gliszczyńska-Świgło, A., et Rybicka, I. (2015). Simultaneous determination of caffeine and water-soluble vitamins in energy drinks by HPLC with photodiode array and fluorescence detection. *Food Analytical Methods*, 8(1), 139-146.

Gramond, J. P., Lefebvre, P. (2008). Chromatographie en phase gazeuse. In: Hainque, B., Baudin, B., et Lefebvre, P. Appareils et méthodes en biochimie et biologie moléculaire. Paris : *Médecine-Sciences Flammarion*. p226.

Hamilton-Miller, J. M. (1995). Propriétés antimicrobiennes du thé (*Camellia sinensis* L.). *Agents antimicrobiens et chimiothérapie*, 39(11), 2375.

Harvey, D. (2000). Modern analytical chemistry. New York: *McGraw-Hill*. p563.

Heck, C. I., et De Mejia, E. G. (2007). Yerba Mate Tea (*Ilex paraguariensis*): a comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations. *Journal of food science*, 72(9), 138-151.

Heckman, M. A., Sherry, K., et Gonzelez de Mejia, E. (2010). "Energy drinks: an assessment of their market size, consumer, demographics, ingredient profile, fonctionnalité, and regulation in the United States." *Comprehensive reviews in food science and food safety*. 9, 303-317.

Higgins, J. P., Tuttle, T. D., et Higgins, C. L. (2010). Energy beverages: content and safety. In *Mayo clinic proceedings*, 85(11), 1033-1041.

Huyghe, A. 2014. Bienfaits et limites de la consommation de caféine. Thèse de doctorat en pharmacie Université de Lille 2 Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques. 178 p.

Institute of Medicine (US), Committee on Military Nutrition Research. (2001). Caffeine for the sustainment of mental task performance: Formulations for military operations. *National Academy Press*. p30.

Institut universitaire sur les dépendances (IUD). (2019). Technologies et méthodes en analyse de drogues fiches descriptives sur les principales technologies et méthodes en analyse de drogues. Montréal. 48 p.

Júnior, P. C. G., dos Santos, V. B., Lopes, A. S., de Souza, J. P. I., Pina, J. R. S., Júnior, G. C. A. C., et Marinho, P. S. B. (2020). Determination of theobromine and caffeine in fermented and unfermented Amazonian cocoa (*Theobroma cacao*L.) beans using square wave voltammetry after chromatographic separation. *Food Control*, 108, 1-7.

Komes, D., Horzic, D., Belscak, A., Kovacevic Ganic, K., et Bljak, A. (2009). Determination of caffeine content in tea and maté tea by using different methods. *Czech Journal of Food Sciences*, 27, 213-216.

Konate, A., (2013). Contribution au Contrôle de Qualité des Médicaments au laboratoire national de la santé: Analyse rétrospective de 1997 à 2011. Thèse d'état de docteur en pharmacie Université Des Sciences Bamako. 94p.

Kutia, S., Kriventsov, M., Moroz, G., Gafarova, E., et Trofimov, N. (2019). Implications of energy drink consumption for hepatic structural and functional changes: a review. *Nutrition & Food Science*. 1-17.

Labat, L., Deveaux, M., et Dubost, J. P. (2000). Applications de l'électrophorèse capillaire en toxicologie clinique et médico-légale. In *Annales de Toxicologie Analytique*. 12, (3), 179-195.

Larson, D. (2017). Clinical chemistry fundamantal and laboratory thecniques. Canada : Elsevier.p56.

Lawin, I. F., Fandohan, A. B., Gandji, K., Assogbadjo, A. E., et Ouinsavi, C. A. I. N. (2018). Cola millenii K. Schum: Etat des connaissances et perspectives de recherche. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 12(3), 1494-1515.

Liotta, E., Gottardo, R., Seri, C., Rimondo, C., Miksik, I., Serpelloni, G., et Tagliaro, F. (2012). Rapid analysis of caffeine in “smart drugs” and “energy drinks” by microemulsion electrokinetic chromatography (MEEKC). *Forensic science international*, 220(1-3), 279-283.

Loriers, B. (2011). La surconsommation de boissons énergisantes constitue-t-elle un danger pour nos jeunes?. *Analyse Union des Fédérations des Associations de Parents de l'Enseignement Catholique*, 24(11), 1-7.

Lundanes, E., Reubsaet, L., et Greibrokk, T. (2013). Chromatography: basic principles, sample preparations and related methods. Germany: *Wiley-VCH*. 201p.

Mahmoud, T., Akhtar, N., et Khan, B. A. (2010). La morphologie, les caractéristiques et les propriétés médicinales du thé *Camellia sinensis*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(19), 2028-2033.

Margaritis, I., Bordes, I., et Bigard, X. (2013). Boissons énergisantes : consommations et risques sanitaires. *Médecine & Nutrition*, 49(3), 110-113.

Majhenič, L., Škerget, M., et Knez, Ž. (2007). Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. *Food chemistry*, 104(3), 1258-1268.

Marinach-Patrice, C., Pionneau, C., et Mazier, D. (2011). Spectrométrie de masse en biologie médicale : principes et applications. *Bio tribune magazine*, 40(1), 4-12.

Markon, A. O., Jones, O. E., Punzalan, C. M., Lurie, P., et Wolpert, B. (2019). Caffeinated energy drinks: adverse event reports to the US Food and Drug Administration and the National Poison Data System, 2008 to 2015. *Public Health Nutrition*. 22(14),2531-2542.

MelinguI, B. N. (2020). Les prédicteurs de la consommation des boissons énergisantes par les étudiants. *International Journal of Management Sciences*, 3(2), 797 – 822.

Menet, M. C. (2011). Principes de la spectrométrie de masse. *Revue francophone des laboratoires*, 2011(437), 41-53.

Michell, R. H. (2008). Inositol derivatives: evolution and functions. *Nature reviews Molecular cell biology*, 9(2), 151-161.

Mohrig, J. R., Alberg, D., Hofmeister, G., Schatz, P. F., et Hammond, C. N. (2014). Laboratory techniques in organic chemistry. New York: *WH Freeman*. 511p.

Mora-Rodriguez, R., et Pallares, J. G. (2014). Performance outcomes and unwanted side effects associated with energy drinks. *Nutrition reviews*, 72(1), 108-120.

Namita, P., Mukesh, R., et Vijay, K. J. (2012). *Camellia sinensis* (green tea): a review. *Global journal of pharmacology*, 6(2), 52-59.

Nawrot, P., Jordan, S., Eastwood, J., Rotstein, J., Hugenholtz, A., et Feeley, M. (2003). Effects of caffeine on human health. *Food Additives & Contaminants*, 20(1), 1-30.

Olas, B., et Bryś, M. (2019). Effects of coffee, energy drinks and their components on hemostasis: The hypothetical mechanisms of their action. *Food and Chemical Toxicology*, 127, 31-41.

Onaolapo, O. J., et Onaolapo, A. Y. (2019). Caffeinated Beverages, Behavior, and Brain Structure. In: Grumezescu, A., et Holban, A. M. Caffeinated and cocoa based beverages. United Kingdom, United States: *Woodhead Publishing*. Pp163-207.

Oprea, E., Ruta, L. L., et Farcasanu, I. C. (2019). Pharmacological aspects and health impact of sports and energy drinks. In: Grumezescu, A., et Holban, A. M. Sports and Energy Drink. United Kingdom: *Woodhead Publishing*. p74.

Petit, A., Karila, L., et Lejoyeux, M. (2015). L'abus de boissons énergisantes présente-t-il un risque? *La Presse Médicale*, 44(3), 261-270.

Picard-Masson, M., Loslier, J., Paquin, P., et Bertrand, K. (2014). Les liens entre la consommation de boissons énergisantes et la consommation de psychotropes chez les jeunes: que connaissons-nous du phénomène?. *Drogues, santé et société*, 13(2), 1-25.

Pohanka, M., et Dobes, P. (2013). Caffeine inhibits acetylcholinesterase, but not butyrylcholinesterase. *International journal of molecular sciences*, 14(5), 9873-9882.

Pound, C. M., Blair, B., Boctor, D. L., Casey, L. M., Critch, J. N., Farrell, C. et Schwarzenberg, S. J. (2017). Les boissons pour sportifs et les boissons énergisantes chez les enfants et les adolescents. *Paediatrics & Child Health*, 22(7), 411-415.

Preedy, V. R. (2012). Caffeine Chemistry, Analysis, Function and Effects. 1st edition. London: *the Royal Society of Chemistry*. 424 p.

Preedy, V. R. (2015). Coffee in health and disease prevention. London: *Academic Press*. 1046p.

Rai, K. P., Rai, H. B., Dahal, S., Chaudhary, S., et Shrestha, S. (2016). Determination of caffeine and taurine contents in energy drinks by HPLC-UV. *Journal of Food Science and Technology Nepal*, 9, 66-73.

Raizel, R., Coqueiro, A., Bonvini, A., et Tirapegui, J. (2019). Sports and energy drinks: aspect to consider. In: Grumezescu, A., et Holban, A. M. Sports and energy drinks. United Kingdom: Woodhead publishing. Pp 1-37.

Ramalakshmi, K., et Raghavan, B. (1999). Caffeine in coffee: its removal. Why and how? *Critical reviews in food science and nutrition*, 39(5), 441-456.

Rath, M. (2012). Energy drinks: what is all the hype? The dangers of energy drink consumption. *Journal of the American Academy of Nurse Practitioners*, 24(2), 70-76.

Riquembourg, C. (2016). Les boissons énergisantes : législation, composition et risques pour la santé. Thèse d'état de docteur en pharmacie Université de Lille 2. 80p.

Riswanto, F. D. O., Lukitaningsih, R. E., et Martono, S. (2015). Analytical Method Validation and Determination of Pyridoxine, Nicotinamide, and Caffeine in Energy Drinks Using Thin Layer Chromatography-Densitometry. *Indonesian Journal of Chemistry*, 15(1), 9-15.

Rusconi, M., et Conti, A. (2010). *Theobroma cacao L.*, the Food of the Gods: a scientific approach beyond myths and claims. *Pharmacological research*, 61(1), 5-13.

Schimpl, F. C., da Silva, J. F., de Carvalho Gonçalves, J. F., et Mazzafera, P. (2013). Guarana: revisiting a highly caffeinated plant from the Amazon. *Journal of ethnopharmacology*, 150(1), 14-31.

Shar, Z., Shoaib, H., Anwar, N., Zubair, M., Hussain, A., et Khan, K. (2017). Spectrophotometric determination of caffeine in selected Pakistani beverages. *Journal of Food Processing & Beverages*, 5(1), 1-4.

Silva, J. J., Puel, O., Lorber, S., Ferranti, L. S., Ortiz, L. F., Taniwaki, M. H., et Fungaro, M. H. P. (2019). Occurrence and diversity of *Aspergillus* in commercial yerba mate elaborated for the Brazilian beverage 'chimarrão'. *Food Research International*, 121, 940-946.

Smith, A. (2005). Caffeine. In: Lieberman, H. R., Kanarek, R. B., Prasad, C. Nutritional Neuroscience. Boca Raton: CRC Press. p343.

Spiller, G. A.(1998). Caffeine. 1stedition. Florida: CRC Press.365 p .

Titz, M. (2013). Les boissons énergisantes. *Master Rédacteur Professionnel*. P 1-45.

Triebel, S., Sproll, C., Reusch, H., Godelmann, R., et Lachenmeier, D. W. (2007). Rapid analysis of taurine in energy drinks using amino acid analyzer and Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy as basis for toxicological evaluation. *Amino Acids*, 33(3), 451-457.

Yu, P., Yeo, A. S. L., Low, M. Y., et Zhou, W. (2014). Identifying key non-volatile compounds in ready-to-drink green tea and their impact on taste profile. *Food chemistry*, 155, 9-16.

Yunusa, I., et Ahmad, I. M. (2011). Energy-drinks: composition and health benefits. *Bayero journal of pure and applied sciences*, 4(2), 186-191.

Résumé

La caféine est un stimulant dont la consommation est légale dans le monde entier. Les boissons énergisantes font partie des aliments et boissons qui contiennent le plus de caféine. Les objectifs de notre travail sont d'évaluer les techniques d'analyse de la caféine présente dans différentes boissons énergisantes et de déterminer laquelle de ces techniques est la meilleure pour l'analyse.

Finalement, nous avons conclu que toutes les ont des avantages et des inconvénients qui varient d'une technique à l'autre, en déduisant que l'électrophorèse capillaire est plus efficace que le reste des techniques en termes d'analyse de la caféine.

Mots clés : Caféine, Boissons énergisantes, techniques d'analyse de la caféine.

Abstract

Caffeine is a stimulant that is legally consumed all over the world. Energy drinks are among the most important foods and beverages that contain caffeine. The objectives of our work are to evaluate the techniques for the analysis of caffeine present in various energy drinks and to find out which of these techniques is the best for the analysis.

Finally, we concluded that all techniques have advantages and disadvantages that vary from one technique to another, inferring that capillary electrophoresis is more efficient than the rest of the techniques in terms of caffeine analysis.

Keywords: Caffeine, Energy drink, caffeine analysis techniques.

ملخص

الكافيين مادة منشطة يتم استهلاكها بشكل قانوني في جميع أنحاء العالم. تعتبر مشروبات الطاقة من أهم الأطعمة والمشروبات التي تحتوي على مادة الكافيين. تتمثل أهداف عملنا في تقييم تقنيات تحليل الكافيين الموجودة في مختلف مشروبات الطاقة ومعرفة أي من هاته التقنيات هي الأمثل للتحليل يتطلب تحقيق هذا العمل لتحليل العديد من الدراسات السابقة التي أجريت بمختلف التقنيات والمقارنة بينهم و في الأخير توصلنا إلى أن جميع التقنيات لديها مزايا و عيوب تختلف نسبتها من تقنية لأخرى مستخلصين أن الهجرة الكهربية الشعيرية أكثر فعالية من باقي التقنيات فيما يخص تحليل الكافيين.

الكلمات المفتاحية: الكافيين، مشروبات الطاقة، تقنيات تحليل الكافيين.