UNIVERSITÉ DU BURUNDI
GRENIER DU SAVOIR DU BURUNDI
Dépôt institutionnel officiel
https://repository.ub.edu.bi

Détermination de la teneur en caféine des catégories de the noir produites au Burundi

Cishahayo, Prosper

2022-02
UB
https://repository.ub.edu.bi/handle/123456789/302

Document téléchargé depuis le **Grenier du Savoir du Burundi** — https://repository.ub.edu.bi

UNIVERSITE DU BURUNDI
FACULTE DES SCIENCES
Département de Chimie

_____

DETERMINATION DE LA TENEUR EN CAFEINE DES CATEGORIES DE THE NOIR PRODUITES AU BURUNDI

Par

CISHAHAYO Prosper

MÉMOIRE

Présenté en vue d'obtention

du diplôme de Master en Sciences Chimiques

OPTION: Contrôle et Analyses Chimiques

_____

Sous la direction de**: Prof. Godefroid GAHUNGU**
Dr. Ferdinand NDIKURYAYO

Bujumbura, Février, 2022

MEMBRES DU JURY

Président : Prof. Jean Chrysostome NDAMANISHA

Secrétaire : Dr. Christophe NIYUNGEKO

Directeur : Prof. Godefroid GAHUNGU

Co-directeur : Dr. Ferdinand NDIKURYAYO

Membre : Prof. Vestine NTAKARUTIMANA

DEDICACE

A mes regrettés parents;

A mes frères et sœurs.

REMERCIEMENTS

La réalisation du présent mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui je voudrais témoigner toute ma reconnaissance.

Je voudrais tout d'abord exprimer toute ma gratitude au directeur de ce mémoire Prof. Godefroid GAHUNGU et au co-directeur Dr. Ferdinand NDIKURYAYO pour leur patience, leur disponibilité et surtout leur judicieux conseils qui ont contribué à alimenter ma réflexion.

Je tiens à remercier spécialement Dr. Christophe NIYUNGEKO qui fut le premier à me faire découvrir certains logiciels utilisés dans le présent travail. Je remercie aussi le Centre de Recherche en Sciences Naturelles et de l'Environnement (CRSNE) et l'Office du Thé du Burundi (OTB) pour la contribution matérielle.

Je voudrais exprimer ma reconnaissance aux étudiants NDAYISHIYE Willy, NKENGURUTSE Jean Claude et NKURUNZIZA Emmanuel pour leur temps consacrés à lire ce mémoire, aux amis et collègues qui m'ont apporté leur support moral et intellectuel tout au long de ma démarche.

Enfin, je voudrais exprimer ma reconnaissance au Prof. Vestine NTAKARUTIMANA, responsable du programme de Mastère en sciences chimiques pour sa bonne collaboration durant tous les deux ans.

RESUME

Le Burundi est un pays producteur de thé noir avec une exportation de plus 90% de sa production. Le thé noir est la boisson la plus consommée dans le monde après l'eau. Il contient de la caféine, une substance pouvant avoir des conséquences sanitaires positives ou négatives selon la dose consommée. Ce produit n'étant pas la seule source de caféine, le consommateur devrait en connaitre les sources et en savoir la teneur, pour éviter une surdose. Néanmoins, aucune étude ne s'est intéressée à la détermination de la teneur en caféine de thé noir produit au Burundi.

Pour relever ce défi, 31 échantillons de thé noir en provenance des cinq régions productrices de thé noir ont été fournis par l'OTB afin de déterminer leurs teneurs en caféine. La caféine a été extraite par la méthode d'extraction liquide-liquide tandis que sa teneur a été déterminée par la méthode spectrophotométrique. Les résultats trouvés ont montré que la teneur en caféine de thé noir produit au Burundi se trouve dans la norme concernant la teneur en caféine dans les feuilles de thé (1-5%). La plus faible teneur en caféine a été trouvée dans le thé noir BMF (1,675±0,055 %) en provenance de Rwegura, tandis que la teneur la plus élevée a été trouvée dans le thé noir D1 (2,549±0,068 %) en provenance de Tora. Une analyse de la variance a montré une différence significative de la teneur en caféine entre les différentes catégories du thé noir au sein d'une même région et d'une même catégorie (p-value < 0,05). Néanmoins, le test de Duncan a montré d'une part qu'au sein d'une même région, les catégories PD et PF1 possèdent des teneurs en caféine statistiquement identiques sauf à Ijenda. D'autre part, ce test a montré qu'au sein de la même catégorie, les teneurs en caféine des catégories BP1, D1, PD et PF1 sont statistiquement identiques dans les régions d'Ijenda et Buhoro.

Des concentrations respectives en caféine de 120,00±4,00 mg/l et 158,64±2,28 mg/l ont été trouvées pour les infusions de thé noir des catégories PF1 en provenance de Teza et D1 en provenance de Teza. Pour l'infusion de thé de catégorie D1, l'analyse du spectre UV-Visible de l'extrait dichlorométhanolique a révélé la présence probable de la théanine.

En général, les résultats de ce travail ont montré qu'une consommation du thé sans sucre allant jusqu'à 3,5 tasses (d'environ 250ml) par jour est sans effets négatifs liés à la caféine. De plus, ces résultats devraient aider les consommateurs du thé noir produit au Burundi à pouvoir contrôler et modérer la consommation (journalière) de ce produit, alors que l'OTB pourrait s'en servir dans l'amélioration du protocole de préparation du thé de boisson à la disposition de sa clientèle.

Mots-clés: Teneur en caféine, thé noir, régions théicoles, Burundi.

ABSTRACT

Burundi is a black tea producing country and more of 90% of its production is exported internationally. Black tea ranks the second most consumed beverage in the world after water. It contains caffeine, a substance that can have positive or negative health consequences depending on the amount consumed. Since black tea is not the only source of caffeine sources, consumers should be aware of its dietary sources and content to avoid excessive intake. However, no study has investigated the caffeine content of black tea produced in Burundi.

To address this challenge, 31 samples of black tea from five black tea producing regions were provided by OTB to determine their caffeine content. Caffeine was extracted by the liquid-liquid extraction method while its content was determined by the spectrophotometric method. The results found showed that the caffeine content of black tea produced in Burundi is within the norm for caffeine content in tea leaves (1-5%). The lowest caffeine content was found in BMF black tea (1.675±0.055%) from Rwegura while the highest content was found in D1 black tea (2.549±0.068%) from Tora. The analysis of variance revealed a significant difference in caffeine content between the different grades of black tea within the same region and tea grade (p-value <0.05). Nevertheless, Duncan's test showed that within the same region, the PD and PF1 grades have statistically identical caffeine contents except for Ijenda. On the other hand, within the same tea grade, the Duncan test showed that BP1, D1, PD and PF1 had statistically identical caffeine contents in Ijenda and Buhoro.

Caffeine concentrations of 120.00±4.00 mg/l and 158.64±2.28 mg/l respectively were found for black tea infusions of categories PF1 from Teza and D1 from Tora. Regarding the tea infusion of grade D1, the UV-Vis spectrum analysis of the dichloromethanolic extract suggested a probable presence of theanine.

In general, the results of this work showed that tea consumption without sugar up to 3.5 cups (of about 250ml) per day is without negative effects due to caffeine. In addition, these results are expected to help consumers of black tea produced in Burundi to control and moderate its (daily) consumption. Furthermore this work is expected to assist the OTB to improve the tea preparation protocol for the customers.

Keywords: Caffeine content, black tea, tea growing regions, Burundi.

TABLE DES MATIERES

MEMBRES DU JURY ..... **i**
DEDICACE ..... **ii**
REMERCIEMENTS ..... **iii**
RESUME ..... **iv**
ABSTRACT ..... **v**
TABLE DES MATIERES ..... **vi**
LISTE DES TABLEAUX ..... **viii**
LISTE DES FIGURES ..... **ix**
LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS ..... **x**
AVANT-PROPOS ..... **xi**
INTRODUCTION GENERALE **1**
1. Contexte 1
2. Signification de l'étude 2
3. Hypothèses 3
4. Objectif global 3
5. Objectifs spécifiques 3
CHAPITRE I: GENERALITES SUR LE THE **4**
I.1. Thé « *Camellia sinensis* » 4
I.1.1. Description botanique 4
I.1.2. Composition chimique de feuilles du thé 5
I.1.2.1. Polyphénols 6
I.1.2.2. Alcaloïdes 7
I.1.3. Obtention du thé noir 9
a. Flétrissage 9
b. Roulage 9
c. Fermentation 9
d. Dessiccation 9
e. Tamisage 9
I. 2. Thé noir produit au Burundi 10
I.2.1. Intérêt du thé dans l'économie du pays et pour les théiculteurs 10
I.2.2. Facteurs spécifiques pouvant influencer la qualité du thé produit au Burundi 11

a. Précipitation 11
b. Température 11
c. Sol 12
d. Relief 12
e. Potentiel d'hydrogène (pH) 13
CHAPITRE II: MATERIELS ET METHODES 15
II.1. Echantillonnage 15
II.2. Matériels 16
II.3. Préparation de solutions étalons 16
II.4. Préparation de l'échantillon 17
II.4.1. Solubilisation du thé 17
II.4.2. Extraction de la caféine 17
II.5. Détermination du nombre d'extraits 18
II.6. Mesure de l'absorbance 18
II.7. Validation de la méthode 18
II.8. Quantification de la caféine 18
a. Quantification de la masse de la caféine par simple calcul 19
b. Quantification de la masse de la caféine en mesurant l'absorbance de la caféine 19
II.9. Traitement des résultats 20
CHAPITRE III: PRESENTATION ET DISCUSSION DES RESULTATS 21
III.1. Présentation des résultats 21
III.1.1. Droite d'étalonnage 21
III.1.2. Spectres UV-Visible 22
III.1.3. Teneur en caféine des échantillons 22
III.1.4. Teneurs moyennes en caféine de 31 échantillons 26
a. Classement des échantillons du thé noir en fonction des teneurs en caféine 26
b. Comparaison des échantillons en fonction des teneurs en caféine 27
III.1.5. Teneur en caféine de l'infusion du thé à boire 28
III.2. Discussion des résultats 30
CONCLUSION GENERALE ET RECOMMANDATIONS 33
BIBLIOGRAPHIE 34

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Composition chimique des feuilles de thé « *Camellia sinensis* ». 5
Tableau II: Teneurs en caféine des quelques échantillons des thés noirs. 7
Tableau III: Effets sanitaires liés à la quantité (en mg) de caféine consommée. 8
Tableau IV: Facteurs physicochimiques des régions théicoles burundaises. 14
Tableau V: Absorbances et concentrations des solutions étalons de la caféine pure. 21
Tableau VI: Teneurs en caféine des thés noirs de Rwegura. 23
Tableau VII: Teneur en caféine des thés noirs d'Ijenda. 23
Tableau VIII: Teneur en caféine des thés noirs de Teza. 24
Tableau IX: Teneur en caféine des thés noirs de Tora. 25
Tableau X*:* Teneur en caféine des thés noirs de Buhoro. 25
Tableau XI: Teneur en caféine des différentes catégories de thé des 5 régions théicoles. 26
Tableau XII: Comparaison des teneurs moyennes des catégories de thé d'une même région. 28
Tableau XIII: Comparaison des teneurs moyennes d'une même catégorie de thé noir. 28
Tableau XIV: Masse en caféine dans une tasse du thé noir de 250 ml. 28

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Structures chimiques de (a) caféine, (b) théobromine) et (c) théophylline. 1
Figure 2: Thé *«Camellia sinensis var assamica»* cultivé au Burundi (Photo prise sur terrain). 5
Figure 3: Structures chimiques des principaux composés phénoliques trouvés dans les feuilles du thé: (a) flavone, (b) flavan-3-ols, (c) flavonols, (d) l'acide salicylique, (e) acide gallique et (f) acide caféique. 6
Figure 4: Evolution des exportations du café, thé et or sur la période de 2016-2020. 11
Figure 5: Régions théicoles burundaises. 13
Figure 6: Catégories de thé noir produites au Burundi. 15
Figure 7: Droite d'étalonnage de la methode de dosage de la caféine pure dans le dichlorométhane. 21
Figure 8: Superposition de spectres UV-Visible de caféine de 4 extraits dichlorométhanolique du thé noir de la catégorie D1 de la région Buhoro. 22
Figure 9: Teneur en caféine des échantillons du thé noir des cinq régions théicoles. 27
Figure 10: Concentration de caféine (en mg/l) dans l'infusion de thé à boire de D1 et PF1 en provenance de Tora et Teza respectivement. 29
Figure 11: Spectre UV-Visible de l'extrait dichlorométhanolique de l'infusion du thé noir de la catégorie D1 provenant de Tora. 29

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

A : Absorbance
AFD : Agence Française de Développement
ANOVA : Analyse de la Variance
BEI : Banque Européenne d'Investissement
BMF : Broken Mixed Fung
BP1 : Broken Pekoe One
CCEE : Caisse Centrale de Coopération Economique
D : Dust
D1 : Dust One
Dr : Docteur
F1 : Fannings One avec beaucoup de fibres
FS : Fannings
FS1 : Fannings One avec peu de fibres
H_0 : Hypothèse nulle
H_1 : Hypothèse alternative
INEAC : Institut National d'Etudes Agronomiques du Congo Belge
ISABU : Institut des Sciences Agronomiques du Burundi
ISAR : Institut des Sciences Agronomiques du Rwanda
ISTEEBU : Institut de Statistiques et d'Etude Economique du Burundi
M : Mole/l
m_0 : Masse de la teneur en caféine
m_e : Masse de l'échantillon
OTB : Office du Thé du Burundi
p : Poids
PD : Pekoe Dust
PF1 : Pekoe Fannings One
Prof : Professeur
SPSS : Statistical Package for the Social Sciences
T : Teneur
V : Volume

AVANT-PROPOS

Ce mémoire rentre dans le cadre de l'obtention du diplôme de Master en Sciences Chimiques, option Contrôle et Analyses Chimiques. Dans ce travail, la teneur de la caféine dans les différentes catégories de thé noir produit par l'Office du Thé du Burundi (OTB) a été déterminée. L'idée de ce travail de recherche est née du constat que la composition chimique, en particulier la teneur en caféine des produits mis en vente par l'OTB n'est pas connue.

En effet selon la littérature, une quantité modérée de caféine a des effets positifs sur l'organisme humain alors qu'une consommation quotidienne d'une certaine quantité, toutes sources confondues, expose l'organisme à des troubles divers de santé.

Ce travail se veut être une contribution devant permettre à l'OTB et aux consommateurs du thé noir produit au Burundi d'être éclairés par rapport à la teneur en caféine de ce produit en ces différentes catégories. Ainsi, une détermination de la teneur de la caféine a été faite sur des échantillons de toutes les catégories de the noir produit en provenance de toutes les régions théicoles du Burundi.

Les résultats de ce travail devraient aider le consommateur dans le contrôle de la consommation journalière du thé noir produit au Burundi alors que l'OTB devrait probablement s'en servir dans l'amélioration du protocole de préparation du thé à boire déjà produit.

.

INTRODUCTION GENERALE

1. Contexte

La caféine est une molécule de la famille des methylxanthines qui comprend aussi la théobromine et théophylline dont les structures sont montrées à la figure 1. Peu soluble dans l'eau froide, sa solubilité est meilleure dans l'eau chaude et dans les solvants organiques comme l'acétate d'éthyle, l'éther de pétrole, le benzène, le chloroforme et le dichlorométhane (Senol & Aydin, 2006; Suteerapataranon & al., 2009). De tous ces solvants, le dichlorométhane a été trouvé moins toxique **(**Belay & al., 2008; Sharif & al., 2014) d'où son application préférée au laboratoire.

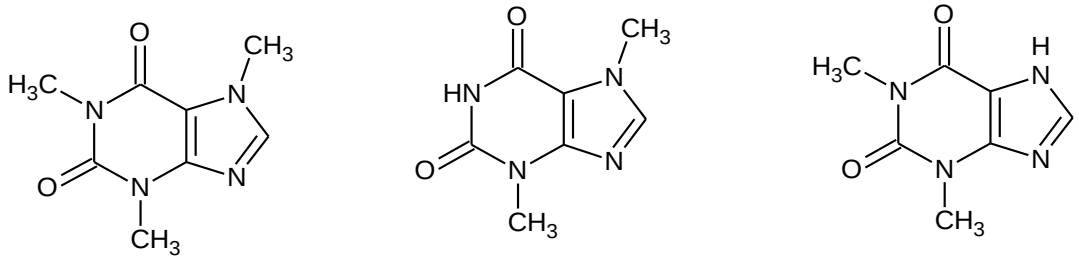


Figure 1: Structures chimiques de (a) caféine, (b) théobromine) et (c) théophylline.

La caféine se retrouve naturellement dans plus de 60 espèces des plantes, y compris le café, et dans les feuilles du thé où elle aide à lutter contre les insectes prédateurs (Kim & al., 2010; Böttger & al., 2018). Elle se trouve également dans les boissons alcoolisées où elle est utilisée comme agent aromatisant ainsi que dans certains médicaments (Andrews & al., 2007; Mitchell & al., 2014; Hallaj & al., 2021).

Le thé noir issu des feuilles du thé est la boisson la plus consommée dans le monde après l'eau (Kerrigan & Lindsey, 2005). Selon la quantité de la caféine consommée, cette substance peut avoir des conséquences sanitaires positives ou négatives. Généralement, à une dose comprise entre 50 à 200 mg, la caféine possède plusieurs bienfaits. Par exemple, elle prévient la maladie d'Alzheimer **(**Londzin & al., 2021), augmente la vigilance et améliore la capacité du mémoire (Bolton & Null, 1981). Elle prévient également le risque de certains types de cancer, de la cataracte et du diabète (Yang & al., 2007). Aussi, la caféine peut traiter la fatigue physique et les migraines (Nowaczewska & Michałand, 2020). A une dose supérieure à 200 mg de caféine, la caféine devient toxique, ce qui se traduit par une agitation, une irritabilité, une perte d'appétit, des tremblements, des vomissements, de la fièvre, des délires, des convulsions, une arythmie,

des maladies cardiaques auxquelles sont associées une hypertension, une hypotension ou un arrêt cardiaque (Turnbull & al., 2017) et des cancers du côlon (Yang & al., 2007).
Les études faites sur la caféine contenue dans les feuilles du thé ont montré que sa teneur varie de 1 à 5% (Fernandez & al., 2000; Perva-Uzunalić & al., 2006), mais cette dernière pouvant varier en fonction de plusieurs facteurs notamment les conditions climatiques, les types de thé (noir, vert ou Oolong), la variété de cultures (*Camellia sinensis var sinensis* ou *Camellia sinensis var assamica),* le mode de brassage (Hicks & al., 1996), les conditions de culture des théiers ainsi que les types de feuilles récoltées (Owuor & al., 2010).

2. Signification de l'étude

Depuis 1963, le Burundi est l'un des pays producteurs du thé noir avec une exportation de plus 90% de sa production (ISTEEBU, 2021). Avant la commercialisation, des tests organoleptiques sont réalisés par l'Office du Thé du Burundi (OTB) pour apprécier la qualité du thé noir produit. Faisant partie des boissons les plus consommées dans le monde après l'eau, le thé contient en générale de la caféine, une substance pouvant avoir des conséquences sanitaires positives ou négatives selon la quantité consommée. Ce produit n'étant pas la seule source de caféine, le consommateur devrait en connaître les sources et en savoir la teneur, pour éviter une surdose. Néanmoins, la teneur en caféine du thé noir produit au Burundi n'avait jamais (à notre connaissance) fait objet d'aucune étude.

Les feuilles du thé servant à l'obtention du thé noir produit au Burundi proviennent des régions théicoles de Rwegura, d'Ijenda, de Tora, de Buhoro et de Teza. Ces régions se trouvent dans les régions naturelles d'altitude variant de 1300 à 2400 m (Flemal & al., 1986) et de pédologie variables entre outre des ferralsols ou ferrisols en altitude (Mumirwa-Mugamba) et des sols noirs tropicales (régogleys et regogleys salins, vertisols) dans la plaine de la Rusizi (Nduwimana & al., 2013). Ces variations pourraient influencer la teneur en caféine de ce thé. Après la transformation, on aboutit à au moins six catégories de thé noir de qualité différente. La teneur en caféine de ces catégories est inconnue, ce qui nécessite une analyse chimique et un protocole précis de préparation du thé à boire. C'est pour répondre à ce besoin que nous avons mené une recherche qui a pour thème: « Détermination de la teneur en caféine des catégories de thé noir produites au Burundi ».

3. Hypothèses

Dans cette étude, deux hypothèses peuvent être formulées à savoir:

- la teneur en caféine serait différente dans les différentes catégories de thé noir d'une même région théicole;
- la teneur en caféine serait différente d'une même catégorie de thé noir dans ces 5 régions théicoles.

4. Objectif global

L'objectif global de cette étude consiste à déterminer la teneur en caféine dans les catégories de thé noir produites au Burundi.

5. Objectifs spécifiques

Les objectifs spécifiques de cette étude sont:

- Faire une comparaison de la teneur en caféine dans le thé noir en fonction des catégories;
- Faire une comparaison de la teneur en caféine dans le thé noir en fonction des régions théicoles;
- Améliorer le protocole de préparation du thé noir produit au Burundi proposé par l'OTB et du coup sur base de la toxicité de caféine, proposer la quantité seuil pour différents groupes de personnes.

A la lumière des résultats de ce travail, la teneur en caféine de chaque catégorie de thé noir produite au Burundi, un protocole amélioré de la préparation du thé noir ainsi que des précautions à prendre pour les consommateurs seront proposés. Le présent travail a été effectué en 2021 dans un laboratoire du département de chimie de la faculté des sciences de l'université du Burundi.

CHAPITRE I: GENERALITES SUR LE THE

I.1. Thé « *Camellia sinensis* »

Le thé est originaire de l'Asie du Sud-Est (Chine, Japon) où il est principalement cultivé, consommé et utilisé dans la médecine traditionnelle (Yashin & al., 2011). Cette culture a été introduite en Afrique pendant la période coloniale.

Au Burundi, les premiers essais de cette culture ont commencé dans les années 1930 à la station de recherches expérimentales de Gisozi dans la province de Mwaro. A cet instant, l'Institut des Sciences Agronomiques du Burundi (ISABU), en collaboration avec l'Institut des Sciences Agronomiques du Rwanda (ISAR) et l'Institut National d'Etudes Agronomiques du Congo Belge (INEAC) s'est engagé à poursuivre les recherches agronomiques relatives au développement du thé comme projet de l'Etat. Trente ans plus tard, Teza, Rwegura et Tora furent les premières plantations d'État dites « blocs industriels » respectivement en 1963, 1966 et 1969 pour la production de thé noir. Deux autres plantations naissent à Ijenda et Buhoro en 1984 et 1992 respectivement avec la vulgarisation du thé dans les zones villageoises et grâce à divers projets financés par des bailleurs de fonds européens, notamment la Banque Européenne d'Investissement (BEI), la Caisse Centrale de Coopération Economique (CCEE) et l'Agence Française de Développement (AFD) (Ndayisaba, 2019).

I.1.1. Description botanique

Le théier est une plante à fleurs persistantes, appartenant à la famille des théacées (Mahmood & al., 2010). A l'état naturel, le théier est un buisson très rameux à une taille d'environ 1,5 m, ce qui facilite la cueillette de ses feuilles. Il possède un système racinaire pivotant et une durée de vie moyenne de 50 ans. Ses feuilles persistantes sont isolées, alternées et d'une couleur verte brillante avec une taille de 5 à 14 cm de longueur sur 1,9 à 5 cm de largueur (Krieps & Luxembourg, 2009). Les fleurs de théier sont petites et de couleur blanche à jaune claire, solitaires ou groupées. Le fruit est une capsule loculicide, les graines sont assez peu nombreuses, souvent aplaties ou aillées (Namita & al., 2012). L'espèce *camellia sinensis var sinensis* est utilisée pour la production de thé vert ou noir selon le mode de transformations tandis que l'espèce *camellia sinensis var assamica* est utilisée souvent pour le thé noir (Ad & Zekri, 2019). De toutes ces deux espèces, seul *camellia sinensis var assamica* montrée à la figure 2 est cultivée au Burundi et fait l'objet de la présente étude (Ndayisaba, 2016).



Figure 2: Thé *«Camellia sinensis var assamica»* cultivé au Burundi (Photo prise sur terrain).

I.1.2. Composition chimique de feuilles du thé

La variété du théier, le lieu et les conditions de culture, la saison de récolte et la maturité de la feuille influencent la composition chimique de la feuille de thé (Owuor & al., 2010). Le tableau I montre une différence de teneur en différentes substances chimiques qui sont présentes dans les feuilles de *Camellia sinensis*.

Tableau I: Composition chimique des feuilles de thé « *Camellia sinensis* ».

Composés	**Teneur (%)**	**Référence**
Composés organiques	20-35	Łuczaj & Skrzydlewska, 2005
	36	Krieps & Luxembourg, 2009
Glucides	25-30	Łuczaj & Skrzydlewska, 2005
Protéines	4	Krieps & Luxembourg, 2009
	15	Łuczaj & Skrzydlewska, 2005
Lignines	6,5	Łuczaj & Skrzydlewska, 2005
Acides aminés	4	Łuczaj & Skrzydlewska, 2005
Lipides	2-16	Krieps & Luxembourg, 2009
Acides organiques	1,5	Łuczaj & Skrzydlewska, 2005
Chlorophylles et de caroténoïdes	0,5	Łuczaj & Skrzydlewska, 2005
Substances volatiles	< 0,1	Maillet, 2003
Vitamine et minéraux	3-5	Łuczaj & Skrzydlewska, 2005

.

Les polyphénols et les alcaloïdes sont les principaux composés organiques que contiennent les feuilles du thé et qui sont responsables de la qualité du thé (Padmini & al., 2010; Enzveiler & al., 2011).

I.1.2.1. Polyphénols

Les polyphénols sont définis comme ayant tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles (Łuczaj & Skrzydlewska, 2005; Krieps & Luxembourg, 2009). Ils interviennent dans différents domaines de la physiologie de toutes les plantes (organogenèse, croissance) et dans leurs relations avec l'environnement physicochimique et biologique. Aussi, ils peuvent favoriser la pollinisation en attirant certains insectes ou, au contraire, aider à lutter contre les insectes et les micro-organismes pathogènes pour la plante. En fin, ils contribuent fortement aux qualités organoleptiques des végétaux comme la couleur et l'astringence (Sakanaka & al., 2000)**.** Les polyphénols peuvent être classés de différentes manières suivant la complexité du squelette de base et son degré de modification (oxydation, hydroxylation).

Les formes les plus simples sont de deux types comme le montre la figure 3. Il s'agit des:

- Acides phénoliques comprenant les acides hydroxybenzoïques (acide salicylique et l'acide gallique) et les acides hydroxycinnamiques (acide caféique) (Nkhili, 2009) ;
- Flavonoïdes ayant en commun la structure de la flavone (constituée de deux noyaux benzéniques reliés). Dans le thé, les principaux flavonoïdes sont les flavonols et les flavanols (Arce & al., 1998).

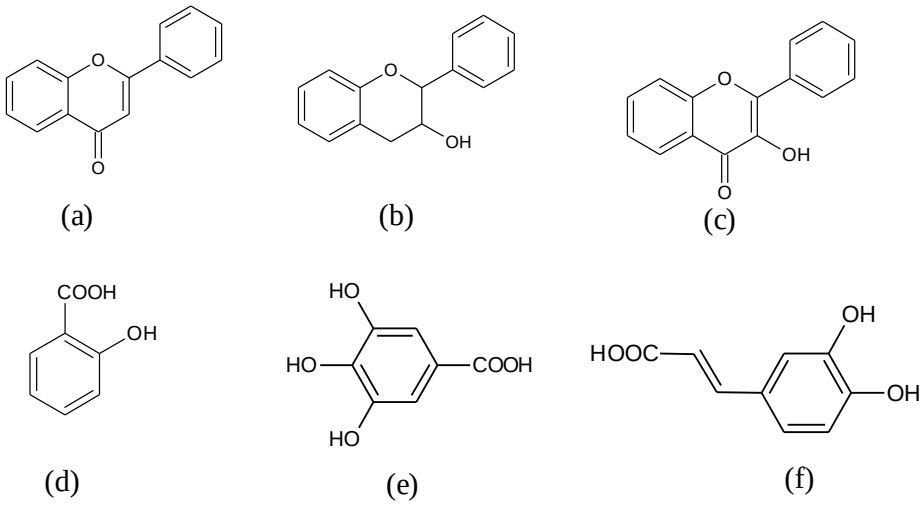


Figure 3: Structures chimiques des principaux composés phénoliques trouvés dans les feuilles du thé: (a) flavone, (b) flavan-3-ols, (c) flavonols, (d) l'acide salicylique, (e) acide gallique et (f) acide caféique**.**

Lors de l'oxydation du thé, les catéchines (flavan-3-ols incolores) sont oxydées grâce aux polyphénols oxydases et peroxydases pour former différents composés. Les plus connus sont les théaflavines et les théarubigines qui représentent respectivement jusqu'à 2 % et 20 % de la matière sèche des feuilles du thé (Zhu & al., 1997). Les théaflavines contribuent à l'astringence et à l'éclat tandis que les théarubigines contribuent à la couleur et au goût (Haslam, 2003).

I.1.2.2. Alcaloïdes

Les alcaloïdes ou méthylxanthines (caféine, la théobromine et la théophylline) qu'on trouve dans les feuilles du thé appartiennent au groupe de la purine. D'après la littérature, la caféine représente entre 1 et 5 % la matière sèche des feuilles du thé. On trouve dans le tableau II les teneurs en caféine des divers thés noirs (Del Rio & al., 2004).

Tableau II: Teneurs en caféine des quelques échantillons des thés noirs.

Thés noirs	Teneur (% p/p)	Référence
The tea samples (Zhengzhou)	3,098	Guo & al., 2011
Lingia (black tea)	2,790	Komes & al., 2009
Kokeb black tea	2,760	Shitaw & Sergawi, 2017
Ermon Black tea	2,710	Shitaw & Sergawi, 2017
Tatagold indian	2,300	Atomssa & Gholap, 2011
Taj Mahal indian	2,360	Atomssa & Gholap, 2011
Black lion	2,080	Atomssa & Gholap, 2011
Addis black tea	2,010	Atomssa & Gholap, 2011
Tea marketed in Madhya, Pradesh, and India	2,140	Misra & al. 2009
Lipton Earl Grey Citron	2,322	Boros & al., 2016
Lord Nelson Earl Grey	2,344	Boros & al., 2016
Lipton Earl Grey	2,144	Boros & al., 2016

La caféine ou 1, 3,7-triméthylxanthine est l'un des alcaloïdes (substances organiques basique d'origine végétale contenant au moins un atome d'azote dans sa molécule) de formule moléculaire $C_8H_{10}N_4O$ et de masse molaire de 194,19 g/mol. Cette substance a été découverte en 1819 dans le café et en 1837 dans les feuilles du thé où elle était appelée théine. Du point de vu chimique, la caféine et la théine ont été identifiées comme étant une seule et même molécule en 1838 (Zhu & al., 1997; Del Rio & al., 2004).

Dans l'organisme humain, la caféine possède une structure chimique très semblable à celle de l'adénosine. Rappelons que l'adénosine est un neuromédiateur naturel qui ralentit l'excitation des cellules nerveuses en freinant partiellement l'activité nerveuse. Lorsque la caféine est ingérée, elle se fixe sur les récepteurs d'adénosine présents sur les cellules du système nerveux. L'adénosine ne peut donc plus exécuter sa fonction, ce qui explique les effets stimulants associés à la caféine. Le corps réagit à cette situation en produisant un nouveau récepteur pour

ses cellules pouvant recevoir à la fois la caféine et l'adénosine (Flaten & al., 2014). Dans cette situation, le corps réagit de façon que des effets néfastes ou bénéfiques s'observent comme certaines études l'ont déjà montré. L'expression des effets bénéfiques ou néfastes de la caféine dans l'organisme humain est liée à la quantité de caféine ingérée ainsi qu'à d'autres facteurs comme l'âge, le sexe ou l'état de santé d'une personne. Les effets de la caféine sur la santé sont repris dans le tableau III.

Tableau III: Effets sanitaires liés à la quantité (en mg) de caféine consommée.

Quantité	**Catégorie de personnes**	**Effets à long terme**	**Référence**
50-200	Toutes les catégories	Prévention de la maladie d'Alzheimer.	Londzin & al., 2021
		Protection des paupières et la cataracte.	Yang & al., 2007
		Prévention des risques de cancer et de diabète.	Yang & al., 2007
		Prévention de la fatigue physique et traitement des migraines.	Nowaczewska & Michaland, 2020
200	Toutes les catégories	Possible perturbation du sommeil.	Frary & al., 2005
250	Toutes les catégories	Intoxication du système nerveux.	Khalid & al., 2016
300	Toutes les catégories	Augmentation des risques des maladies cardiaques.	Turnbull & al., 2017
		Augmentation des risques de Cancer du côlon.	Yang & al., 2007
400	Femmes enceintes	Diminution modérée du poids chez les fœtus.	Olsen & al., 1991
280-420	Femmes ménopausées et personnes âgées en bonne santé.	Accélération d'une perte osseuse et incapacité d'accumulation des apports en calcium.	Harris & Dawson-Hughes, 1994
		Effets à court terme	
4-6/kg de PC*	Homme	Amélioration de l'endurance musculaire.	Polito & al., 2016
150	Toutes les catégories ayant 26 ans	Forte augmentation de la pression artérielle et la résistance vasculaire périphérique.	Mahmud & Feely, 2001
200	Femmes ayant les problèmes d'uriner	Augmentation du risque d'instabilité du détrusor.	Arya & al., 2000
150-300	Femmes (22-30 ans) et hommes (21-42 ans) après un jeûne de 10h	Augmentation d'excrétion urinaire de calcium.	Massey & Berg, 1985

*PC (poids corporel) est le poids (en kg) sur taille (en m) au carré.

I.1.3. Obtention du thé noir (Mossion, 2007)

Le thé noir provient d'un traitement particulier de la feuille du théier après sa récolte. Le thé vert et le thé noir sont produits à partir de la même plante et se distinguent par la phase de la fermentation. Les étapes suivantes décrivent le processus d'obtention du thé noir.

a. Flétrissage

Les feuilles fraîches sont étalées sur des plateaux de séchage et exposées à un courant d'air chaud pendant plusieurs heures. Cette étape permet de réduire leur teneur en eau à environ 50 %.

b. Roulage

Les feuilles issues de la flétrissage sont enroulées sur elles-mêmes dans le sens de la longueur. En plus de leur donner un aspect esthétique, cela permet de briser les parois cellulaires et ainsi de libérer les huiles essentielles et les enzymes de la fermentation. Cette étape donne la force au thé. Plus la quantité d'huile libérée est importante, plus le thé sera fort.

c. Fermentation

Le produit issu du roulage est placé dans une atmosphère à environ 95% d'humidité et entre 22 et 28 °C. En réalité, il ne s'agit pas d'une fermentation, car aucune bactérie n'entre en jeu, mais d'une oxydation des polyphénols par les enzymes libérées lors du roulage. Les nouveaux composés chimiques formés sont responsables de l'astringence et de la couleur du thé noir. Selon la durée de cette étape, il sera obtenu soit un thé noir ou un thé *Oolong* (semi-fermenté).

d. Dessiccation

Le produit issu de la fermentation est exposé à une température supérieure à 80 °C et à l'air sec durant une courte période. Ce changement de conditions atmosphériques permet de mettre fin à la fermentation et de réduire la teneur en eau des feuilles à 5 %. C'est une étape importante pour la qualité du thé. En effet, si le changement est trop brutal ou trop long il y a un risque de rendre la feuille cassante et de perdre son arôme. A l'inverse, si elle est réalisée trop tard, la feuille se sera dégradée par une fermentation prolongée.

e. Tamisage

Le produit issu de la dessiccation est trié manuellement ou placé sur un tamis, afin de les séparer selon leur taille et leur intégrité. Cette étape permet d'obtenir les différentes catégories du thé noir.

Après transformation des feuilles du thé fraîchement cueilli et suivant l'aspect physique de différentes catégories du thé noir obtenues, les thés sont classés en thés propres de couleur noirs, dépourvus de fibres et de poussières dits de première ligne et en thés noirs dérivant de ceux de la première ligne avec des fibres et de poussières dits de deuxième ligne. Les premiers qui sont dépourvus de fibres et de poussières représentent plus ou moins 95 % de la production.

I. 2. Thé noir produit au Burundi

I.2.1. Intérêt du thé dans l'économie du pays et pour les théiculteurs

La figure 4 montre une comparaison des revenues en provenance de thé par rapport au café et à l'or exportés. Depuis 2016, le thé a occupé la troisième place pour les recettes d'exportations jusqu'à 2020. Ces recettes d'exportations contribuent énormément au budget de fonctionnement de l'Etat ou au financement de ses affaires courantes y compris le développement des communes, la construction des routes, des barrages, des écoles et/ou pour compenser le minerval des élèves de l'école primaire, les soins des enfants de moins de 5 ans ainsi que d'autres projets de développement (Rapport de l'ISTEEBU de 2021). Pour l'OTB, ces recettes contribuent au paiement du personnel de l'office et des théiculteurs. Les théiculteurs vendent les feuilles vertes aux usines de l'OTB à un prix fixé par ce dernier. Le prix qui était de 250 Fbu/Kg de feuilles depuis 2011 est passé à 280 Fbu/Kg de feuilles en 2020 (OTB). Pour le théiculteur, le thé devient alors l'une des plantes cultivées au Burundi avec beaucoup d'avantages. En effet, la cueillette se fait toutes les deux semaines contrairement aux autres cultures comme le café dont la cueillette se fait après une année ou plus. L'argent provenant de ces feuilles vendues permet aux cultivateurs du thé de subvenir à leurs besoins divers.

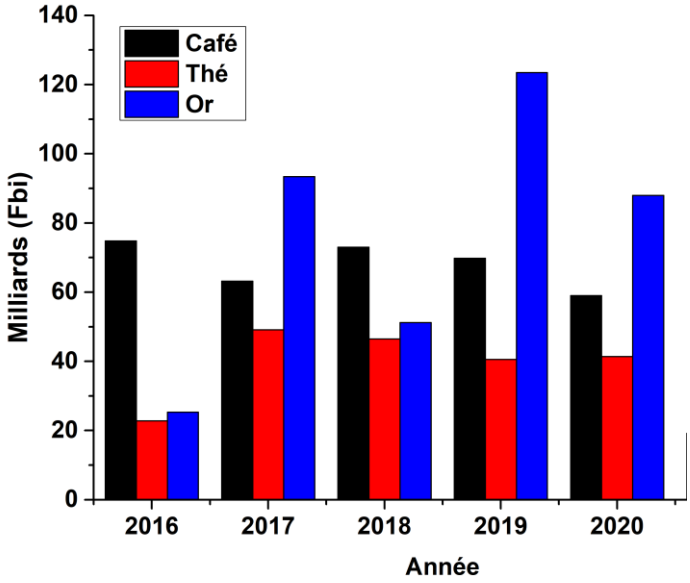


Figure 4: Evolution des exportations du café, thé et or sur la période de 2016-2020.

I.2.2. Facteurs spécifiques pouvant influencer la qualité du thé produit au Burundi

D'une manière générale, la qualité d'un aliment peut être évaluée sur base des paramètres organoleptique ou sur base d'une analyse chimique. Pourtant, la production de métabolites secondaires influençant la qualité varie d'un endroit à l'autre suite à plusieurs facteurs dont le pH du sol, l'altitude, les précipitations, l'humidité...etc. ou types et quantités des fertilisants utilisés (Owuor & al., 2010; Kwach & al., 2016). Au Burundi, ces facteurs sont:

a. Précipitation

Deux saisons principales règnent au Burundi. La saison des pluies s'étendant d'octobre ou novembre à mai (de 800 mm/an, voire moins dans la dépression de la Rusizi à 2000 mm/an sur la crête). A la mi-décembre, les pluies deviennent moins abondantes. Elles peuvent être rares en janvier et même jusqu'à la mi-février, période à laquelle commence la grande saison des pluies. La saison sèche s'étendant de juin à septembre ou octobre. Cependant, avec les variabilités climatiques, la saison sèche peut durer jusqu'en novembre (Gihimbare & al, .2011).

b. Température

La température varie peu entre les saisons, elle atteint une moyenne annuelle de 24 °C dans l'Imbo (Rusizi) et de 15,6 °C à Rwegura en altitude (près de 2000 m) (Gihimbare & al, .2011).

c. Sol

Les sols du Burundi sont considérés comme étant d'une fertilité médiocre. Plus de 36 % des sols sont acides et présentent une toxicité aluminique. Sous culture, leur évolution peut être particulièrement favorable si des corrections sont apportées avec des amendements organiques et calcaires ou au contraire mener vers une dégradation physico-chimique accélérée. Plus spécifiquement, les sols sont globalement des ferralsols ou ferrisols en altitude (Mumirwa-Mugamba). On rencontre également, sur les pentes et les crêtes, des lithosols qui sont des sols bruns tropicaux peu évolués. Dans les fonds des vallées marécageux (Kumoso et bassin du Nil surtout), on y trouve des sols organiques tourbeux, tandis que la plaine de la Rusizi se distingue par ses sols noirs tropicales (régogleys et regogleys salins, vertisols) (Nduwimana & al., 2013). Rappelons que Brouillet a pu montrer que si le thé peut pousser sur une grande gamme de sols et s'il n'y a pas de contraintes pédologiques exceptionnelles, il préfèrera les sols acides (Brouillet, 1997).

d. Relief

Le Burundi possède un relief formé par un complexe de 5 zones géomorphologiques assez diversifiées comprenant la plaine occidentale située entre 775 et 1000 m d'altitude; les hautes sols occidentales formant la crête Congo Nil et situées entre 1000 et plus de 2600 m d'altitude; les plateaux centraux couvrant la plus grande partie du pays et situés entre 1400 et 2000 m d'altitude; la dépression orientale de Kumoso située entre 1200 et 1400 m d'altitude et la dépression du Bugesera localisée au Nord-Est du Burundi et située entre 1200 et 1500 m d'altitude. Le thé du Burundi s'étend de part et d'autre de la Crête Congo-Nil depuis la frontière nord du pays jusqu'à la localité de Burambi au Sud à une altitude comprise entre 1800 m et 2400 m sur le flanc et la Crête et entre 1300 et 2200 m sur le flanc Ouest pour une production importante de feuilles (Flemal & al., 1986). La figure 5 reproduite sous l'autorisation de l'auteur montre la localisation des 5 régions théicoles du Burundi (Ndayisaba, 2019).

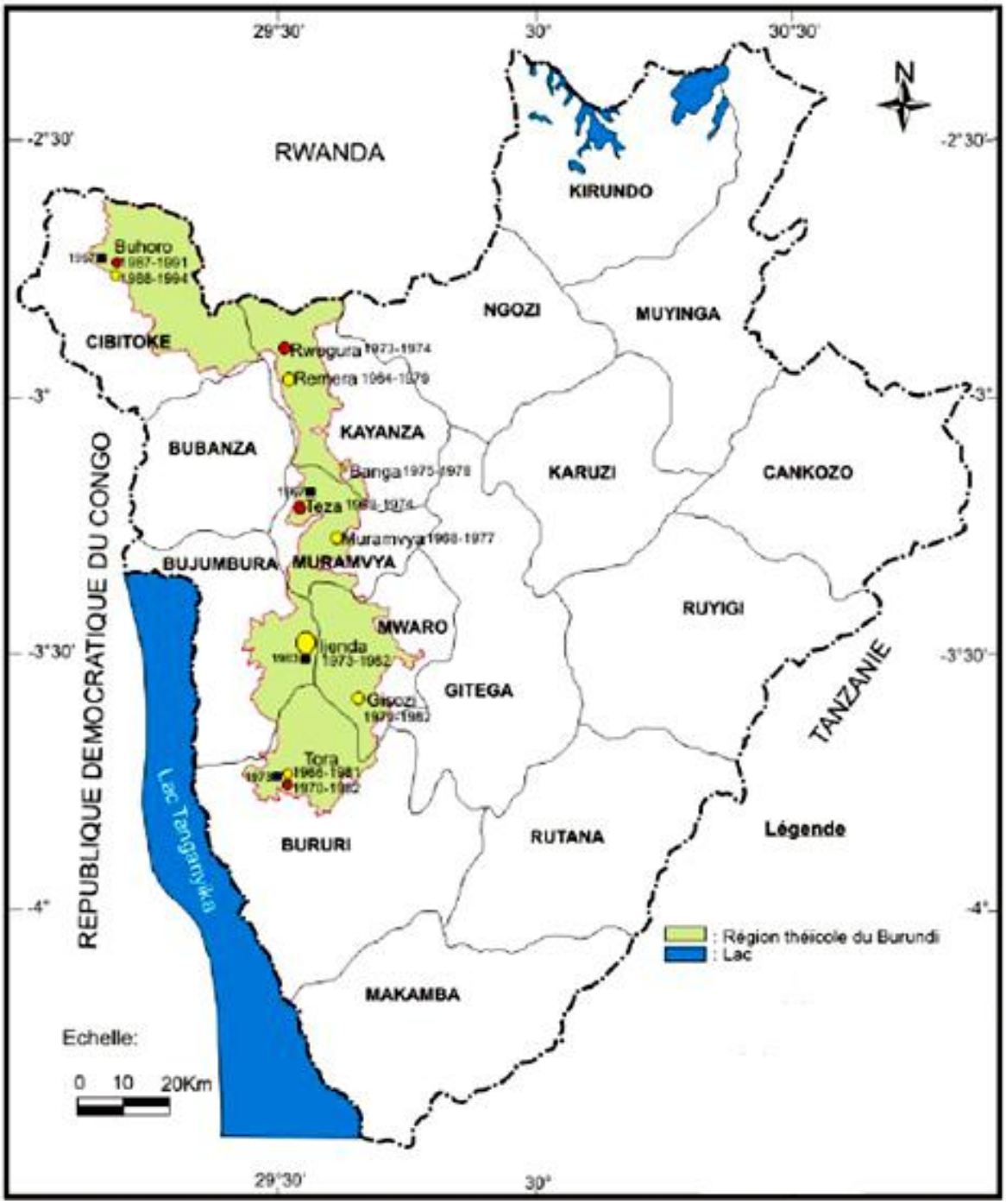


Figure 5: Régions théicoles burundaises.

e. Potentiel d'hydrogène (pH)

Le degré d'acidité influence directement l'assimilabilité des éléments nutritifs par les plantes. Il joue ainsi un important rôle dans la nutrition, la croissance et la production des plantes. Les pH optimaux varient en fonction des types de sols et des cultures. Pour les sols lourds, le pH varierait entre 6,8 et 7,5. Pour les sols limoneux, les valeurs devraient osciller entre 6,2 et

6,8. Les sols légers auraient un pH de 5,2 à 6,3. Pour les sols organiques elles auraient un pH de 5,0 à 5,6 (Doucet, 2006). Au Burundi, très peu de sols ont un pH optimal. Il est aussi rare de trouver des sols basiques ayant un pH supérieur à 7. Des cas de forte acidité (pH inférieur à 5) sont connus dans certaines régions du pays comme Mugamba et certains coins de Kirimiro etc.

Le tableau IV montre une synthèse des facteurs pouvant influencer la qualité du thé dans les 5 régions théicoles du Burundi.

Tableau IV: Facteurs physicochimiques des régions théicoles burundaises.

Région théicole	**Facteurs physicochimiques**			
	Altitude (m)*	**pH#**	**Précipitation (mm/an)***	**Température (°C)***
Buhoro	Proche de 2000	5,01 – 5,5	2000	relativement élevée 20
Ijenda	2000 à 2200	5,01 – 5,5	1300-1700	de 15 à 21
Rwegura	2050 à 2500	5,01 – 5,5	1700	de 15 à 21
Tora	Proche de 2255	< 5	-	12 à 18
Teza	Légèrement > 2000	5,01 – 5,5	1500	autour de 14

*Données de Ndayisaba (Ndayisaba, 2019), # Données de Nduwimana (Nduwimana & al. 2013).

Rappelons que dans la province de Mwaro ne possède pas d'usine de transformation du thé. La partie proche d'Ijenda (ex: commune Rusaka) vend ses thés à l'usine de transformation se trouvant à Ijenda en province de Bujumbura alors que celle de Gisozi vend ses thés à l'usine de transformation de Tora en province Bururi. Pourtant à Gisozi, les précipitations sont très abondantes et régulières (1500 mm/an) avec des basses températures pouvant descendre jusqu'à moins de 12 ℃, constituant ainsi une contrainte pour la culture du thé car cette température peut entrainer un arrêt de croissance du thé. C'est ainsi donc que les Manipuri Hybrides de Chine, variétés qui s'adaptent aux basses températures ont été proposés dans certains endroits de Gisozi et vendues à Tora (Ndayisaba, 2019).

CHAPITRE II: MATERIELS ET METHODES

II.1. Echantillonnage

Dans l'ensemble les thés noirs sont produits par OTB et on ne compte que neufs catégories montrées à la figure 6. On distingue les catégories de première ligne de celles de deuxième ligne en fonction d'une contenance des fibres. En effet, celles de la première ligne sont sans fibres et sont distinguées de façon croissante selon la taille de grains: Dust One (D1), Pekoe Dust (PD), Pekoe Fannings One (PF1) et Broken Pekoe One (BP1). Celles de la deuxième ligne sont dérivées de celles de la première ligne et possèdent des fibres. On distingue, Dust (D) avec peu de fibres et grains de petite taille, Fannings One (FS1) avec peu de fibres et taille moyenne des grains, Fannings One(F1) avec beaucoup de fibres et taille moyenne des grains, Fannings (FS) avec fibres et grande taille des grains et Broken Mixed Fung (BMF) constituée uniquement par de fibres.

Dans le présent travail, on a utilisé 31 échantillons issus de la récolte du mois de Mars 2021 à Juin 2021 en provenance de l'OTB. Ces échantillons utilisés sont repartis selon les usines que compte l'OTB.

- ✓ 6 échantillons provenant de Tora (BP1, PF1, PD, D1, D et FS1);
- ✓ 6 échantillons provenant de Teza (BP1, PF1, PD, D1, D et FS1);
- ✓ 6 échantillons provenant de Buhoro (BP1, PF1, PD, D1, D et FS);
- ✓ 6 échantillons provenant de Rwegura (BP1, PF1, PD, D1, F1 et BMF);
- ✓ 7 échantillons provenant d'Ijenda (BP1, PF1, PD, D1, D, F1 et BMF).

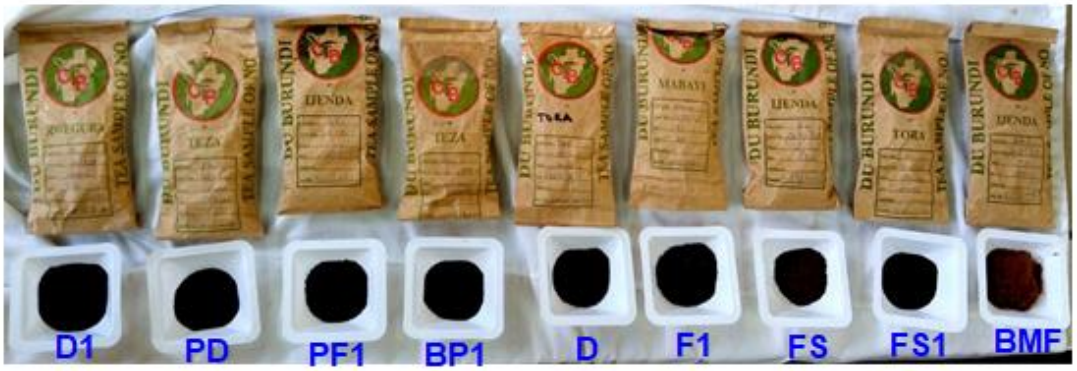


Figure 6: Catégories de thé noir produites au Burundi.

II.2. Matériels

Des produits chimiques de qualité analytique ont été utilisés. Il s'agissait de la caféine pure (Merck 2584, Germany) et du dichlorométhane. Les matériels étaient constitués d'un spectrophotomètre (Jenway 6705 UV/Vis) pour mesurer l'absorbance et la balance analytique (Ohaus Pioneer; Ohaus Corporation, Parsippany, NJ, USA) pour peser la masse des échantillons. Les logiciels utilisés sont Excel et SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) (IBM, 2017) pour le traitement et l'analyse des données, OriginPro9.1 (Origin Lab, Northampton, MA) pour le traçage des graphiques et Chemskech Acd/Chemskech, 2022) pour dessiner les structures chimiques des molécules.

II.3. Préparation de solutions étalons

La préparation des solutions étalons était basée sur la méthode de Seyoum (Seyoum, 2017) avec modification. 20 ml de dichlorométhane ont été versés dans une fiole jaugée de 50 ml contenant 0,0085 g de caféine pure. Le mélange a été soigneusement agité pour faciliter la dissolution. En fin, le dichlorométhane a été ajouté à la solution ainsi obtenue jusqu'au trait de jauge. La solution a été agitée pendant 30 min à l'aide d'un agitateur magnétique en vue d'obtenir une solution mère homogène. La concentration de la solution mère a été calculée à l'aide de l'équation (1):

$$C_0 = \frac{m}{M \times V} \qquad (1)$$

où

C_0: concentration (x 10^{-4} mol/l);

m: masse de la caféine (en g);

M: masse molaire de la caféine (en g/mol);

V: volume de la solution (en L).

La solution contrôle a été préparée de la même manière que celle de la solution mère mais en utilisant une masse de 0,0062 g de caféine pure.

Les solutions filles ont été préparées en versant respectivement 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml et 5 ml de la solution mère dans 5 fioles jaugées de 50 ml et 2 ml de la solution contrôle dans aussi une fiole de 50 ml. Le dichlorométhane a été ensuite ajouté dans chacune des fioles jusqu'au trait de jaugé. Les concentrations des solutions filles et contrôle ont été calculées à l'aide de l'équation (2):

$$C_1 = \frac{C_0 \times V_0}{V_1} \qquad (2)$$

où

C_0: concentration de la solution mère (x 10^{-4} mol/L);

V_0: volume à prélever (en L);

C_1: concentration connue (x 10^{-5} mol/L);

V_1: volume à préparer (en L).

II.4. Préparation de l'échantillon

II.4.1. Solubilisation du thé

L'infusion du thé à analyser a été préparée selon la méthode de Atomssa et Gholap (Atomssa & Gholap, 2011) avec modification. 17±0,5 mg du thé noir (pour chaque catégorie) bien broyés ont été mis dans un bécher de 50 ml dans lequel on a ajouté 10 ml d'eau distillée bouillante. A l'aide d'un agitateur magnétique, le mélange ainsi obtenu a été ensuite agité pendant 3 min puis filtré sur un papier filtre et refroidi à température ambiante.

L'infusion du thé noir buvable est préparée selon la méthode de l'OTB avec modification. La masse d'une cuillerée à café du thé noir est pesée puis et mise dans une tasse de 300 ml dans laquelle on a mis 250 ml d'eau du robinet bouillante, attendre 4 min puis filtrer.

II.4.2. Extraction de la caféine

La caféine dissoute dans la phase aqueuse a été extraite selon la méthode de Atomssa et Gholap (Atomssa & Gholap, 2011) avec modification. Pour l'infusion à analyser, 13 ml de dichlorométhane ont été ajoutés à l'infusion précédemment préparée, puis agité pendant 10 min à l'aide d'un agitateur magnétique. Pour l'infusion du thé buvable, 10 ml de l'infusion précédemment préparée ont été dilués jusqu'à 100 ml en ajoutant de l'eau du robinet et en homogénéisant pendant 5min. Sur une prise de 10 ml de cette solution diluée, on a procédé comme précédemment.

Les phases aqueuse et organique dichlorométhane ont été ensuite séparées à l'aide d'une ampoule à décanter, une opération qui a été répétée 4 fois. Le choix du nombre d'extraits est motivé dans II.5. Les phases organiques ainsi obtenues ont été combinées puis agitées pendant 10 min. Le volume total de la phase organique a été mesuré à l'aide de l'éprouvette graduée de 100 ml.

II.5. Détermination du nombre d'extraits

Le nombre d'extraits a été déterminé sur base de la concentration de la caféine dans chaque extrait. En effet, environ 3 ml de la phase organique précédemment obtenue ont été versés dans la cuvette en quartz. Cette dernière est placée dans le porte échantillon du spectrophotomètre pour tracer et enregistrer le spectre. Cette opération a été répétée sur 5 extraits séquentiellement obtenus. La superposition des spectres ainsi enregistrés a permis de constater que la quatrième extraction était presque confondue avec la ligne de base, preuve que l'extraction était maximale.

II.6. Mesure de l'absorbance

A l'aide d'un spectrophotomètre, l'absorbance a été lue à une longueur d'onde d'absorption maximale de 276 nm (Atomssa & Gholap, 2011; Seyoum, 2017).

II.7. Validation de la méthode

L'absorbance de la solution contrôle A calculée à l'aide de l'équation (3) a été comparée avec l'absorbance de cette même solution lue sur le spectrophotomètre.

$$A = ax + b \qquad (3)$$

où

a: pente de la droite d'étalonnage;

x: concentration de la solution contrôle (x 10^{-5} mol/l);

b: ordonnée à l'origine de la droite d'étalonnage.

II.8. Quantification de la caféine

La quantification de la teneur en caféine dans les 31 échantillons du thé noir de toutes les régions théicoles burundaises a été faite à l'aide des équations (4) et (5).

$$C = \frac{A + 0{,}0084}{0{,}1003} \qquad (4)$$

$$T = \frac{C \times M \times V \times 100}{m_e} \qquad (5)$$

où

C: concentration de l'échantillon calculée (en 10^{-5} mol/L);

A: absorbance de l'échantillon lue;

M: masse molaire de la caféine (en g/mol);

m_e: masse de l'échantillon pesée (en g);

V: volume total des 4 extraits (en L);

T: teneur en caféine (en %).

Quant à la quantification de la caféine prise immédiatement lorsqu'on prend une tasse du thé noir, on a procédé de deux manières.

a. Quantification de la masse de la caféine par simple calcul

La quantification de la masse de la caféine par simple calcul a été effectuée en utilisant la teneur trouvée dans le présent travail. Pour ce faire, on a dû utiliser l'équation (6):

$$m_O = \frac{T \times m}{100 \times y} \qquad (6)$$

où

m_0: masse de la caféine (en mg) dans une tasse de l'infusion de thé à boire ;

T: teneur en caféine trouvée dans le présent travail;

m: masse du thé noir selon la (les) cuillerée(s) (en mg);

y: nombre de tasses.

b. Quantification de la masse de la caféine en mesurant l'absorbance de la caféine

La quantification de la masse de la caféine a été aussi réalisée en mesurant l'absorbance de la caféine extraite dans l'infusion du thé à l'aide du dichlorométhane. Cette mesure a été effectuée à une longueur de 276 nm (Atomssa & Gholap, 2011; Seyoum, 2017). Les équations (4) et (7) ont servi à la détermination de la concentration et la masse de caféine respectivement en fonction de l'absorbance lue.

$$m_0' = C \times M \times \frac{V_t}{V_p} \times V_e \times h \qquad (7)$$

où

m_0': masse de la caféine (en g) dans une tasse de l'infusion du thé à boire;

C: concentration de la caféine obtenue à l'aide de l'équation (4) (en 10^{-5} mol/L);

M: masse molaire de la caféine (en g/mol);

V_t : volume de l'infusion du thé dans une tasse (en L);

V_p: volume prélevé de l'infusion du thé dans une tasse (en L);

V_e: volume total des 4 extraits (en L);

h: facteur de dilution.

II.9. Traitement des résultats

Les données ont été saisies à l'aide du tableur Excel. Les résultats des échantillons du thé noir analysés ont été traités à l'aide du logiciel SPSS. En effet, une analyse de la variance « ANOVA » couplée avec le test de Duncan a été réalisée (Heiberger & Neuwirth, 2009).

Dans cette étude, deux hypothèses ont été alors posées:

- H_0, la teneur en caféine est la même dans les échantillons.
- H_1, au moins un échantillon possède une teneur en caféine différente des autres.

La valeur numérique de la statistique obtenue pour l'échantillon considéré a permis de tirer une conclusion. Si H_0 est rejetée (p-value < 0,05) ou H_0 est maintenue dans le cas contraire. Au cas du rejet de l'hypothèse nulle, un test de Duncan a été considéré.

CHAPITRE III: PRESENTATION ET DISCUSSION DES RESULTATS

III.1. Présentation des résultats

Les teneurs en caféine contenue dans chacun des 31 échantillons du thé noir sont présentés dans les tableaux VI-X. Ces teneurs sont obtenues à l'aide de la droite d'étalonnage de la figure 7. Rappelons que la droite d'étalonnage a été obtenue à l'aide des concentrations de solutions filles, qui à leurs tours étaient obtenues à partir de l'équation (2) avec leurs absorbances respectives.

III.1.1. Droite d'étalonnage

En vue de tracer la courbe d'étalonnage reprise dans la figure 7, des solutions étalons (filles) ont été préparées. Le tableau V montre les absorbances de ces solutions en fonction de leurs concentrations en caféine.

Tableau V: Absorbances et concentrations des solutions étalons de la caféine pure.

Solution fille	Concentration (x 10^{-5}M)	Absorbance
S_1	1,74	0,167
S_2	3,48	0,347
S_3	5,22	0,521
S_4	6,96	0,675
S_5	8,70	0,873
Contrôle	2,55	0,250 ; 0,248*

Toutes les absorbances sont lues sauf celle portant * qui est calculée

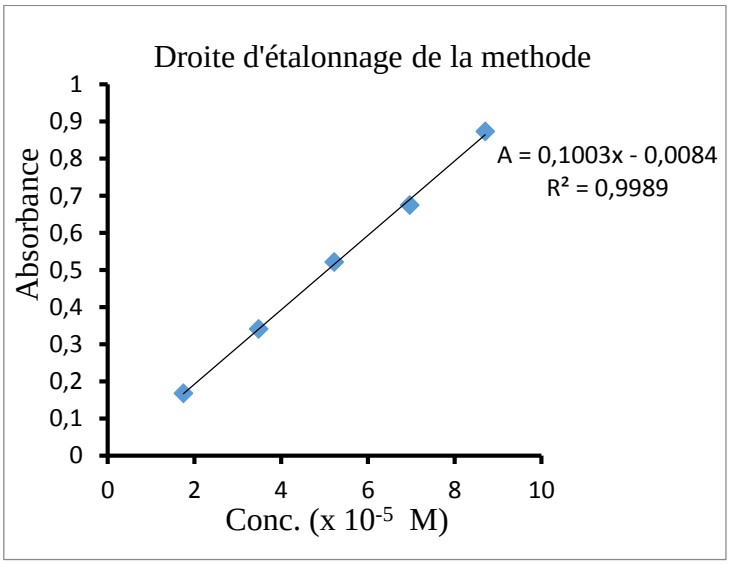


Figure 7: Droite d'étalonnage de la méthode de dosage de la caféine pure dans le dichlorométhane.

III.1.2. Spectres UV-Visible

En vue de s'assurer de la qualité de l'extraction de la caféine, un spectre d'absorption a été déterminé pour chaque extrait. La figure 8 montre la superposition de quatre spectres ainsi obtenues. Cette figure montre que la quantité de caféine diminue lorsque le numéro d'extrait augmente.

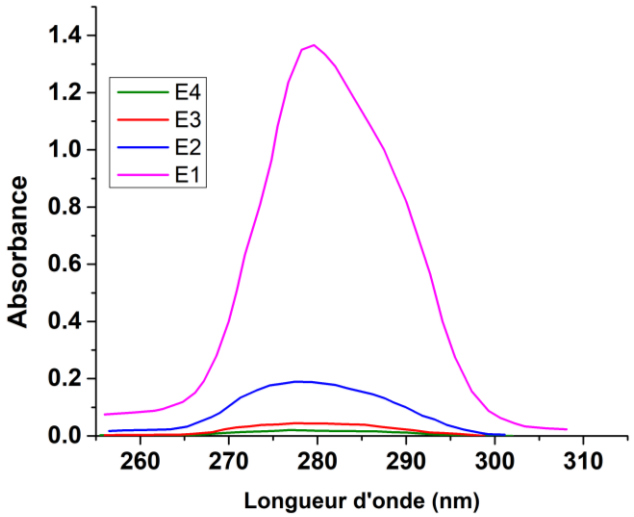


Figure 8: Superposition des spectres UV-Visible de caféine des 4 extraits dichlorométhanoliques du thé noir de la catégorie D1 de la région Buhoro.

III.1.3. Teneur en caféine des échantillons

Les valeurs des teneurs en caféine des 6 échantillons du thé noir de Rwegura sont regroupées dans le tableau VI. Les teneurs en caféine des thés noirs sans fibres (BP1, PD, D1 et PF1) sont supérieures à celles des thés noirs avec fibres (BMF et F1). D1 a une teneur élevée et BMF a une faible teneur.

Pour le cas de 7 échantillons du thé noir d'Ijenda, leurs des teneurs en caféine sont regroupées dans le tableau VII. D1 a une teneur élevée et BMF a une faible teneur. On remarque également que les teneurs en caféine des thés noirs sans fibres (BP1, PD, D1 et PF1) sont supérieures à celles des thés noirs avec fibres (BMF, F1 et D).

Tableau VI: Teneurs en caféine des thés noirs de Rwegura.

Catégorie	Masse pesée (x 10^{-3} g)	A	V (ml)	Conc. (x 10^{-5} M)	Teneur (% p/p)
	17,2	0,418	42,0	4,251	2,016
BP1	17,0	0,398	43,0	4,052	1,990
	17,4	0,418	42,0	4,251	2,016
	17,2	0,491	40,5	4,979	2,277
PD	17,4	0,496	41,0	5,029	2,301
	17,2	0,501	40,5	5,079	2,322
	17,4	0,545	39,0	5,517	2,401
D1	17,5	0,548	40,0	5,547	2,491
	17,3	0,545	39,0	5,517	2,401
	17,1	0,471	41,5	4,780	2,253
PF1	17,2	0,477	42,0	4,839	2,295
	17,4	0,456	43,5	4,630	2,248
	17,4	0,354	41,0	3,613	1,653
BMF	17,5	0,361	40,0	3,683	1,635
	17,3	0,357	42,5	3,643	1,738
	17,5	0,369	43,0	3,763	1,795
F1	17,4	0,395	44,0	4,022	1,975
	17,1	0,372	43,0	3,793	1,852

A: absorbance lue;
V: volume total des 4 extraits;
Conc: concentration calculée à l'aide de l'équation (4).

Tableau VII: Teneur en caféine des thés noirs d'Ijenda.

Catégorie	Masse pesée (x 10^{-3} g)	A	V (ml)	Conc. (x 10^{-5} M)	Teneur (% p/p)
	16,9	0,448	44,0	4,550	2,301
BP1	17,2	0,438	44,5	4,451	2,236
	17,4	0,464	43,5	4,710	2,287
	17,1	0,484	41,0	4,909	2,286
PD	17,1	0,493	40,0	4,999	2,271
	17,3	0,486	42,5	4,929	2,352
	17,3	0,469	42,0	4,760	2,348
D1	17,3	0,486	42,5	4,929	2,352
	17,1	0,492	42,0	4,989	2,380
	17,1	0,501	41,0	5,079	2,365
PF1	16,9	0,493	41,5	4,999	2,384
	17,2	0,465	43,5	4,720	2,318
	17,1	0,478	40,0	4,849	2,203
D	17,1	0,465	41,0	4,720	2,198
	17,3	0,474	40,5	4,810	2,186
	16,9	0,372	40,5	3,793	1,765
BMF	17,1	0,381	41,0	3,882	1,808
	17,3	0,388	40,0	3,952	1,774
	17,2	0,439	42,5	4,461	2,140
F1	17,1	0,432	42,5	4,391	2,119
	17,3	0,446	40,5	4,530	2,060

A: absorbance lue;
V: volume total des 4 extraits;
Conc: concentration calculée à l'aide de l'équation (4).

Les échantillons en provenance de Teza montrent une teneur élevée pour les catégories des thés sans fibres et une faible teneur pour les catégories des thés avec fibres. Le tableau VIII montre la teneur en caféine de chacune des catégories pour les 6 échantillons. D1 vient en premier lieu et FS1 vient en dernier lieu.

Tableau VIII: Teneur en caféine des thés noirs de Teza.

Catégorie	Masse pesée (x 10^{-3} g)	A	V (ml)	Conc. (x 10^{-5} M)	Teneur (% p/p)
	17,4	0,459	40,5	4,660	2,106
BP1	17,2	0,432	41,5	4,391	2,057
	17,4	0,450	41,0	4,570	2,091
	17,2	0,437	42,0	4,441	2,106
PD	17,3	0,460	41,0	4,670	2,149
	17,2	0,445	41,0	4,520	2,092
	17,1	0,533	39,0	5,398	2,391
D1	17,0	0,515	39,0	5,218	2,325
	17,1	0,468	42,5	4,750	2,292
	17,0	0,464	40,5	4,710	2,179
PF1	16,9	0,471	40,5	4,780	2,224
	16,9	0,460	41,0	4,670	2,200
	17,0	0,428	41,0	4,351	2,038
D	17,0	0,428	41,0	4,351	2,038
	17,2	0,406	40,0	4,132	1,899
	17,4	0,431	40,0	4,381	1,956
FS1	17,3	0,442	40,5	4,491	2,041
	17,3	0,402	40,0	4,092	1,837

A: absorbance lue;
V: volume total des 4 extraits;
Conc: concentration calculée à l'aide de l'équation (4).

Le tableau IX illustre les teneurs en caféine des 6 échantillons du thé noir de Tora. Une faible teneur en caféine est remarquée dans les thés noirs avec fibres alors qu'une teneur en caféine élevée est obtenue dans les thés noirs sans fibres. D1 possède une teneur élevée contre FS1 qui a une faible teneur en caféine.

Pour les échantillons du thé noir de Buhoro on a également trouvé une teneur élevée dans les thés noirs sans fibres et une faible teneur en caféine dans les thés noirs avec fibres. D1 est toujours en tête et FS est en dernière position. Ces résultats sont présentés dans le tableau X.

Tableau IX: Teneur en caféine des thés noirs de Tora.

Catégorie	Masse pesée (x 10^{-3} g)	A	V (ml)	Conc. (x 10^{-5} M)	Teneur (% p/p)
	17,3	0,527	40,0	5,338	2,397
BP1	17,3	0,508	39,5	5,149	2,283
	16,9	0,487	40,0	4,939	2,270
	16,9	0,517	40,0	5,238	2,408
PD	17,1	0,522	42,5	5,288	2,552
	17,0	0,535	40,0	5,418	2,475
	17,3	0,538	42,0	5,448	2,568
D1	17,2	0,543	42,0	5,498	2,607
	17,1	0,518	41,5	5,248	2,473
	16,9	0,508	41,5	5,149	2,455
PF1	17,3	0,542	41,0	5,488	2,525
	17,1	0,516	42,0	5,228	2,494
	17,1	0,507	40,5	5,139	2,363
D	17,0	0,493	40,5	4,999	2,313
	17,1	0,509	41,0	5,159	2,402
	17,2	0,458	42,5	4,650	2,231
FS1	17,1	0,468	42,0	4,750	2,265
	17,3	0,492	42,0	4,989	2,352

A: absorbance lue;
V: volume total des 4 extraits;
Conc: concentration calculée à l'aide de l'équation (4).

Tableau X*:* Teneur en caféine des thés noirs de Buhoro.

Catégorie	Masse pesée (x 10^{-3} g)	A	V (ml)	Conc. (x 10^{-5} M)	Teneur (% p/p)
	17,4	0,501	39,0	5,079	2,211
BP1	17,1	0,509	38,0	5,159	2,226
	17,2	0,512	38,0	5,188	2,226
	17,0	0,488	41,0	4,949	2,318
PD	17,1	0,475	40,5	4,820	2,217
	17,1	0,478	40,5	4,849	2,230
	16,8	0,470	42,0	4,770	2,316
D1	16,9	0,471	41,0	4,780	2,252
	17,0	0,505	39,5	5,119	2,310
	17,2	0,528	38,5	5,348	2,325
PF1	17,2	0,498	39,0	5,049	2,223
	16,8	0,528	38,5	5,348	2,325
	17,3	0,471	41,0	4,780	2,200
D	17,3	0,469	41,5	4,760	2,217
	17,2	0,451	42,0	4,580	2,172
	17,4	0,476	40,0	4,830	2,156
FS	17,3	0,465	41,5	4,720	2,199
	17,5	0,488	40,0	4,949	2,197

A: absorbance lue;
V: volume total des 4 extraits;
Conc: concentration calculée à l'aide de l'équation (4).

III.1.4. Teneurs moyennes en caféine de 31 échantillons

Les résultats d'analyse statistique sont donnés dans le tableau XI. Les teneurs moyennes en caféine des 31 échantillons (tableau 6 jusqu'à 10) ont été analysés. Pour chaque région théicole, au moins 6 valeurs moyennes sont données. Certaines valeurs moyennes trouvées sont proches les unes des autres alors que d'autres ne le sont pas.

Tableau XI: Teneur en caféine des différentes catégories de thé des 5 régions théicoles.

	Régions théicoles				
Catégorie	**Rwegura**	**Ijenda**	**Teza**	**Tora**	**Buhoro**
BP1	2,007±0,015	2,274±0,034	2,084±0,025	2,316±0,069	2,221±0,008
PD	2,300±0,022	2,267±0,021	2,115±0,029	2,478±0,072	2,255±0,054
D1	2,431± 0,051	2,361±0,016	2,336±0,050	2,549±0,068	2,292±0,036
PF1	2,264 ±0,026	2,355±0,033	2,201±0,022	2,491±0,035	2,291±0,058
BMF	1,675±0,055	1,782±0,022	-	-	-
F1	1,874±0,091	2,106±0,041	-	-	-
FS1	-	-	1,944±0,102	2,282±0,062	-
D	-	2,195±0,008	1,954 ± 0,080	2,359±0,044	2,196±0,022
FS	-	-	-	-	2,184±0,024

Le signe – indique que la catégorie n'est pas produite dans la région considérée.

a. Classement des échantillons du thé noir en fonction des teneurs en caféine

La figure 9 (issue des résultats du tableau XI) illustre le classement des échantillons des thés noir en fonction de la teneur moyenne en caféine pour chacune des 5 régions théicoles. Cette figure montre le classement décroissant des échantillons en teneur en caféine.

- Rwegura: la teneur moyenne en caféine varie de 2,431±0,051 % pour D1 à 1,675±0,055 % pour BMF. Le classement est alors D1 > PD > PF1 > BP1 > F1 > BMF;
- Ijenda: le classement est D1 > PF1 > BP1 > PD > D > F1 > BMF. On observe une teneur moyenne variant entre 2,361±0,016 % pour D1 à 1,782±0,022 % pour BMF;
- Teza: le classement est D1> PF1 > PD > BP1 > D > FS1 avec une teneur moyenne qui varie de 2,336 ± 0,050 % pour D1 à 1,944±0,102 % pour FS1;
- Tora: la teneur moyenne varie entre 2,549±0,068 % pour D1 à 2,282±0,062 % pour FS1. Le classement est D1 > PF1 >PD > D > BP1> FS1;
- Buhoro: ici on a une variation de la teneur moyenne en caféine qui varie entre 2,292±0,036 % pour D1 à 2,184±0,024 % pour FS. Le classement est D1 > PF1> PD > BP1 > D > FS.

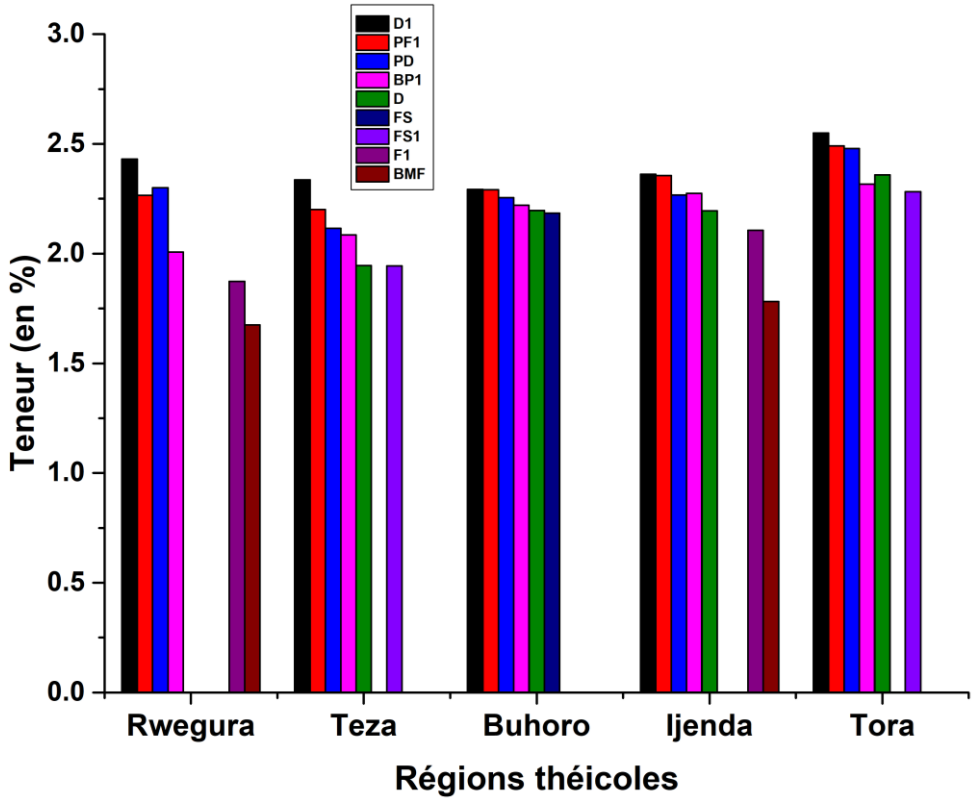


Figure 9: Teneur en caféine des échantillons du thé noir des cinq régions théicoles.

b. Comparaison des échantillons en fonction des teneurs en caféine

La comparaison des teneurs moyennes pour les catégories du thé produites dans chacune des régions théicoles ainsi que les résultats du test de Duncan sont représentés dans le tableau XII. L'analyse de la variance montre que la valeur de p-value est inférieure à 0,05 dans tous les cas. Cela suggère ainsi que la teneur en caféine entre les catégories du thé d'une même région est statistiquement différente. Néanmoins, le test de Duncan montre que les catégories PD et PF1 possèdent des teneurs en caféine statistiquement identiques sauf à Ijenda.

Pour une même catégorie du thé, la valeur de p-value est inférieure à 0,05 dans toutes catégories du thé noir. On conclut alors que la teneur en caféine d'une même catégorie est statistiquement différente dans les 5 régions. Le test de Duncan a montré certaines teneurs statistiquement identiques. En effet, la teneur en caféine de BP1, D1, PD, PF1 et D est identique dans les régions d'Ijenda et Buhoro. On signale que le test de Duncan a été possible seulement pour la catégorie de thé produite dans au moins trois régions. Ces résultats sont enregistrés dans le tableau XIII.

Tableau XII: Comparaison des teneurs moyennes des catégories de thé d'une même région.

	Régions théicoles				
Catégorie	**Rwegura**	**Ijenda**	**Teza**	**Tora**	**Buhoro**
BP1	$2{,}007^{c}$	$2{,}274^{b}$	$2{,}084^{c}$	$2{,}316^{b}$	$2{,}221^{ab}$
PD	$2{,}300^{b}$	$2{,}267^{b}$	$2{,}115^{bc}$	$2{,}478^{a}$	$2{,}255^{ab}$
D1	$2{,}431^{a}$	$2{,}361^{a}$	$2{,}336^{a}$	$2{,}549^{a}$	$2{,}292^{a}$
PF1	$2{,}264^{b}$	$2{,}355^{a}$	$2{,}201^{b}$	$2{,}491^{a}$	$2{,}291^{a}$
BMF	$1{,}675^{e}$	$1{,}782^{e}$	-	-	-
F1	$1{,}874^{d}$	$2{,}106^{d}$	-	-	-
FS1	-	-	$1{,}944^{d}$	$2{,}282^{b}$	-
D	-	$2{,}195^{c}$	$1{,}945^{d}$	$2{,}359^{b}$	$2{,}196^{b}$
FS	-	-	-	-	$2{,}184^{b}$
p-value	0,000	0,000	0,000	0,017	0,001

Le signe – indique que la catégorie n'est pas produite dans la région considérée;
Dans une colonne, les mêmes exposants indiquent que les teneurs en caféine sont statistiquement identiques.

Tableau XIII: Comparaison des teneurs moyennes d'une même catégorie de thé noir.

	Catégorie				
Régions théicoles	**BP1**	**PF1**	**D1**	**PD**	**D**
Rwegura	$2{,}007^{d}$	$2{,}265^{cd}$	$2{,}431^{b}$	$2{,}300^{b}$	-
Teza	$2{,}084^{c}$	$2{,}201^{d}$	$2{,}336^{c}$	$2{,}115^{c}$	$1{,}945^{c}$
Buhoro	$2{,}221^{b}$	$2{,}291^{cb}$	$2{,}292^{c}$	$2{,}255^{b}$	$2{,}196^{b}$
Ijenda	$2{,}274^{ab}$	$2{,}355^{b}$	$2{,}361^{bc}$	$2{,}267^{b}$	$2{,}195^{b}$
Tora	$2{,}316^{a}$	$2{,}491^{a}$	$2{,}549^{a}$	$2{,}478^{a}$	$2{,}359^{a}$
p-value	0,000	0,000	0,001	0,000	0,000

Le signe – indique que la catégorie n'est pas produite dans la région considérée;
Dans une colonne, les mêmes exposants indiquent que les teneurs en caféine sont statistiquement identiques.

III.1.5. Teneur en caféine de l'infusion du thé à boire

Signalons d'abord que nous avons choisi d'analyser deux échantillons D1 de Tora et PF1 de Teza parmi les 31 échantillons de thé parce que D1 est plus riche en caféine et que PF1 est beaucoup disponible sur le marché burundais et moins riche en caféine. Après la détermination de la teneur en caféine dans l'infusion du thé à boire (par utilisation du protocole de l'OTB), les résultats montrant la teneur contenue dans ce thé font l'objet du tableau XIV et de la figure 10. Dans tous les cas, la masse de caféine calculée est différente de la masse de caféine expérimentale

Tableau XIV: Masse en caféine dans une tasse du thé noir de 250 ml.

	Valeurs expérimentales				Valeurs Calculées
Catégorie de thé	**V (ml)**	**A**	**Conc. (x 10^{-5} M)**	**m_0' (mg)**	**m_0 (mg)**
PF1 (2305 mg)*	38,3	0,154	1,619	30,00±1,00	50,73
D1 (2240 mg)*	34,0	0,233	2,406	39,66±0,57	57,09

* est la masse d'une cuillerée à café; V est le volume, A est l'absorbance, m_0' est la masse de caféine selon l'éq. (7) et m_0 celle obtenue avec l'éq. (6).

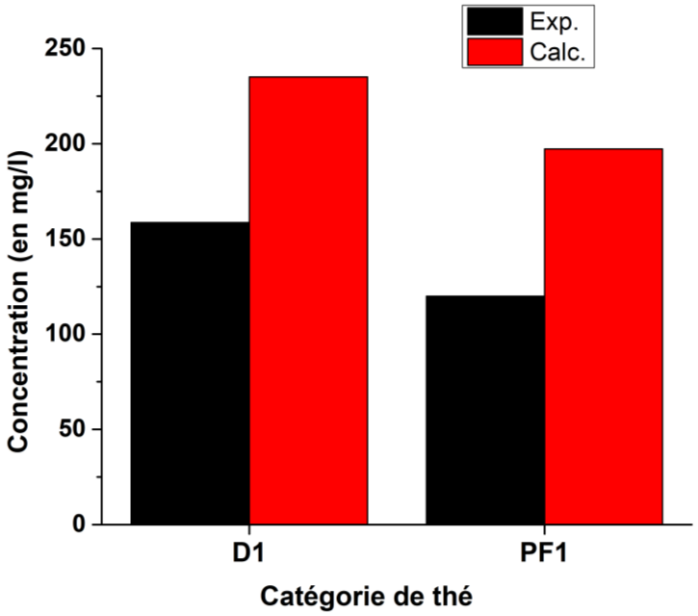


Figure 10: Concentration de caféine (en mg/l) dans l'infusion de thé à boire de D1 et PF1 en provenance de Tora et Teza respectivement.

Le thé noir produit au Burundi pourrait contenir d'autres substances comme le montre la figure 11. En effet, lors de l'extraction de la caféine, le spectre fourni par le spectrophotomètre a montré un pic de caféine avec une apparition d'un autre pic à une longueur d'absorption maximale de 220 nm. Cela reflète alors une nouvelle molécule.

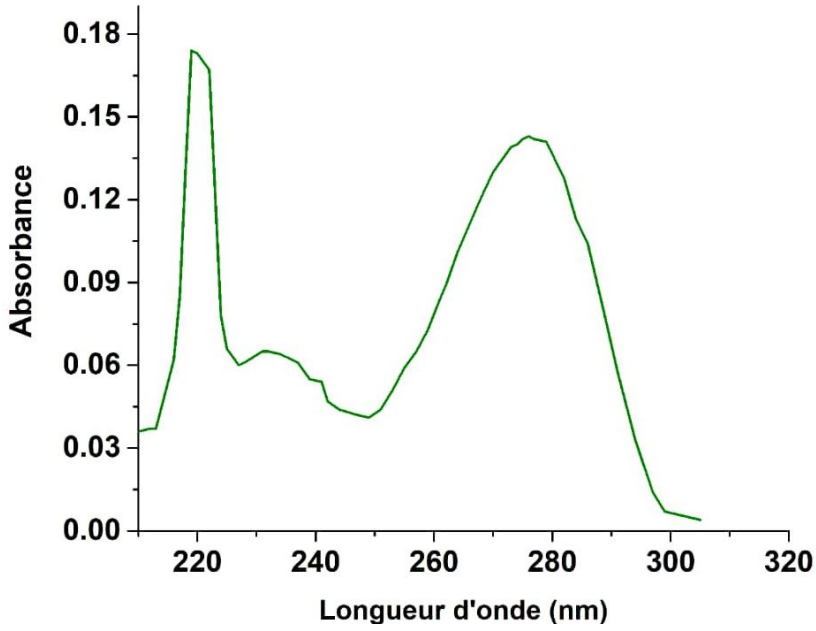


Figure 11: Spectre UV-Visible de l'extrait dichlorométhanolique de l'infusion du thé noir de la catégorie D1 provenant de Tora.

III.2. Discussion des résultats

Les méthodes utilisées pour la quantification et l'extraction de la caféine dans les échantillons du thé ont été testées. D'une part, la droite d'étalonnage obtenue a montré une bonne corrélation car $R^2 = 0,9989$ (figure 7). D'autre part, la différence entre l'absorbance lue et celle calculée pour la solution contrôle était de 0,002 (tableau V). De plus, comme introduit dans la section II.5, la figure 8 montre que l'extraction de la caféine était maximale au 4ème extrait. En effet, son spectre était proche de la ligne de base et de plus son absorbance avait une valeur de 0,029 pour la catégorie D1 provenant de Buhoro. Cette valeur (0,029) correspondait à celle proposée par Sharif (2014). Cet auteur a montré que c'est inutile de continuer l'extraction lorsque l'absorbance du dernier extrait est inférieure à 0,05 (Sharif & al., 2014).

En général, la teneur en caféine des 31 échantillons du thé noir analysés dans le présent travail se situe dans la plage des valeurs rapportées dans la littérature concernant la teneur de la caféine dans les feuilles du thé (1 à 5 %) (Fernandez & al., 2000; Perva-Uzunalić & al., 2006).

La teneur en caféine de 2,549 % pour la catégorie D1 de Tora montre que cette dernière est plus riche en caféine par rapport aux autres catégories analysées. Cette teneur est légèrement inférieure aux teneurs trouvées par Shitaw et Sergawi (2017) pour deux catégories du thé noir (Kokeb black tea 2,760 % et Ermon Black tea 2,710 %) commercialisées en Ethiopie (Shitaw & Sergawi, 2017). On peut dire d'une part que la teneur en caféine élevée de Tora serait probablement due au fait que le sol de la région théicole Tora possède un pH très acide par rapports autres régions (tableau IV). D'autre part, cette teneur serait due aux Manipuri hybrides de chine du thé provenant de Gisozi qui ne se vendent nulle part sauf à Tora.

Les teneurs en caféine de 2,361 % (D1) et de 2,355 % (PF1) provenant de Ijenda, de 2,359 % (D) provenant de Tora sont similaires aux teneurs de 2,360% obtenues par Atomssa et Ghalop (2011) lorsqu'ils déterminaient la teneur en caféine de thé commercialisées en Ethiopie (Atomssa & Gholap, 2011). Pour les teneurs en caféine de 2,336 % (D1) provenant de Teza et de 2,300 % (PD) provenant de Rwegura, elles sont similaires aux teneurs de 2,322 % et 2,344 % obtenues par Boros et ses collaborateurs en 2016 lorsqu'ils déterminaient la teneur en caféine dans le thé noir commercialisés dans une boutique du thé à Hungary (Boros & al., 2016). Aussi les teneurs en caféine de 2,195 % (D) et de 2,106 % (F1) provenant d'Ijenda et la teneur en caféine de 2,196 % (D) et de 2,186 % (FS) provenant de Buhoro sont proches à celles de 2,145% obtenus par Misra et ses collègues (2009) lorsqu'ils déterminaient la teneur en caféine du thé noir commercialisé en Madhya Pradesh (India) (Misra & al., 2009).

La similarité de la teneur en caféine de chacune des 5 catégories du thé noir (BP1, D1, PD, PF1 ou D) des régions d'Ijenda et Buhoro (tableau XIII) serait due au fait que le pH du sol, l'altitude et la température sont presque identiques dans ces régions (tableau IV). Quant à la différence de teneur en caféine de PF1 et PD observée à Ijenda (tableau XII), on n'a pas trouvé une raison pour l'expliquée.

Pour l'infusion du thé prêt à être bue, les valeurs réelles de caféine trouvées (30,00 et 39,66 mg/tasse de 250 ml) pour PF1 provenant de Teza et D1 provenant de Tora (tableau XIV) étaient d'une part, similaires à celles trouvées par Lelo et ses collèges (1986). Ils ont trouvé 28,8±13,7 mg de caféine pour le thé noir consommé par 17 adultes en bonne santé pendant 24 heures (Lelo & al., 1986). D'autre part, ces valeurs étaient similaires à celles trouvées par Gilbert et ses collègues (1976) où une masse de 27 mg de caféine de concentration médiane par tasse (rangée de 8 à 91 mg) a été trouvée lors d'une analyse quantitative de 37 échantillons du thé noir préparé à la maison par les employés de I'Addiction Research Fondat (Gilbert & al., 1976).

A la lumière de ces résultats, il est clair qu'on ne peut pas déduire la teneur en caféine dans une tasse par simple calcul car il y a une différence énorme entre les valeurs calculées (théoriques) et les valeurs expérimentales (réelles) comme le montre la figure 10.

Les résultats donnent une orientation aux consommateurs du thé noir produit au Burundi et des précautions à prendre pour certaines catégories des personnes lorsqu'on utilise le mode de préparation du thé selon OTB. En général, on se sert de cette quantité de caféine par tasse d'environ 250 ml et des effets liés à la caféine mentionnée dans le tableau III pour les orientations et précautions suivantes (si on considère du thé sans sucre ajouté) :

- en général, une personne peut consommer entre 5 et 6,5 tasses par jour sans pour autant exposer sa santé (Londzin & al., 2021);
- les personnes âgées et femmes ménopausées en bonne santé peuvent boire au plus 7 tasses par jour mais pour une courte durée (Harris & Dawson-Hughes, 1994);
- les hypertendus peuvent prendre au plus 3,5 tasses par jour sans porter préjudice à leur santé (Mahmud & Feely, 2001);
- les sportifs ou toute personne exerçant une activité physique, par exemple une personne de 60 kg ayant 1,60 m, peuvent consommer entre 2,5 et 3,5 tasses, et cela en vue d'augmenter l'endurance musculaire pourvu que le thé soit bu une heure avant l'activité (Polito & al., 2016);

- les femmes ayant les problèmes d'uriner peuvent boire au plus 5 tasses de thé par jour (Arya & al., 2000);
- pour les personnes qui ont fait un jeûne de 10 heures, au plus 3,5 tasses sinon elles auront une perte d'ions calcium (Massey & Berg, 1985).

Le thé n'est pas la seule source de la caféine d'où le contrôle et la maîtrise des autres boissons ou aliments reste important. De plus, le thé noir produit au Burundi pourrait contenir d'autres substances comme l'ont montré les résultats de la figure 11. Cela parce que lors de l'extraction de la caféine, le spectre fourni par le spectrophotomètre a montré un pic de caféine avec une apparition d'un autre pic à une longueur d'absorption maximale de 220 nm. Cela reflète une nouvelle molécule qui pourrait être probablement de la théanine ou ses dérivés lorsqu'on fait référence aux résultats de Fatiha Sebih (2014) et de Boros et ses collaborateurs (2016). Ces auteurs ont détecté cette substance à une longueur d'absorption maximale de 214 nm **(**Sebih, 2014) et 210 nm (Boros & al., 2016) respectivement en utilisant HPLC**.** Des études plus approfondies sur le thé noir produit au Burundi seraient alors nécessaires pour d'autres composés chimiques et de façon particulière les alcaloïdes et les acides aminés.

CONCLUSION GENERALE ET RECOMMANDATIONS

La teneur en caféine de 31 échantillons de thé noir produit par l'OTB a été déterminée en utilisant la technique d'extraction liquide-liquide suivie de la spectrophotométrie. La teneur en caféine la plus élevée a été trouvée dans la catégorie du thé noir D1 provenant de Tora (2,549±0,068 %) tandis que la catégorie du thé noir BMF provenant de Rwegura était caractérisée par la plus faible teneur en caféine (1,675±0,055 %) et se situent dans la marge des valeurs rapportées (1 à 5 %) concernant la teneur de la caféine dans les feuilles du thé.

Une différence significative de la teneur en caféine a été observée entre les différentes catégories de thé noir au sein de la même région théicole et au sein de la même catégorie de thé pour les cinq régions théicoles d'une manière générale.

Les masses en caféine de 30,00±1,00 mg et 39,66±0,57 mg pour les catégories PF1 provenant de Teza et D1 provenant de Tora respectivement ont été trouvées comme quantité de caféine dans une tasse d'environ 250 ml du thé noir préparé à l'aide du protocole de l'OTB.

Les résultats de cette étude montrent que des précautions dans la consommation du thé noir produit par l'OTB sont à prendre selon l'âge, le sexe et l'état de santé du consommateur.

Compte tenu de la variabilité de la teneur en caféine pour les 31 échantillons analysés, il serait utile que l'OTB précise sur l'étiquette la teneur en caféine de chaque catégorie du thé noir commercialisée.

Des études complémentaires seraient nécessaires en vue de connaitre la composition chimique du thé noir produit au Burundi. Comme nous venons de le faire avec la caféine, nous invitons d'autres chercheurs à déterminer la teneur du thé noir en théobromine et en théophylline, deux autres alcaloïdes de la même famille que la caféine, étant donné leurs effets positifs ou négatifs sur l'organisme humain à une certaine dose. De façon particulière, nous les invitons également à l'étude de sa composition en théanine, un acide aminé dont l'activité sur le cerveau permettrait une réduction du stress mental et physique et dont notre étude a révélé une présence probable dans les échantillons analysés.

BIBLIOGRAPHIE

Acd/Chemskech. (2022). version 2021.1.3, Advanced Chemistry Development, Inc., Toronto, on, Canada, www.acdlabs.com. (Consulté le 20/01/2022).

Ad, N., & Zekri, O. (2019). Caractérisation phytochimique et étude de quelques activités biologiques de deux plantes, Capparis spinosa et Camellia sinensis. Mémoire de Master, Universite Echahid Hamma Lakhdar D'el-Oued, Algérie.

Andrews, K. W., Schweitzer, A., Zhao, C., Holden, J. M., Roseland, J. M., Brandt, M., Dwyer, J. T., Picciano, M. F., Saldanha, L. G., Fisher, K. D., & others. (2007). The caffeine contents of dietary supplements commonly purchased in the US: analysis of 53 products with caffeine-containing ingredients. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, *389*(1), 231–239.

Arce, L., Ríos, A., & Valcárcel, M. (1998). Determination of anti-carcinogenic polyphenols present in green tea using capillary electrophoresis coupled to a flow injection system. *Journal of Chromatography A*, *827*(1), 113–120. https://doi.org/10.1016/S0021-9673(98)00737.

Arya, L. A., Myers, D. L., & Jackson, N. D. (2000). Dietary caffeine intake and the risk for detrusor instability: a case-control study. *Obstetrics \& Gynecology*, *96*(1), 85–89.

Atomssa, T., & Gholap, A. V. (2011). Characterization of caffeine and determination of caffeine in tea leaves using uv-visible spectrometer. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, *5*(1), 1–8.

Belay, A., Ture, K., Redi, M., & Asfaw, A. (2008). Measurement of caffeine in coffee beans with UV/vis spectrometer. *Food Chemistry*, *108*(1), 310–315.

Bolton, S., & Null, G. (1981). Caffeine: Psychological effects, use and abuse. *Orthomolecular Psychiatry*, *10*(3), 202–211.

Boros, K., Jedlinszki, N., & Csupor, D. (2016). Theanine and caffeine content of infusions prepared from commercial tea samples. *Pharmacognosy Magazine*, *12*(45), 75.

Böttger, A., Vothknecht, U., Bolle, C., & Wolf, A. (2018). Plant secondary metabolites and their general function in plants. *In Lessons on caffeine*, *cannabis* \& co (pp. 3–17). Springer.

Brouillet, A.-S. (1997). Contribution à l'étude d'un paysage théier: l'exemple des petits exploitants de Kericho (Kenya*)*.

Del Rio, D., Stewart, A. J., Mullen, W., Burns, J., Lean, M. E. J., Brighenti, F., & Crozier, A. (2004). HPLC-MSn analysis of phenolic compounds and purine alkaloids in green and black tea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *52*(10), 2807–2815.

Doucet. (2006). Le climat et les sols agricoles. Berger. Eastman, *Québec*. XV, p. 443

Enzveiler, L., Gressler, G., Heckler, E., Picoli, S., & Suyenaga, E. S. (2011). Evaluation of antimicrobial activity of aqueous extract of white tea (Camellia sinensis) L. *Kuntze (1887). Pharmacologia*, *2*(5), 2011.

Fernandez, P. L., Martin, M. J., Gonzalez, A. G., & Pablos, F. (2000). HPLC determination of catechins and caffeine in tea. Differentiation of green, black and instant teas. *Analyst*, *125*(3), 421–425.

Flaten, V., Laurent, C., Coelho, J. E., Sandau, U., Batalha, V. L., Burnouf, S., Hamdane, M., Humez, S., Boison, D., Lopes, L. V, & others. (2014). From epidemiology to pathophysiology: what about caffeine in Alzheimer's disease? *Biochemical Society Transactions*, *42*(2), 587–592.

Flemal, J., & others. (1986). La culture du théier au Burundi, p. 24.

IBM Corp. (2017). IBM SPSS Statistics for Windows. Armonk, NY: IBM Corp. Retrieved from https://hadoop.apache.org (consulté le 20/01/2022).

ISTEEBU. (2021). Bulletin du commerce extérieur de marchandises*, ISTEEBU,* p. 52, Rapport trimestriel.

Gihimbare, A., Ndabirorere, S., Ruzima S. (2011). Etude sur les coûts de l'inaction contre la dégradation des sols au Burundi. *Mineagrie*. p.p.1-108.

Gilbert, R. M., Marshman, J. A., Schwieder, M., & Berg, R. (1976). Caffeine content of beverages as consumed. *Canadian Medical Association Journal*, *114*(3), 205.

Guo, S., Zhu, Q., Yang, B., Wang, J., & Ye, B. (2011). Determination of caffeine content in tea based on poly (safranine T) electroactive film modified electrode. *Food Chemistry*, *129*(3), 1311–1314.

Hallaj, R., Soltani, E., Mafakheri, S., & Ghadermazi, M. (2021). A surface-modified silicon carbide nanoparticles based electrochemical sensor for free interferences determination of caffeine in tea and coffee. *Materials Science and Engineering: B*, *274*, 115473.

Harris, S. S., & Dawson-Hughes, B. (1994). Caffeine and bone loss in healthy postmenopausal women. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *60*(4), 573–578.

Haslam, E. (2003). Thoughts on thearubigins. *Phytochemistry*, *64*(1), 61–73.

Heiberger, R. M., & Neuwirth, E. (2009). One-way anova. In *R through excel* (pp. 165–191). Springer.

Hicks, M. B., Hsieh, Y. H. P., & Bell, L. N. (1996). Tea preparation and its influence on methylxanthine concentration. *Food Research International*, *29*(3–4), 325–330.

James, J. E., & Paull, I. (1985). Caffeine and human reproduction. *Reviews on Environmental Health*, *5*(2), 151–167.

Kerrigan, S., & Lindsey, T. (2005). Fatal caffeine overdose: two case reports. *Forensic Science International*, *153*(1), 67–69.

Kim, Y.-S., Choi, Y., & Sano, H. (2010). Plant vaccination: stimulation of defense system by caffeine production in planta. *Plant Signaling \& Behavior*, *5*(5), 489–493.

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

Krieps, M., & Luxembourg, A. (2009). Le the: origine, actualité et potentialités. Thèse de doctorat. *Faculté de pharmacie de l'Université Henri Poincaré-Nancy 1*.

Kwach, B. O., Owuor, P. O., Kamau, D. M., Msomba, S. W., & Uwimana, M. A. (2016). Variations in the precursors of plain black tea quality parameters due to location of production and nitrogen fertilizer rates in Eastern African clonal tea leaves. *Experimental Agriculture*, *52*(2), 266–278.

Lelo, A., Miners, J. O., Robson, R., & Birkett, D. J. (1986). Assessment of caffeine exposure: caffeine content of beverages, caffeine intake, and plasma concentrations of methylxanthines. *Clinical Pharmacology \& Therapeutics*, *39*(1), 54–59.

Londzin, P., Zamora, M., K\kakol, B., Taborek, A., & Folwarczna, J. (2021). Potential of Caffeine in Alzheimer's Disease. A Review of Experimental Studies. *Nutrients*, *13*(2), 537.

Łuczaj, W., & Skrzydlewska, E. (2005). Antioxidative properties of black tea. *Preventive Medicine*, *40*(6), 910–918.

Mahmood, T., Akhtar, N., & Khan, B. A. (2010). The morphology, characteristics, and medicinal properties of Camellia sinensis tea. *Journal of Medicinal Plants Research*, *4*(19), 2028–2033.

Mahmud, A., & Feely, J. (2001). Acute effect of caffeine on arterial stiffness and aortic pressure waveform. *Hypertension*, *38*(2), 227–231.

Maillet, F. (2003). Les vertus médicinales du thé (Camellia sinensis, Ternstroemiaceae): du mythe à la réalité. Thèse d'exercice: *Pharmacie, Nantes*.

Massey, L. K., & Berg, T. A. (1985). The effect of dietary caffeine on urinary excretion of calcium, magnesium, phosphorus, sodium, potassium, chloride and zinc in healthy males. *Nutrition Research*, *5*(11), 1281–1284.

Misra, H., Mehta, D, Mehta, BK., Soni, M., & Jain, DC (2009). Study of extraction and

HPTLC-UV method for estimation of caffeine in marketed tea (Camellia sinensis) granules. *Int. J. Green Pharm., 3(1)*:47-51.

Mitchell, D. C., Knight, C. A., Hockenberry, J., Teplansky, R., & Hartman, T. J. (2014). Beverage caffeine intakes in the US. *Food and Chemical Toxicology*, *63*, 136–142.

Mitscher, L. A., Jung, M., Shankel, D., Dou, J.-H., Steele, L., & Pillai, S. P. (1997). Chemoprotection: a review of the potential therapeutic antioxidant properties of green tea (Camellia sinensis) and certain of its constituents. *Medicinal Research Reviews*, *17*(4), 327–365.

Mossion, A. (2007). Étude de la composition minérale et organique des liqueurs de thé et de leurs caractéristiques organoleptiques: influence des paramètres physico-chimiques d'eau. Thèse doctoral, Université de toulouse, France.

Namita, P., Mukesh, R., & Vijay, K. J. (2012). Camellia sinensis (green tea): a review. *Global Journal of Pharmacology*, *6*(2), 52–59.

Ndayisaba, E. (2016). La région théicole d'Ijenda (Burundi) 1965 à 2011: économie et société. Mémoire de Master, Université de la Pau et de l'Adour, France.

Ndayisaba, E. (2019). Le thé au Burundi des années 1950 à 2018: politique publique de développement, rente et appropriations. Thèse doctoral, Université de la Pau et de l'Adour, France.

Nduwimana, O., Hicintuka, C., Nzohabonayo, Z., Nibasumba, M. (2013). Cartographie de la fertilité des sols du Burundi et des besoins des principales cultures vivrières en éléments nutritifs. *ISABU,* .p.p.1- 112.

Nkhili, E. (2009). Polyphénols de l'alimentation: extraction, interactions avec les ions du fer et du cuivre, oxydation et pouvoir antioxydant.

Nowaczewska, M., & Wiciński Michałand Kaźmierczak, W. (2020). The Ambiguous Role of Caffeine in Migraine Headache: From Trigger to Treatment. *Nutrients*, *12*(8), 2259.

Olsen, J., Overvad, K., & Frische, G. (1991). Coffee consumption, birthweight, and reproductive failures. *Epidemiology*, 370–374.

Owuor, O. P., Kamau, D. M., & Jondiko, E. O. (2010). The influence of geographical area of production and nitrogenous fertiliser on yields and quality parameters of clonal tea. *Journal of Food, Agriculture & Environment Vol.8 (2),* 682 - 690.

Padmini, E., Valarmathi, A., & Rani, M. U. (2010). Comparative analysis of chemical composition and antibacterial activities of Mentha spicata and Camellia sinensis. *Asian J. Exp. Biol. Sci*, *1*(4), 772–781.

Perva-Uzunalić, A., Škerget, M., Knez, Ž., Weinreich, B., Otto, F., & Grüner, S. (2006). Extraction of active ingredients from green tea (Camellia sinensis): Extraction efficiency of major catechins and caffeine. *Food Chemistry*, *96*(4), 597–605.

Polito, M. D., Souza, D. B., Casonatto, J., & Farinatti, P. (2016). Acute effect of caffeine consumption on isotonic muscular strength and endurance: a systematic review and meta-analysis. *Science \& Sports*, *31*(3), 119–128.

Sakanaka, S., Juneja, L. R., & Taniguchi, M. (2000). Antimicrobial effects of green tea polyphenols on thermophilic spore-forming bacteria. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, *90*(1), 81–85.

Sebih, F. (2014). La théanine et ses dérivés: synthèse stéréosélective et évaluation biologique sur la synapse glutamatergique. Thèse doctoral, Université Montpellier 2, France.

Senol, A., & Aydin, A. (2006). Solid--liquid extraction of caffeine from tea waste using battery type extractor: process optimization. *Journal of Food Engineering*, *75*(4), 565–573.

Seyoum, A. (2017). *D*etermination of Caffeine Concentrations of Ethiopian Export Standard Coffee Samples and the Investigation of Optical and Quantum Mechanical Transitional Properties of Caffeine Molecule by UV/VIS-Absorption Spectroscopy. Masters thesis, Addis Ababa University, Ethiopie.

Sharif, R., Ahmad, S. W., Anjum, H., Ramzan, N., & Malik, S. R. (2014). Effect of infusion time and temperature on decaffeination of tea using liquid--liquid extraction technique. *Journal of Food Process Engineering*, *37*(1), 46–52.

Shitaw, D., & Sergawi, A. (2017). Determination of Caffeine Content of Commercial Tea in Ethiopia. 3(2), 50–59.

Suteerapataranon, S., Butsoongnern, J., Punturat, P., Jorpalit, W., & Thanomsilp, C. (2009). Caffeine in Chiang Rai tea infusions: Effects of tea variety, type, leaf form, and infusion conditions. *Food Chemistry*, *114*(4), 1335–1338.

Turnbull, D., Rodricks, J. V, Mariano, G. F., & Chowdhury, F. (2017). Caffeine and cardiovascular health. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, *89*, 165–185.

Yang, C. S., Lambert, J. D., Ju, J., Lu, G., & Sang, S. (2007). Tea and cancer prevention: molecular mechanisms and human relevance. *Toxicology and Applied Pharmacology*, *224*(3), 265–273.

Yashin, A., Yashin, Y., & Nemzer, B. (2011). Determination of antioxidant activity in tea extracts, and their total antioxidant content. *American Journal of Biomedical Sciences*, *3*(4), 322–335.

Zhu, Q. Y., Zhang, A., Tsang, D., Huang, Y., & Chen, Z.-Y. (1997). Stability of green tea catechins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *45*(12), 4624–4628.