



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



**Université Amar Telidji- Laghouat**

**FACULTE : SCIENCES**

**DEPARTEMENT : SCIENCES AGRONOMIQUES**

## **MEMOIRE DE MASTER**

**Présenté par : ARAREM Ahmed**

**DOMAINE : SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE (SNV)**

**FILIERE : SCIENCES AGRONOMIQUES**

**OPTION : AGROALIMENTAIRE ET CONTROLE DE QUALITE**

### **Thème**

***Détermination de la teneur de quelques composés  
biochimiques de la poudre de cacao commercialisée***

#### **Jury de soutenance :**

<b>Nom et Prénom</b>	<b>Grade</b>	<b>Qualité</b>
Safia LOUNICI	MAA	Présidente
Samira NIA	MCB	Examinatrice
Khedidja BENAROUS	Prof	Rapporteur
LINANI ABDERAHMANE	Doc	Co-rapporteur

**Promotion : Juillet - 2021**

## Dédicace

*Je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond amour :  
A celle qui m'arrosé de tendresse et d'espoir, à la source d'amour  
Incessible, à la mère des sentiments fragiles qui ma bénie par ces  
prières ..... ma mère.*

*A ma maîtresse dévouée LOUNICI Safia pour sa entente et sa  
sympathie.*

*A mes frères AKKOUCHE Slimane st BEN REGGA Omar pour leurs  
soutiens moraux et leurs conseils précieux tout le long de mes  
études*

*A toutes les personnes de ma grande famille.*

## Remerciements

*Alhamdo li allah, qui nous a éclairé les voies de la science et de la connaissance et qui nous a aidés à compléter ce modeste travail.*

*Tout d'abord, je tiens à remercier Madame BENAROUS Khedidja professeur à l'université Ammar tlidji Laghouat, Pour avoir accepté de m'encadrer et de me diriger, de me soutenir, de m'encourager et de la confiance qu'elle m'a accordé en faisant ce travail. Et je la remercie pour ses conseils et son soutien m'ont permis d'avoir une bonne formation.*

*J'aimerais également remercier Monsieur LINANI Abderrahmane doctorant à l'université Ammar tlidji, pour m'encadrer et de me diriger au niveau de laboratoire, Je le remercie pour sa gentillesse, ses conseils précieux et surtout pour sa disponibilité durant la période de la pratique. Qu'il soit assuré de ma profonde gratitude.*

*Je veux remercier madame la présidente du jury LOUNICI Safia, maître assistante A à l'université de Laghouat et madame l'examinatrice NIA Samira, maître de conférences B pour leur acceptation de présider et d'examiner mon modeste travail.*

*En fin je remercie tous qui sont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.*

## Résumé

L'utilisation de la poudre de cacao est très courante dans les préparations de gâteaux et de confiseries, mais l'ajout d'additifs par certaines industries alimentaires peut minimiser sa valeur nutritionnelle. Le but de ce travail est de quantifier quelques métabolites primaires et secondaires de quatre lots de poudre de cacao tel que *Choco dada* (P1), *Mon dessert* (P2), *Berox food* (P3), et *Cebon* (P4), les métabolites étudiés sont les protéines, les lipides, les glucides, les polyphénols et les alcaloïdes. Les résultats montrent que la poudre de cacao est riche en protéines, lipides, et en sucres avec une moyenne de 19,40 g, 15,14 g, et 5,11 g pour 100g de poudre de cacao, respectivement. Les teneurs en alcaloïdes variaient entre 6 et 11 mg/g de matière sèche, Les teneurs en polyphénols ont été trouvés faibles et variaient entre 0,3 et 0,6 mg/g équivalent en acide gallique. D'après nos résultats, les poudres de cacao étudiées ne sont pas conformes aux normes internationales, les résultats trouvés sont inférieurs à ceux des marques mondiales telles que VAN HOUTEN et NESTLE DESSERT, ceci est peut-être dû au non-respect des recommandations internationales concernant les additifs alimentaires ou les méthodes de conservation suivie.

**Mots clé :** poudre de cacao, protéines, lipides, glucides, alcaloïdes, polyphénols

## **Abstract**

The use of cocoa powder is very common in making cakes and confectionery, but the adding of additives by some food industries may minimize its nutritional value. The aim of this work is to quantify some primary and secondary metabolites of four batches of cocoa powder such as *Choco dada* (P1), *Mon dessert* (P2), *Berox food* (P3), and *Cebon* (P4), the studied metabolites are proteins, lipids, carbohydrates, polyphenols and alkaloids. The results show that cocoa powder is rich in proteins, lipids, and sugars with an average of 19.40 g, 15.14 g, and 5.11 g per 100g of cocoa powder, respectively. Alkaloids contents varied between 6 and 11 mg/g dry matter, polyphenols contents were found low and varied between 0.3 and 0.6 mg/g. According to our results, the cocoa powders studied do not comply with the international standards, the results found are lower than global brands such as VAN HOUTEN and NESTLE DESSERT, and this may be due to the non-compliance with international recommendations on food additives or the followed conservation protocols.

**Keywords:** cocoa powder, proteins, lipids, carbohydrates, alkaloids, polyphenols

## ملخص:

إن استخدام مسحوق الكاكاو في تحضير الكعك والحلويات شائع جدا، لكن احتواءه على الإضافات الغذائية قلل من قيمته الغذائية التي تتم إضافتها بواسطة المصنعين الغذائيين. الهدف من دراستنا هو تحديد بعض المستقلبات الأولية والثانوية لأربع عينات من مسحوق الكاكاو (1م) شوكو دادا (2م) مون ديسار (3م) بيروكس فوود (4م) سيون، هاته المستقلبات متمثلة في: البروتينات، الدهون، الكربوهيدرات، متعدد الفينول والقلويدات. أظهرت نتائجنا أن مسحوق الكاكاو غني بالبروتينات، الدهون، والسكريات بمعدل 19,40 غرام و15,1 غرام و5,11 غرام لكل 100 غرام من مسحوق الكاكاو على التوالي، أما معدل القلويدات فيتراوح بين 6 و 11 ملغ لكل غرام مادة جافة. بينما كانت نسبة متعدد الفينول ضعيفة حيث تتراوح بين 0,3 و0,6 ملغ لكل غرام مادة جافة. بالاستناد إلى نتائجنا يمكننا القول إن مساحيق الكاكاو المسوقة والتي تمت دراستها لا تتوافق مع المعايير العالمية فالنتائج التي حصلنا عليها أقل من تلك الخاصة بالعلامات التجارية العالمية مثل فان هوتن ونيسلي ديسار، وهذا قد يرجع إلى عدم الامتثال للتوصيات الدولية المتعلقة بالمضافات الغذائية او الطرق المستعملة في حفظها.

**الكلمات المفتاحية:** مسحوق كاكاو، سكريات، بروتينات، دهون، قلويدات، متعدد الفينول

# Table de matière

<i>INTRODUCTION</i> .....	11
1 Généralités sur le Cacaoyer.....	13
2 Les métabolites primaires.....	15
2.1 Les protéines.....	15
2.2 Les lipides.....	15
2.3 Les glucides.....	15
3 Les métabolites secondaires.....	16
3.1 Les composés phénoliques.....	16
3.2 Les flavonoïdes.....	16
3.3 Les alcaloïdes.....	17
<i>MATERIELS ET METHODES</i> .....	18
Extraction et quantification des métabolites secondaires.....	19
1. Dosage des polyphénols totaux.....	21
2. Dosage des flavonoïdes totaux.....	22
3. Quantification des alcaloïdes totaux.....	23
Quantification des métabolites primaires.....	24
1. Dosage des protéines.....	24
2. Dosage des glucides.....	25
3. Quantification des lipides totaux.....	26
<i>RESULTATS ET DISCUSSION</i> .....	27
Extraction et quantification des métabolites secondaires.....	28
1. Teneurs obtenus pour les différents extraits.....	28
2. Dosage des polyphénols totaux.....	29
3. Dosage des flavonoïdes totaux.....	29
Quantification des métabolites primaires.....	31
1. Dosage des glucides totaux.....	31
2. Dosage des protéines.....	32
3. Quantification des lipides totaux.....	32
<i>CONCLUSION</i> .....	36
<i>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</i> .....	38

## Liste des figures

Figure 1: A : L'arbre de cacaoyer, B : Fleurs de cacaoyer, C : La feuille de cacaoyer. ....	14
Figure 2: A : La répartition mondial de cacao dans le monde B : Les principaux pays producteurs de cacao .....	15
Figure 3: Photo représente les différents filtrats obtenus à partir des poudres de cacao.....	20
Figure 4: Photos représente l'extraction liquide-liquide des polyphénols (A) et des alcaloïdes (B).....	21
Figure 5. Schéma réactionnel montre la réduction des acides contenus dans le réactif du Folin- Ciocalteu causée par l'oxydation des composés phénolique dans l'échantillon.....	22
Figure 6: Le schéma réactionnel de la formation d'un complexe du réactif $AlCl_3$ avec les flavonoïdes .....	23
Figure 7: Schéma réactionnel montre la formation d'un complexe $Cu^{2+}$ -des protéines. ....	24
Figure 8: Le schéma réactionnel des glucides avec l'acide sulfurique en présence de phénol.	25
Figure 9: La courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique. ....	29
Figure 10: La courbe d'étalonnage réalisée avec la quercétine. ....	30
Figure 11: La courbe d'étalonnage réalisée avec la rutine. ....	30
Figure 12: La courbe d'étalonnage réalisée avec le glucose.....	31
Figure 13: La courbe d'étalonnage réalisée avec l'albumine. ....	32

## Liste des tableaux

Tableau 1: La teneur des métabolites primaires après la fermentation pendant 72 heures.....	16
Tableau 2: Les différents échantillons étudiés .....	19
Tableau 3: Le rendement des composés phénoliques et alcaloïdes. ....	28
Tableau 4: Les teneurs en polyphénol totaux de poudre de cacao. ....	29
Tableau 5: La teneur en flavonoïdes totaux des poudres de cacao. ....	30
Tableau 6: les teneurs en glucides des poudres de cacao. ....	31
Tableau 7: Les teneurs en protéines des poudres de cacao. ....	32
Tableau 8: Le rendement et aspect des lipides. ....	33
Tableau 9: Valeur nutritionnelle moyenne des marques pour 100g de poudre de cacao. ....	35

---

## *INTRODUCTION*

---

*Theobroma cacao* est un arbre tropical originaire du bassin amazonien (Lennon et al., 2021) cultivé par les *Mayas* dans le nord d'Amérique il y a plus de 1500 ans, puis dispersé en Amérique centrale (Veeresh et al., 2020) et dans les régions tropicales d'Afrique de l'Ouest, Caraïbes, et d'Asie du sud-est (Lennon et al., 2021).

Le cacaoyer se trouve à l'état sauvage dans la cuvette de l'Amazone et d'autres territoires tropicaux d'Amérique centrale et du Sud (Ishaq, 2017). Trois mille ans avant notre époque, le cacaoyer poussait à l'état sauvage, dans les forêts humides de l'équateur, dans les bassins de l'Orénoque et de l'Amazone. Ces cacaoyers sylvestres se propagent au fil des migrations, dispersant les graines de ses grosses cabosses multicolores. Des dizaines de types de cacaoyers sauvages apparaissent en haute Amazonie, puis les premières populations indigènes ont sélectionné les types de cacaoyers qui leur conviennent le mieux : type " *criollo* " au Venezuela et au Pérou, type « National » en Équateur, type *Forastero Amelonado* au Brésil (Tixier, 2013).

Le chocolat est un produit issu de la transformation de la fève du cacaoyer. Les étapes de ce processus sont : l'écabossage, la fermentation, le séchage, la torréfaction, le décorticage, le broyage, le malaxage, le conchage, le tempérage, le moulage et l'enrobage. À travers ces étapes, le cacao va apparaître sous diverses formes : la pâte de cacao, masse amère et onctueuse, puis la poudre et le beurre (Adabe et Ngo-Samnack, 2014).

L'objectif de la présente étude se présente dans le contrôle de la qualité alimentaire d'une poudre de cacao de 4 lots différents à savoir : *Choco dada* (P1), *Mon dessert* (P2), *Berox food* (P3), et *Cebon* (P4). Nous allons déterminer les teneurs en quelques métabolites primaires et secondaires afin de les comparer aux normes internationales.

Dans une troisième partie, nous allons citer le matériel et les méthodes utilisées, puis nous allons présenter les résultats avec leur discussion, nous terminons par une conclusion générale et perspectives.

---

*RAPPEL BIBLIOGRAPHIQUE*

---

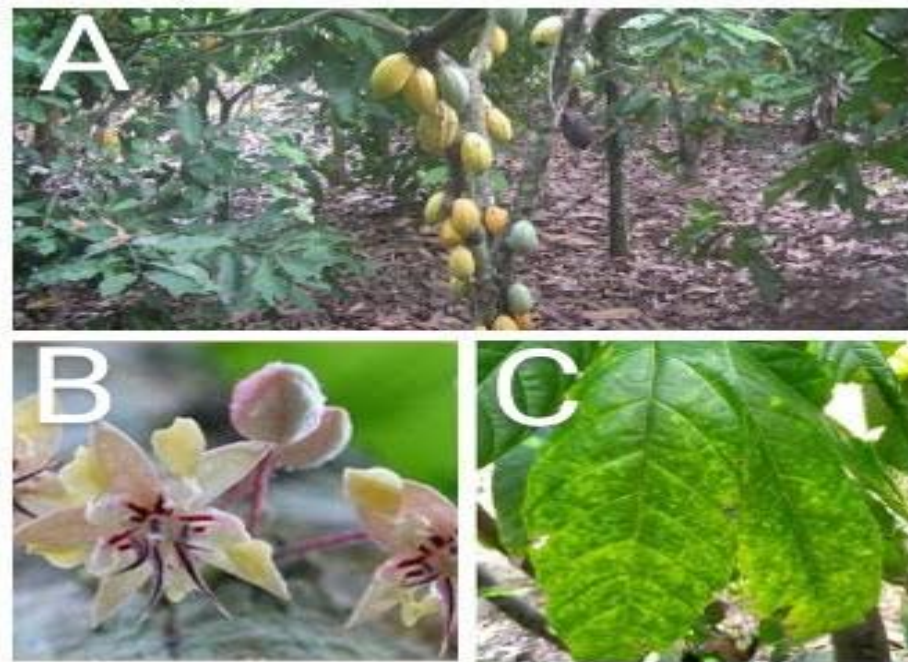
## 1 Généralités sur le Cacaoyer

La Colombie est la région la plus riche en espèces *Theobromeae* sur la base des collections d'herbiers (26 espèces de *Theobromeae* peuvent être trouvées en Colombie) (**Richardson et al, 2015**). Tout est unique dans cet arbre appelé cacao et appartient à la famille des *Sterculiacées*, genre *Theobroma*, "*Theobroma cacao*" (**Tixier, 2013**).

Quant au *Trinitario*, il résulte d'une hybridation naturelle entre du *Criollo*, survivant d'une catastrophe climatique sur l'île de Trinidad au XVIII<sup>e</sup> siècle, et du *Forastero* planté pour renouveler le verger. Toutes ces variétés ont ensuite été disséminées à travers le monde équatorial, pour constituer la quarantaine de pays producteurs actuels. Ces variétés de cacaoyers, dont les noms ont été attribués par les colons espagnols, prêtent à confusion. En 2008, une équipe internationale de chercheurs a proposé une nouvelle classification des cacaoyers en dix groupes morpho-géographiques confirmant la grande biodiversité de cette espèce. Malgré les habitudes prises depuis parfois des siècles, la nouvelle nomenclature pourrait cependant être progressivement adoptée et favoriser l'amélioration génétique et la conservation des ressources génétiques du cacaoyer (**Tixier, 2013**).

Les cacaoyers se distinguent par la structure des fruits, la couleur et le nombre de graines et la teneur en certains composants. Les cacaoyers *Criollos* ont des cabosses de forme allongée, présentant parfois un étranglement en goulot de bouteille, des sillons marqués, verruqueuses, à pointe très accentuée, vertes à rouges violacées. Les graines sont dodues, rondes et de couleur blanche ou légèrement pigmentée, à l'amertume légère. Les *Criollos* sont concentrés en Amérique centrale (Sud du Mexique, Belize, Honduras) et dans les pays du Nord de l'Amérique du Sud (Pérou, Colombie, Venezuela). Trouvé aussi dans quelques îles de l'océan indien. (**Barrau, 1979**). Les cacaoyers *Forasteros* ont des cabosses lisses, parfois verruqueuses, tantôt allongées, tantôt arrondies (amelonado), vertes à jaunes. Les cacaoyers *Trinitarios* sont des hybrides des deux précédents, très polymorphes, ils représentent tous les intermédiaires entre *Criollo* et *Forastero* (**Rojo-Poveda et al, 2020**). Le cacaoyer *Arriba*

*Nacional* a des cabosses de grande taille, vertes, très rugueuses. Ses graines sont violettes et assez grosses avec son fameux goût *Arriba*, typiquement floral (Figure 1) (Tixier, 2013).



(Koko et al, 2009, Ramos et et al 2021, Tixier, 2013)

Figure 1: A : L'arbre de cacaoyer, B : Fleurs de cacaoyer, C : La feuille de cacaoyer.

Le lieu principal de la production de la fève de cacao est dans les zone tropicales, qui plus de 4,7 millions de tonnes par an dans le monde, dont 76,3 %, 17,4 % et 6,3 %, ont été estimés être produits respectivement en Afrique, en Amérique et en Asie et Océanie, pendant la saison de récolte de 2018/2019 (Figure 2 A). Le volume total de l'exportation de fève de cacao constitue environ 71%, la transformation de fèves de cacao en Europe est attient 1,7 million de tonnes bien qu'il n'est pas un contient producteur, en tête des statistiques sur les autres continents (Figure 2B) (Rojo- Poveda et al, 2020).

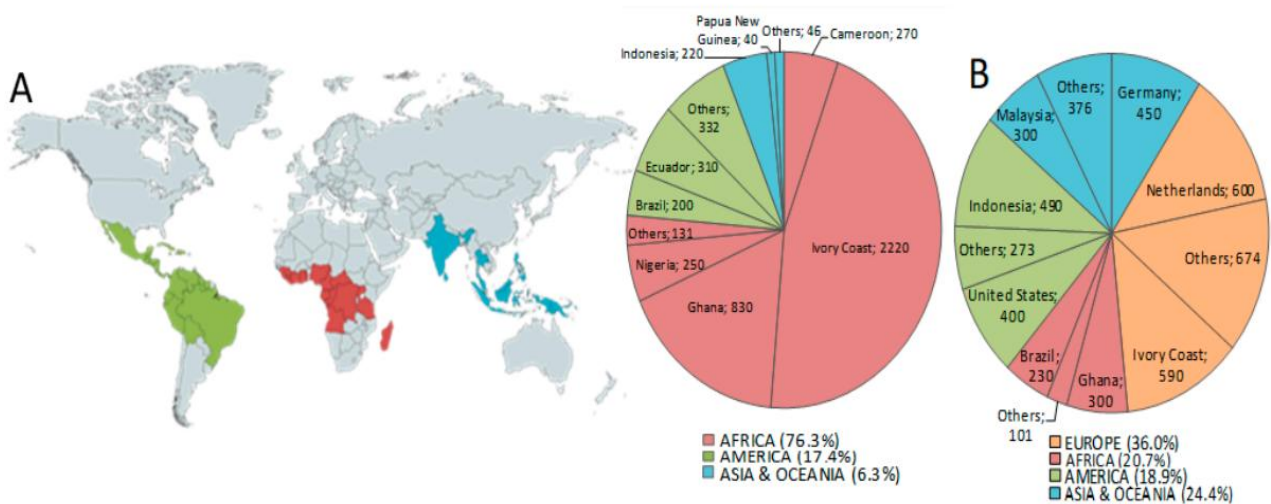


Figure 2: A : La répartition mondiale de cacao dans le monde B : Les principaux pays producteurs de cacao

## 2 Les métabolites primaires

### 2.1 Les protéines

Les protéines représentent entre 10,30 % et 27,40 % du poids sec de la cabosse (CBS), la teneur en protéines augmenter après la fermentation de coquille jusqu'à 25,2%, la torréfaction peut diminuer les protéines jusqu'à 27,43% à 25,07% (Rojo-Poveda et al, 2020).

### 2.2 Les lipides

À l'exception de la noix de coco, les fèves de cacao contiennent plus de matières grasses que toute autre culture. Dans la fève de cacao, la teneur en matières grasses est généralement supérieure à 45% (Veeresh et al, 2020). Les acides gras représentent également une des substances de stockage de la fève de cacao, celle-ci est organisée sous forme de triacylglycérol (TAG), la majorité de ces TAG étant des glycérides de 2-oléylglycérides (O), des acides palmitique (P), et stéarique (S) (POP, POS, SOS). Dans les fèves de cacao, nous trouvons également des phytostérols avec une abondance de  $\beta$ -sitostérol et de stigmastérol. La teneur en acides gras varie en fonction de la région de culture et de la variété de la fève de cacao (Cerri et al, 2019).

### 2.3 Les glucides

La présence des glucides dans la fève de cacao est sous forme des sucres simples comme le

saccharose, fructose, et glucose, grâce l'enzyme invertase le saccharose est presque entièrement hydrolysé en fructose et en glucose au cours de la fermentation (**Marseglia et al, 2020**).

Tableau 1: La teneur des métabolites primaires après la fermentation pendant 72 heures

<b>Métabolites primaires</b>	<b>Pourcentage</b>
Protéines	11,64
Lipides	31,46
Glucides	39,37

La teneur en matières grasses des fèves de cacao fermentées est supérieure à celle des fèves non fermentées, la teneur en matières grasses donnant un meilleur arôme après la torréfaction des fèves de cacao (**Dewandari et al, 2021**).

### **3 Les métabolites secondaires**

#### **3.1 Les composés phénoliques**

Les composés phénoliques sont responsable du changement de la couleur des fèves de cacao du violet au brun après l'oxydation de l'enzyme polyphénol oxydase à l'air, et sont également l'origine du goût amer du cacao (**Gunama et al, 2021**), Les polyphénols contenant dans la fève de cacao a été considéré comme des antioxydants bénéfique pour la santé humaine (**Veeresh et al, 2020**). On trouve 2 groups de polyphénols ;

**Les catéchines** qui constituent environ 37 % de la teneur en polyphénols des fèves de cacao, **les anthocyanidines** (environ 4 %) et les proanthocyanidines (environ 58 %). Parmi les catéchines ; la (-)-épicatéchine la plus abondante (jusqu'à 35 %), tandis que la (+)-catéchine, la (+)-gallocatéchine, et la (-)-épigallocatéchine sont présentes en petites quantités (**Andujar et al, 2012**). Les fèves de cacao torréfiées contiens 13 composés phénoliques et conjugués phénoliques/acides aminés (**Oracz et al, 2019**).

#### **3.2 Les flavonoïdes**

Selon **Parbuntari et al 2018** le cacao contient les flavonoïdes, qui sont dérivés des polyphénols (**Ulhasanah et al, 2021**). Les flavonoïdes contiennent plus de OH par rapport les antioxydants synthétiques BHT. Les principaux composants des polyphénols de la coque de la fève de cacao qui fonctionnent comme antioxydants sont les flavonoïdes, en particulier les catéchines et les épicatechines (**Lembong et al, 2021**), il existe de nombreux types de flavonoïdes, notamment les flavones, les isoflavonoïdes, le flavonol et les flavanones (**Md Yusof et al, 2019, Arrazate et al, 2021**).

### **3.3 Les alcaloïdes**

Le cacao contient l'alcaloïde théobromine, (**Scapagnini et al, 2014 ; Yulizar et al, 2018**), salsolinol avec une concentration 25 mg/g (**De Feo et al, 2020**), alcaloïde-purine connues sous le nom de méthylxanthines, la caféine (méthyl-xanthine du café) et la théophylline (méthyl-xanthine du thé). Spécifiquement dans le genre de *Theobroma*, ils trouvent une faible concentration de théophylline avec 0,3% et moins de 0,5% de théacrine, la quantité des alcaloïdes qui est représenté environne 4% contribuent à la saveur, l'arôme et l'amertume du cacao et ont une capacité antioxydant (**Vázquez-Ovando et al, 2016**).

---





## *MATERIEL ET METHODES*

---

*Extraction et quantification des métabolites secondaires***1. Collecte des échantillons**

La première partie est consacrée à la sélection des poudres de cacao dans les différents centres commerciaux et épicerie au niveau de la wilaya de Laghouat (sud d'Algérie) en Mai 2021. Nous avons sélectionné quatre marques de poudre commerciale reconditionner en Algérie ; deux noires et deux marrons (tableau 2), du centre commercial *AMIRA* le choix de sélection est basé sur la couleur de poudre disponible. La deuxième partie est consacrée au dosage des différents métabolites primaires et secondaires au niveau des laboratoires pédagogiques d'agronomie et le laboratoire de recherche des sciences fondamentales à l'université de Laghouat.

Tableau 2: Les différents échantillons étudiés

<b>Code</b>	<b>Marque</b>	<b>Photo</b>
<b>P1</b>	Choco dada (marron)	
<b>P2</b>	<i>Mon dessert</i> (noire)	
<b>P3</b>	<i>Berox food</i> (noire)	
<b>P4</b>	<i>Cebon</i> (marron)	

## 2. Extraction des différents métabolites

La macération est une opération qui consiste à laisser la poudre de cacao en contact prolongé avec un solvant, c'est une extraction qui se fait à température ambiante. Deux systèmes d'extraction ont été utilisés tel que ; l'extraction solide-liquide et l'extraction liquide-liquide. 20 g de chaque poudres de cacao est peser pour l'extraction solide-liquide des métabolites secondaires, un mélange hydro alcoolique de méthanol / éthanol /eau (5/4/1) de volume 250ml pour les flavonoïdes et une solution de 10% d'HCL de volume 180 ml pour les alcaloïdes ont été laissé en contact avec les poudres de cacao pendant 48h afin d'extraire les composés phénoliques et alcaloïdes (Figure 3), respectivement.

Après filtration à l'aide du papier filtre, la phase alcoolique des extraits phénoliques ont été évaporé à sec à l'aide d'évaporateur rotatif et la phase aqueuse a été soumise à plusieurs affrontements par divers solvant organique à fin d'extraire les flavonoïdes. L'extrait acidifier est neutralisé par l'ajout 180 ml d'une solution basique d'ammonium ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) à 25% (Benarous et al., 2013, Benarous et al., 2015).

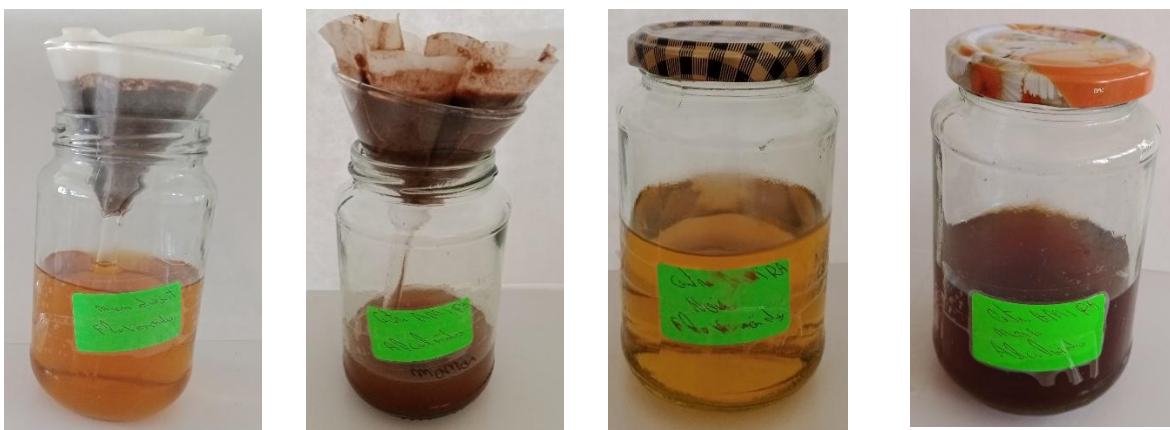


Figure 3: Photo représente les différents filtrats obtenus à partir des poudres de cacao

Extraction liquide-liquide, c'est une méthode d'extraction consiste à séparer les composés qui présentent une solubilité différente dans deux phases non-miscibles, l'extraction liquide-

liquide se fait à l'aide d'ampoule à décanter et consiste à soumettre la phase aqueuse (après évaporation de la phase alcoolique) à plusieurs affrontement par divers solvants organiques tel que le chloroforme qui va éliminer les lipides, pigments, et les composés apolaires, tandis que l'acétate d'éthyle sert à extraire les composés phénoliques totaux (figure 4 A).

Dans le cas des alcaloïdes l'extraction liquide – liquide consiste à soumettre les solutions acidifiées en contact avec une solution basique d'ammoniaque à 25 % en excès, après le chloroforme est ajouté plusieurs fois, ce dernier va extraire les alcaloïdes totaux tout en se basant sur leur solubilité dans le solvant organique (figure 4 B).

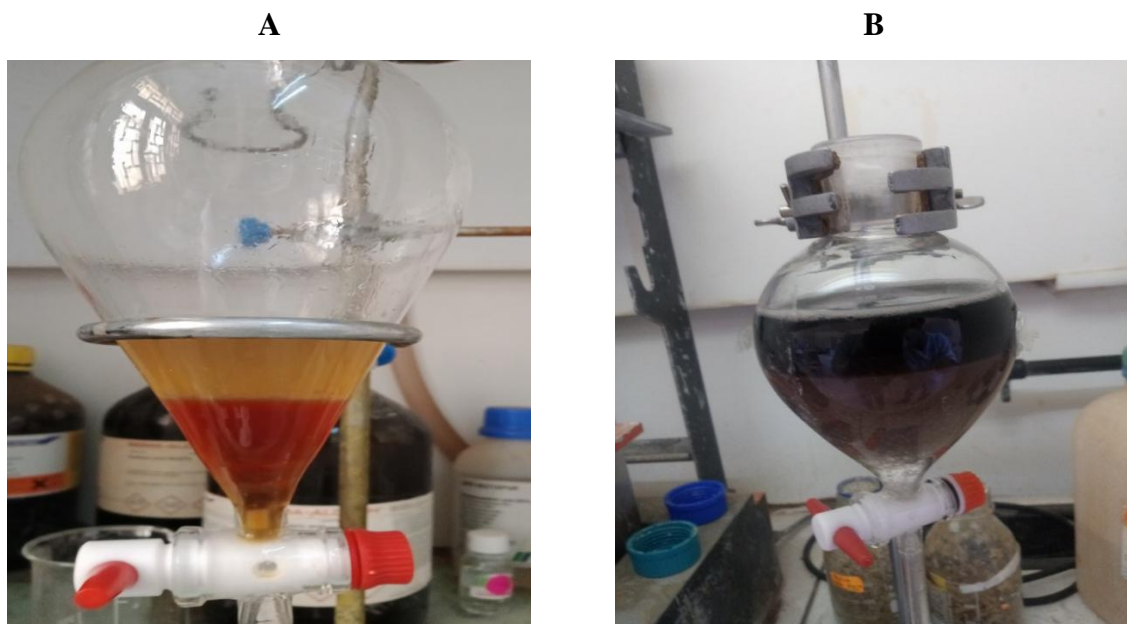


Figure 4: Photos représente l'extraction liquide-liquide des polyphénols (A) et des alcaloïdes (B)

### 1. Dosage des polyphénols totaux

Le principe de ce dosage est adapté par *Singleton et Ross 1965 in Benarous, 2014*, avec le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier est un acide de couleur jaune, constitué de polyhétérocycles acides contenant l'acide phosphotungestique  $H_3PMo_{12}O_{40}$  et l'acide phosphomolybdique  $H_3PW_{12}O_{40}$  qui sont réduits lors de l'oxydation des phénols en oxydes bleus de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{23}$ ) formant un complexe stable bleu qui absorbe fortement à une longueur d'onde de l'ordre de 760 nm (figure 5) (**Benarous, 2014**).

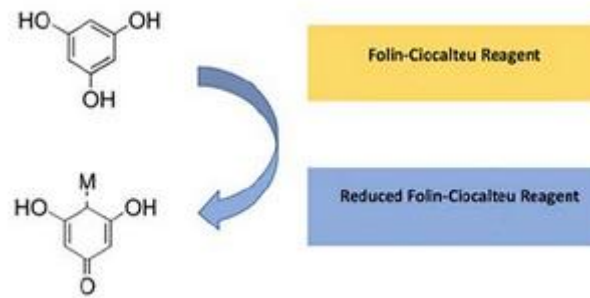


Figure 5. Schéma réactionnel montre la réduction des acides contenus dans le réactif du Folin-Ciocalteu causée par l'oxydation des composés phénolique dans l'échantillon (**Ford et al., 2019**)

### - Protocole expérimentale

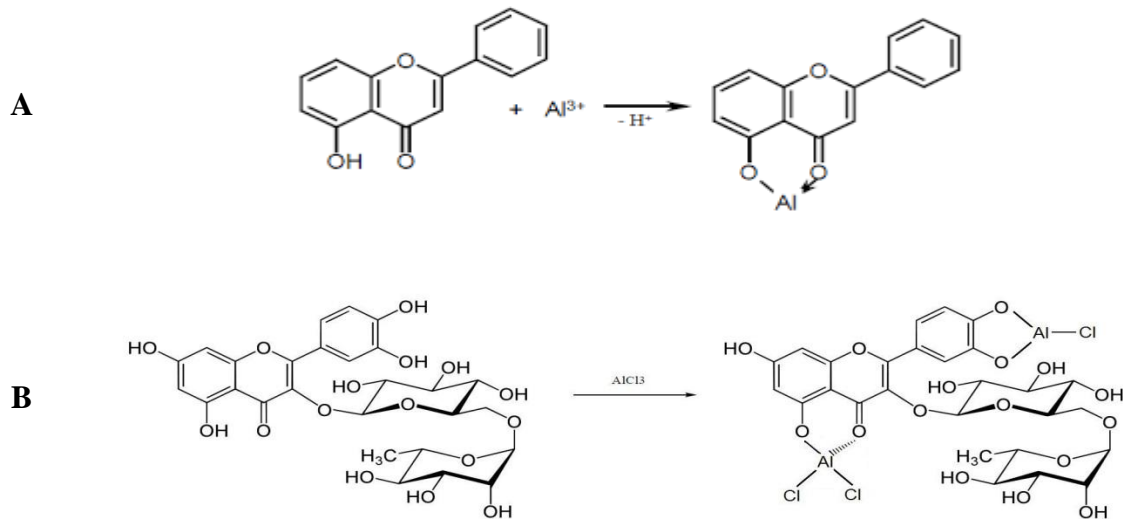
A partir d'une solution étalon d'acide gallique, une gamme de solutions diluées a été préparée pour établir la courbe d'étalonnage.

Un volume de 100  $\mu\text{l}$  de chaque solution diluée ou de l'extrait dilué est mélangé avec 500  $\mu\text{l}$  du Folin-Ciocalteu à 10% après 2 minutes, 1 ml de bicarbonates de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) à 4% a été ajouté, ces solutions ont été maintenues à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante. La lecture de l'absorbance de chaque solution est effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre *JENWAY 6405* à une longueur d'onde de 760 nm contre un blanc (**Benarous, 2014**).

### 2. Dosage des flavonoïdes totaux

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par la méthode de **Lamaison et Carnat (1991) in Benarous, 2014** en utilisant le trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) comme réactif.

Le trichlorure d'aluminium forme un complexe acide stable avec le groupement carbonyle C-4 et aussi les groupements hydroxyles C-3 et C-5 des flavones et flavonols, en plus il forme des complexes acides labiles avec les groupements dihydroxyles en ortho du cycle A ou B des flavonoïdes (**Mabry et al., 1970**) (Figure 6), ce complexe est de coloration jaune absorbe fortement à une longueur d'onde de 430 nm. Le flavonol standard le plus utilisé pour établir la courbe d'étalonnage est la quercétine (flavonoïdes aglycone) ou la rutine (flavonoïdes glycone) (**Benarous, 2014**).



*Sepahpour, S. et al., 2018*

Figure 6: Le schéma réactionnel de la formation d'un complexe du réactif  $AlCl_3$  avec les flavonoïdes

### - Protocole expérimentale

A partir d'une solution étalon de quercétine / rutine, une gamme de solutions diluées a été préparée pour établir la courbe d'étalonnage.

1ml de l'extrait dilué ou de chaque solution diluée est mélangé avec 1ml de trichlorure d'aluminium 2 % (m/v) ; ces solutions ont été maintenues à l'obscurité pendant 15minutes à température ambiante. Puis la lecture des absorbances de chaque solution est effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre *JENWAY 6405* à une longueur d'onde de 430 nm contre un blanc (*Benarous, 2014*).

### 3. Quantification des alcaloïdes totaux

La détection et quantification des alcaloïdes a été effectué par la méthode adapter par *Gacemi, et al., (2020)*. Une masse de 20g de chaque poudre de cacao est macérée avec un volume de 50 ml d'une solution HCl à 10% (extraction solide-liquide) pendant 48 heures.

Après la filtration, les solutions acidifiées ont été ajoutée à 180 ml d'ammoniaque à 25 % à l'aide d'une ampoule à décanter pour l'extraction liquide-liquide. Ensuite, un double volume de chloroforme est ajouté, finalement la récupération des extraits alcaloïdiques était effectués ; à l'aide d'un évaporateur rotatif (*Gacemi et al., 2020*).

## Quantification des métabolites primaires

Cette partie est consacrée au dosage des métabolites primaires des poudres de cacao tel que les protéines, glucides et lipides.

La préparation des poudres de cacao pour le dosage est une étape importante afin d'assurer une meilleure quantification des métabolites primaires, une quantité de 10 g de chaque échantillon de poudre de cacao est solubilisée dans 10 ml de l'eau physiologique (NaCl 0,9%), puis filtrée afin d'extraire les protéines, la même concentration (10 g/l) est choisie pour les glucides. Ces échantillons ont été dissous dans de l'eau distillée puis filtrés.

### 1. Dosage des protéines

Le principe de ce dosage est adapté par *Gornall et al., (1949)* ou méthode de biuret (formule  $\text{H}_2\text{N}-\text{CO}-\text{NH}-\text{CO}-\text{NH}_2$ , soit deux molécules d'urée donne avec les ions cuivriques  $\text{Cu}^{2+}$  et en milieu alcalin un complexe absorbe fortement à 540 nm (coloration bleu violette due à la formation du complexe  $\text{Cu}^{2+}$ ) (figure 7).

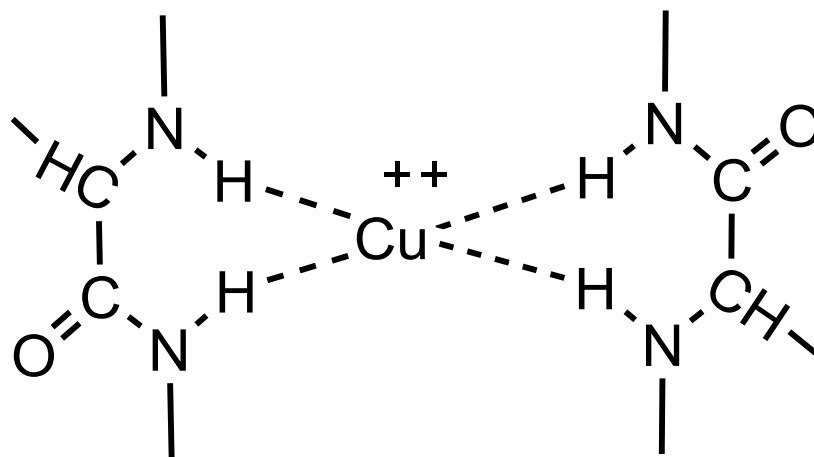


Figure 7: Schéma réactionnel montre la formation d'un complexe  $\text{Cu}^{2+}$ -des protéines.

#### - Protocole expérimentale

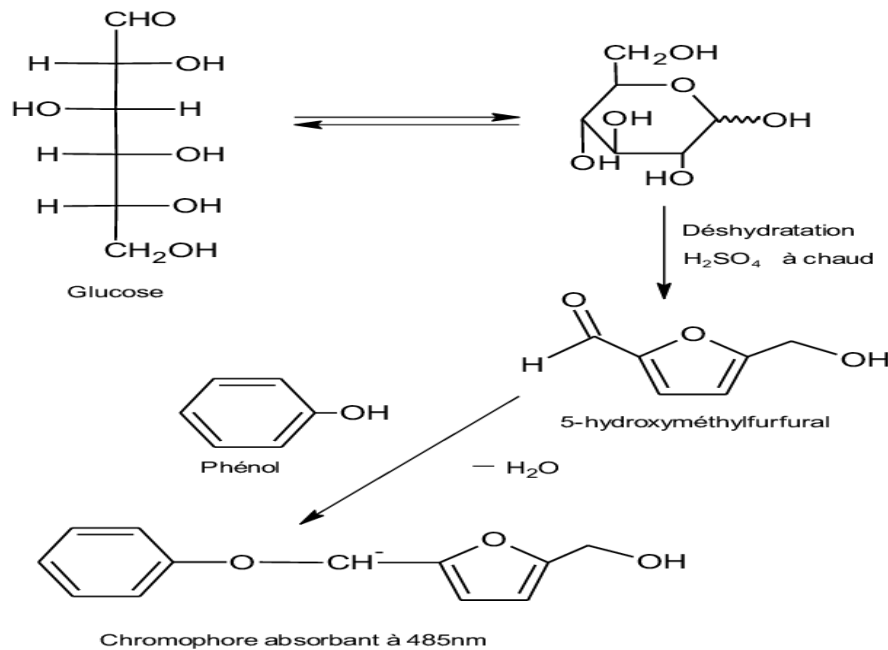
A partir d'une solution étalon d'albumine, une gamme de solutions diluées a été préparée pour établir la courbe d'étalonnage.

Un volume d'un ml de chaque solution diluée ou de l'extrait dilué est mélangé avec 4 ml du réactif de *Gornall* ( $\text{CuSO}_4, 5\text{H}_2\text{O}$  : 1,5g, NaOH : 15 g, KI : 1g, Tartrate double de Na et K : 6g,

H<sub>2</sub>O Quantité suffisante pour 1 L), ces solutions ont été maintenues à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante. La lecture de l'absorbance de chaque solution est effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre *JENWAY 6405* à une longueur d'onde de 760 nm contre un blanc.

## 2. Dosage des glucides

Les sucres totaux sont déterminés selon la méthode de *Dubois (1956)*, dont le principe repose sur la réaction suivante : l'acide sulfurique concentré provoque, à chaud, le départ de plusieurs molécules d'eau à partir des oses. Cette déshydratation s'accompagne par la formation d'un hydroxy-méthyl furfural (HMF) dans le cas d hexose et d'un furfural dans le cas d'un pentose. Ces composés se condensent avec le phénol pour donner des complexes colorés (jaune -orangé) selon la réaction présentée dans la figure 8. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration des oses.



*Pierre, Guillaume., (2010)*

Figure 8: Le schéma réactionnel des glucides avec l'acide sulfurique en présence de phénol.

### - Protocole expérimentale

A partir d'une solution étalon de D<sup>+</sup> glucose, une gamme de solutions diluées a été préparée pour établir la courbe d'étalonnage.

1 ml de chaque solution diluée ou de l'extrait dilué est mélangé avec 5 ml d'acide sulfurique et 1 ml de phénol à 80 % ces solutions ont été agitées puis portées à l'ébullition après le mélange est laissé refroidir. La lecture de l'absorbance de chaque solution est effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre *JENWAY 6405* à une longueur d'onde de 490 nm contre un blanc.

### **3. Quantification des lipides totaux**

Les lipides sont déterminés selon la méthode de *Yousfi et al., (2009)*, dont le principe repose sur la macération des poudres de cacao dans un mélange de chloroforme / méthanol (2 : 1).

#### **- Protocole expérimentale**

Une quantité de 10g de chaque poudre de cacao est macérée pendant 48h à température ambiante ; après filtration, les extraits des lipides ont été récupérés après évaporation à sec des solvants à l'aide d'un évaporateur rotatif.

---

## *Résultats et discussion*

---

*Extraction et quantification des métabolites secondaires*

**1. Teneurs obtenus pour les différents extraits**

Les Teneurs (R%), aspect et couleur des composés phénoliques, et alcaloïdes après extraction sont résumés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 3: Le rendement des composés phénoliques et alcaloïdes.

	Poudre	Masse de résidu (g)	Teneur (%)	Couleur et aspect
<b>Composés phénoliques</b>				
P1	<i>Choco dada</i> (marron)	0,248	1,24	Jaune très claire
P2	<i>Mon dessert</i> (noire)	0,699	3,49	Jaune très claire
P3	<i>Berox food</i> (noire)	0,269	1,34	Incolore
P4	<i>Cebon</i> (marron)	0,342	1,71	Incolore
<b>Alcaloïdes</b>				
P1	<i>Choco dada</i> (marron)	0,21	1,04	Jaune très claire
P2	<i>Mon desert</i> (noire)	0,18	0,90	Marron claire
P3	<i>Berox food</i> (noire)	0,23	1,16	Incolore
P4	<i>Cebon</i> (marron)	0,13	0,65	Incolore

D'après le tableau 3, nous avons enregistré des teneurs variables des métabolites secondaires, pour les composés phénoliques, nous avons trouvé des valeurs de 0,248 g à 0,699 g où la teneur la plus élevée est obtenu pour l'échantillon P2 nommé « Mon dessert », la différence de ces teneurs est dû principalement à la source de la poudre de cacao et l'origine de la plante (**Benarous, 2014**).

Pour les alcaloïdes, nous avons trouvé des teneurs allant de 0,13 g à 0,23 g, nous pouvons dire que ces poudres de cacao présentent des teneurs faibles en ce type de métabolites et presque équivalente pour les différents échantillons.

## 2. Dosage des polyphénols totaux

A partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (Figure 9), nous avons déterminé les teneurs en polyphénols exprimées en mg/g de poudre de cacao équivalent en acide gallique (EAG), les résultats obtenus sont résumés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 4: Les teneurs en polyphénol totaux de poudre de cacao.

	<b>Poudre</b>	<b>mg/g EAG</b>
<b>P1</b>	<i>Choco dada</i> (marron)	0,650 ± 0,045
<b>P2</b>	<i>Mon desert</i> (noire)	0,326 ± 0,032
<b>P3</b>	<i>Berox food</i> (noire)	0,482 ± 0,083
<b>P4</b>	<i>Cebon</i> (marron)	0,376 ± 0,109

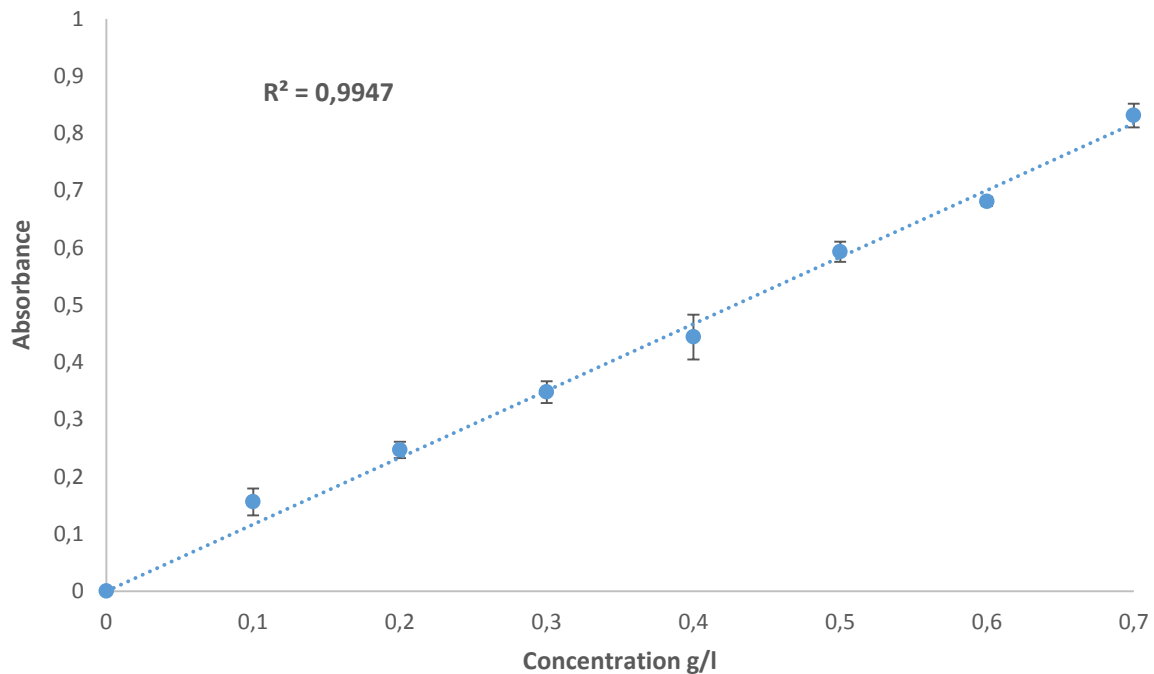


Figure 9: La courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique.

## 3. Dosage des flavonoïdes totaux

A partir des deux courbes d'étalonnage de quercétine et de rutine (Figure 10/11). Les teneurs en flavonoïdes totaux sont exprimées en mg/g de poudre de cacao équivalent en quercétine et en rutine, les résultats obtenus sont résumés dans le tableau ci-après.

Tableau 5: La teneur en flavonoïdes totaux des poudres de cacao.

<b>Poudre</b>	<b>mg/g EQuercetine</b>	<b>mg/g ERutine</b>
<b>P1</b>	0,195 ± 0,029	0,052 ± 0,029
<b>P2</b>	0,283 ± 0,008	0,075 ± 0,008
<b>P3</b>	0,136 ± 0,011	0,036 ± 0,011
<b>P4</b>	0,334 ± 0,008	0,089 ± 0,008

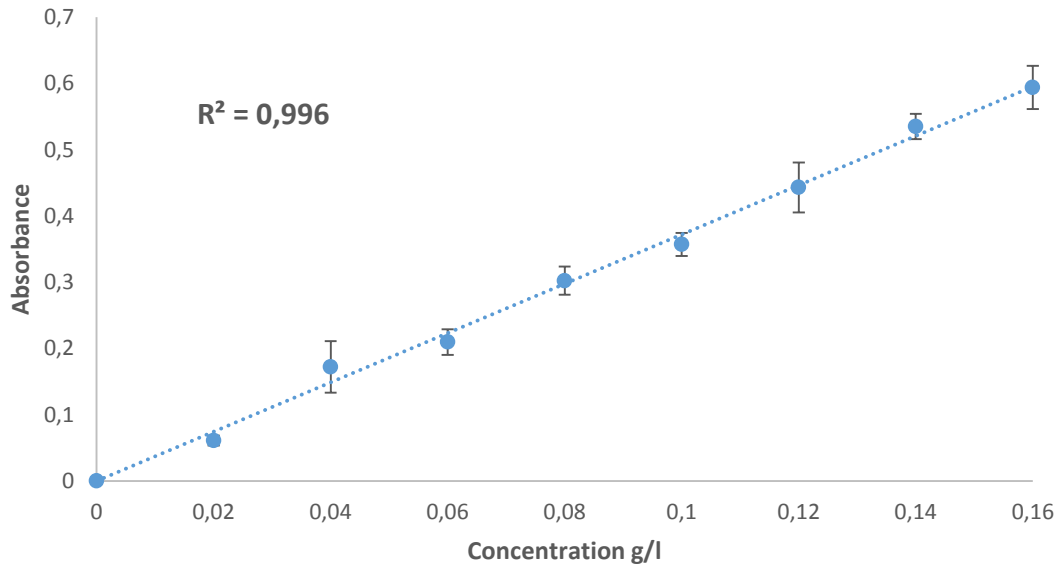


Figure 10: La courbe d'étalonnage réalisée avec la quercetine.

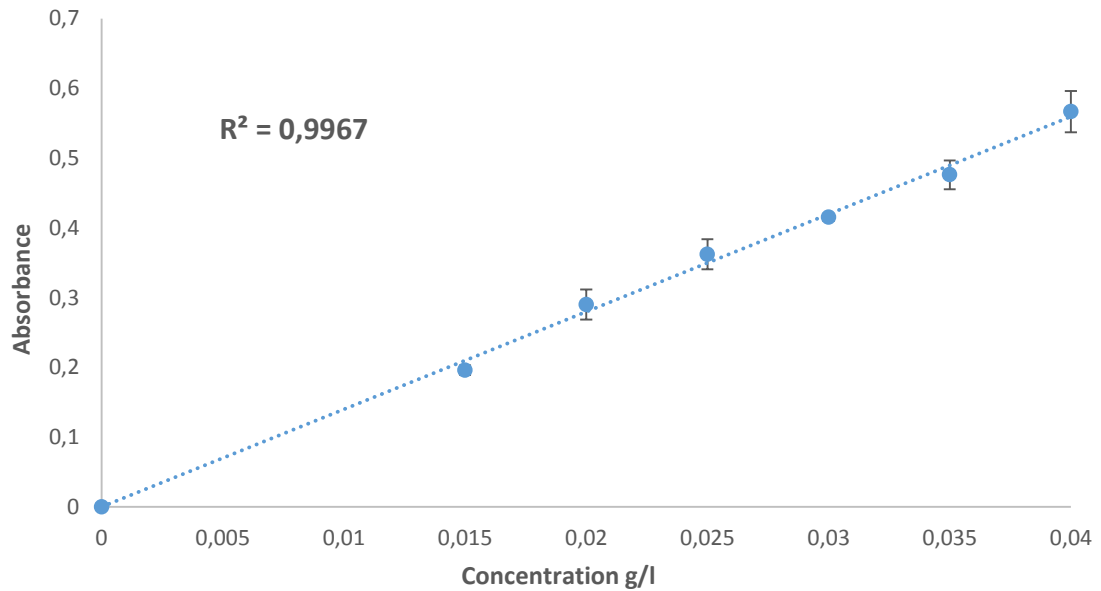


Figure 11: La courbe d'étalonnage réalisée avec la rutine.

*Quantification des métabolites primaires*

**1. Dosage des glucides totaux**

A partir de la courbe d'étalonnage de D<sup>+</sup> Glucose (Figure 12), nous avons déterminé les teneurs en glucides exprimées en g/dans 100 g de poudre de cacao équivalent en D<sup>+</sup> Glucose (EG), les résultats obtenus sont résumés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 6: les teneurs en glucides des poudres de cacao.

<b>Poudre</b>	<b>g/100g EGlucose</b>
<b>P1</b>	3,08 ± 1,60
<b>P2</b>	5,89 ± 0,129
<b>P3</b>	4,21 ± 1,123
<b>P4</b>	7,24 ± 0,056

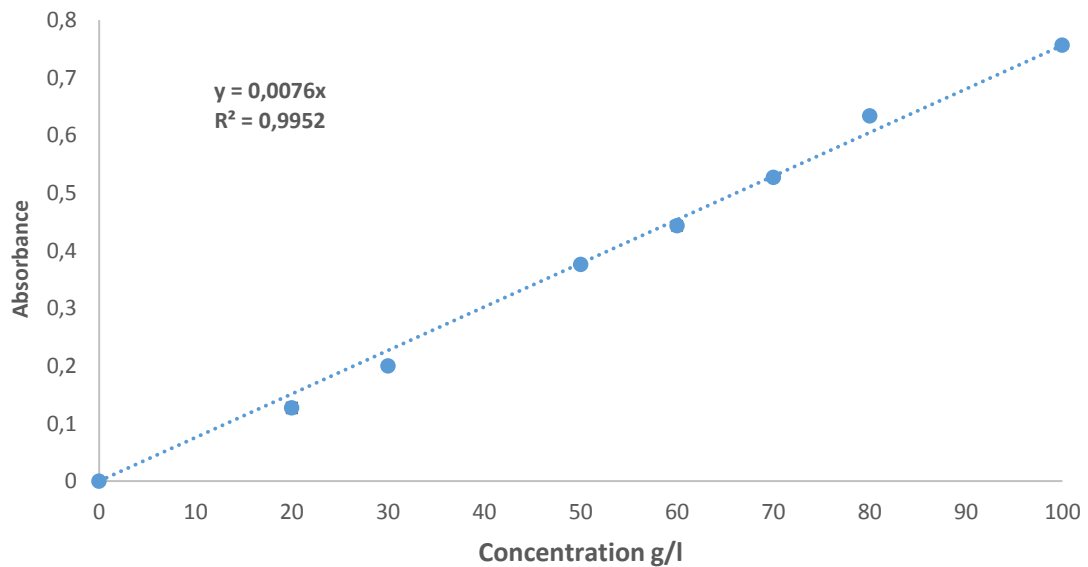


Figure 12: La courbe d'étalonnage réalisée avec le glucose.

**2. Dosage des protéines**

A partir de la courbe d'étalonnage réalisée par l'albumine (Figure 13), nous avons déterminé les teneurs en protéines exprimées g/dans 100 g de poudre de cacao équivalent en albumine (EA), les résultats obtenus sont résumés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 7: Les teneurs en protéines des poudres de cacao.

<b>Poudre</b>	<b>g/100g EAlbumine</b>
<b>P1</b>	28,70 ± 0,001
<b>P2</b>	10,91 ± 1,55
<b>P3</b>	32,68 ± 1,31
<b>P4</b>	5,31 ± 1,47

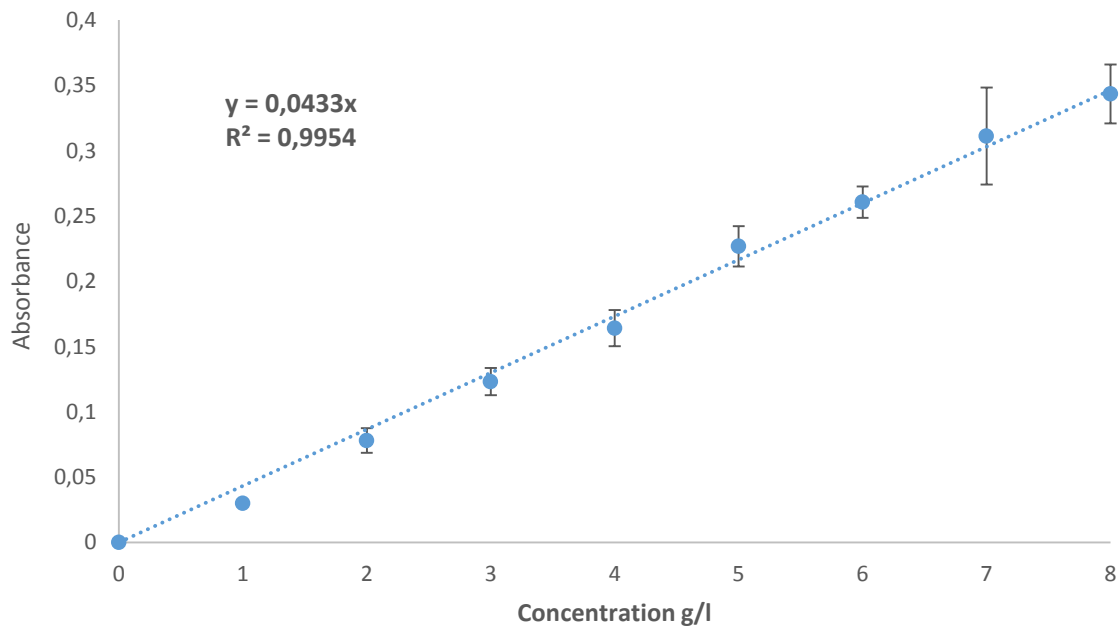


Figure 13: La courbe d'étalonnage réalisée avec l'albumine.

**3. Quantification des lipides totaux**

Nous avons déterminé la quantité des lipides exprimées en pourcentage (%) et g/dans 100 g de poudre de cacao. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 8: Le rendement et aspect des lipides.

<b>Poudre</b>	<b>Huile (g)</b>	<b>R (%)</b>	<b>Aspect</b>	<b>Pour 100g de poudre</b>
<b>P1</b>	1,75	17,467	Marron claire	17,467 g
<b>P2</b>	1,13	11,256	Marron claire	11,256 g
<b>P3</b>	1,61	16,06	Marron claire	16,06 g
<b>P4</b>	1,58	15,792	Marron claire	15,792 g

L'extraction et la quantification des différents métabolites de la poudre de cacao a révélé une source intéressante de métabolite primaire et secondaire d'une part et une incohérence des résultats trouvés avec la valeur déclarée du fabricant, et certaines marques mondiales connues d'autre part.

Nos résultats ont montré que la poudre de cacao est riche en protéines, lipides, sucres, alcaloïdes et moyennement faible en polyphénol avec une moyenne de 19,40 g de protéines équivalentes d'albumine ; 15,14 g d'huile et 5,11 g équivalent d'glucose dans 100 g de poudre, à noter que la valeur maximale en protéines est enregistrée dans la poudre P3 (Tableau 7), cette dernière avec P1 montrant un taux de protéines proches avec 28,70 et 32,68, respectivement, P4 étant relativement plus faible, ces résultats sont différents avec nos marques (P1-P3) et la marques Allemandes (VAN HOUTEN) et Swiss (NESTLE DESSERT).

La quantité des lipides retrouvée dans les quatre poudre était relativement proche (tableau 8), les masses obtenues variaient entre 11 et 17 g /100 ( $\pm 2,69$ ), l'aspect initial enregistré est huileux qui se solidifie rapidement. La quantité des lipides retrouvée est inférieure par rapport la marque VAN HOUTEN et NESTLE DESSERT avec 21g et 18 g de lipides, respectivement, et légèrement élevés avec les données fournies dans l'étiquète.

Le taux de sucres obtenu dans les 4 poudres était proche (tableau 6), les masses obtenues sont variées entre 3 et 7 g /100, ces derniers sont 10 fois plus supérieures à celle de la marque VAN HOUTEN et NESTLE DESSERT avec 0,5 g et 0.4 g, respectivement.

Nous avons remarqué que les poudres (P1 et P3) ont des valeurs plus élevées en protéines et en lipides par rapport les poudre (P2 et P4), en revanche la poudre marron P4 a des valeurs plus élevées en sucre.

Les polyphénols retrouvés étaient faibles, la masse obtenue variés entre 0,3 et 0,6 mg/g, 65% était des flavonoïdes aglycones tandis que 35 % était des flavonoïdes glycosylés (tableau 5), les alcaloïdes totaux ont enregistré des masses variées entre 6 et 11 mg/g de poudre (tableaux 3). Pour expliquer ces résultats nous avons focalisé sur les procédés de production des poudres de cacao jusqu'aux consommateurs, pour obtenir de la poudre de cacao, il faut passer par de nombreuses étapes de transformations du fruit, de la fermentation au séchage en passant par la torréfaction des fèves puis concassage et broyage à chaud pour enfin obtenir une masse de cacao qui sera alors transformée en partie en poudre de cacao.

La poudre de cacao cru est connue pour sa teneur élevée en graisses, protéines, alcaloïdes et flavonoïdes, mais un long conditionnement avant de vendre aux entreprises de l'industrie alimentaire peut modifier les propriétés chimiques, certaines entreprises ajoutent des additifs alimentaires, des conservateurs et des colorants pour améliorer les propriétés organoleptiques car les fèves de poudre sont riches en tanins ce qui leur confère une saveur acide et très amère, mais ces actes ne sont pas toujours contrôlés, notamment dans les marques qui vendent en gros dans de grands sacs sans étiquetage, aussi l'apparition de certaines variétés hybrides peut modifier la composition chimique.

Tableau 9: Valeur nutritionnelle moyenne des marques pour 100g de poudre de cacao.

Marques	Protéines (g)		Glucides (g)		Lipides (g)	
	a	b	a	b	a	b
<i>Choco dada marron</i>	<b>2,00</b>	28,70	<b>2,30</b>	3,08	<b>11</b>	17,47
<i>Mon désert noire</i>	<b>14,50</b>	10,91	<b>6,25</b>	5,89	<b>5,6</b>	11,26
<i>Berox food noire</i>	<b>3,00</b>	32,68	<b>5,20</b>	4,21	<b>7,5</b>	16,06
<i>Cebon marron</i>	/	5,31	/	7,24	/	15,79
<b>VAN HOUTEN</b>	20 a		0,5 a		21 a	
<b>NESTLE DESSERT</b>	18,1 a		0,4 a		18 a	

a : Valeur déclarée par le fabricant      b : Valeur trouvée

À travers notre étude, les lots de poudre de cacao testé (P1-P4) ont présenté des valeurs plus au moins élevées, la seule marque qui est proche aux normes était *Mon désert noire* (P2), le lot de sac en gros présent des valeurs différentes (P3), ceci est due à l'ajout de soja, des fruits à coque, et même de beurre de cacao qui sont destinés souvent aux préparations cacaotées (Sophie L., 2018), ce qui explique le taux des protéines et des lipides enregistré dans les poudres noires (P1 et P3). En résumé, la vraie poudre de cacao (sans sucres ajoutés) est très intéressante sur le plan nutritionnel. Elle est pauvre en glucides et en lipides, mais, en revanche, incroyablement riche en antioxydants complexes, types polyphénols, flavonoïdes et catéchines (Sophie, 2018).

---

## *CONCLUSION*

---

Les analyses physico-chimiques réalisées sur les poudres de cacao ont montré que ces poudres sont riches en protéines (équivalent aux résultats des marques mondiales), en sucre (10 fois plus que les valeurs souhaitables), alcaloïdes, moins en lipides ; et faible en polyphénols, c'est la conséquence de non-contrôle des industries alimentaires qui ajoutent des additifs alimentaires, conservateurs, et colorants, qui peuvent modifier les propriétés physico-chimiques et donc leur valeur nutritionnelle.

La poudre noire est trouvée riche en protéines, modérée en lipides, en sucre, et en polyphénols, cependant, la poudre marron est trouvée moyennement riche en polyphénols et en sucre ce qui diminue sa valeur nutritionnelle, cette différence peut expliquer la pureté de la variété de cacao commercialisée.

Le consommateur en Algérie trouve un problème dans le choix de ces produits à cause du non étiquetage ou d'un étiquetage peu détaillé et il ne peut donc pas déterminer le meilleur produit.

D'après nos analyses des différents métabolites primaires et secondaires, les poudres de cacao doivent être des produits de haute qualité, purs, correctement étiquetés, à faible teneur en sucre et contenant moins d'additifs alimentaires.

Nous envisageons d'augmenter le nombre d'échantillons afin de contrôler leurs qualités alimentaires ainsi d'analyser les teneurs en oligoéléments, spécifiquement les vitamines et les éléments minéraux

---

*REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES*

---

- Ahukaemere, C. M. (2018). Suitability evaluation of some soils of south-eastern Nigeria for oil palm (*Elaeis guineensis*) and cocoa (*Theobroma cacao*) cultivation. *Journal of agric. And rural dev.*
- Andújar, I., Recio, M. C., Giner, R. M., & Ríos, J. (2012). Cocoa polyphenols and their potential benefits for human health. *Oxidative medicine and cellular longevity.*
- Arrazate, C. H. A., Rojas, E. C., Palestina, C. U. L., Bolaños, M. M., Pérez, J. F. C., Alonso, M. B., ... & Iñiguez, J. C. (2021). Actividad antioxidante en genotipos de *Theobroma* spp.(Malvaceae) en Mexico. *Revista de Biología Tropical*, 69(2), 507-524.
- Barrau, J. (1979). Sur l'origine du cacaoyer, *Theobroma cacao* Linné, Sterculiacées. *Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée*, 26(3), 171-180.
- Benarous, K., Djeridane, A., Kameli, A., & Yousfi, M. (2013). Inhibition of *Candida rugosa* lipase by secondary metabolites extracts of three Algerian plants and their antioxidant activities. *Current Enzyme Inhibition*, 9(1), 75-82.
- Benarous, K., 2014. Etude de l'activité inhibitrice des extraits d'*Inonotus hispidus*, *Marrubium vulgare* et *Peganum harmala* sur les lipases. Thèse de doctorat, ENS-Kouba, Algérie.
- Benarous, K., Bombarda, I., Iriepa, I., Moraleda, I., Gaetan, H., Linani, A., ... & Yousfi, M. (2015). Harmaline and hispidin from *Peganum harmala* and *Inonotus hispidus* with binding affinity to *Candida rugosa* lipase: In silico and in vitro studies. *Bioorganic chemistry*, 62, 1-7.
- Campos-Vega, R., Nieto-Figueroa, K. H., & Oomah, B. D. (2018). Cocoa (*Theobroma cacao* L.) pod husk: Renewable source of bioactive compounds. *Trends in Food Science & Technology*, 81, 172-184.
- Cerri, M., Reale, L., & Zadra, C. (2019). Metabolite storage in *Theobroma cacao* L. seed: cyto-histological and phytochemical analyses. *Frontiers in plant science*, 10, 1599.
- De Feo, M., Paladini, A., Ferri, C., Carducci, A., Del Pinto, R., Varrassi, G., & Grassi, D. (2020). Anti-Inflammatory and Anti-Nociceptive Effects of Cocoa: A Review on Future Perspectives in Treatment of Pain. *Pain and therapy*, 9(1), 231-240.
- Dewandari, K. T., Rahmawati, R., & Munarso, S. J. (2021). The effect of techniques and fermentation time on cocoa beans quality (*Theobroma cacao* L.). In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 653, No. 1, p. 012046). IOP Publishing.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. T., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*, 28(3), 350-356.
- Edoh Adabe, K., & Ngo-Samnick, L. (2014). *Cocoa: production and processing*. CTA.
- Ford, L., Theodoridou, K., Sheldrake, G. N., & Walsh, P. J. (2019). A critical review of analytical methods used for the chemical characterisation and quantification of phlorotannin compounds in brown seaweeds. *Phytochemical Analysis*, 30(6), 587-599.

- Gacemi, S., Benarous, K., Imperial, S., & Yousfi, M. (2020). Lepidine B & E as new target inhibitors from *Lepidium sativum* seeds against four enzymes of the pathogen *Candida albicans*: in vitro and in silico studies. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders)*, 20(1), 127-138.
- Gornall, A. G., Bardawill, C. J., & David, M. M. (1949). Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *Journal of biological chemistry*, 177(2), 751-766.
- Gunama, I. B. W., Suryantoa, A., Putraa, G. G., Kasab, I. W., Permanac, I. D. G. M., Sarjanad, P., Takamae, T. (2021). The Effect of Mixed Inoculum Addition Concentration and Fermentation Time on the Characteristics of Dry Cocoa Beans (*Theobroma cacao* L.).
- Ishaq, S., & Jafri, L. (2017). Biomedical importance of cocoa (*Theobroma cacao*): significance and potential for the maintenance of human health.
- Koko, L. K., Kassin, K. E., Yoro, G., NGoran, K., & Yao-Kouamé, A. (2009). Corrélations entre le vieillissement précoce des cacaoyers et les caractéristiques morphopédologiques dans le Sud-Ouest de la Côte d'Ivoire. *Journal of Applied biosciences*, 24, 1508-1519.
- Lamaison, J. L., Petitjean-Freytet, C., & Carnat, A. (1991). Medicinal Lamiaceae with antioxidant properties, a potential source of rosmarinic acid. *Pharmaceutica Acta Helveticae*, 66(7), 185-188.
- Lembong, E., Djali, M., & Utama, G. L. (2021). The potential of dry fermented cocoa (*Theobroma cacao* L.) variety Lindak bean shell treated at different degrees of roasting as a functional food. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 733, No. 1, p. 012068). IOP Publishing.
- Lennon, A. M., Lewis, V. R., Farrell, A. D., & Umaharan, P. (2021). Photochemical responses to light in sun and shade leaves of *Theobroma cacao* L.(West African Amelonado). *Scientia Horticulturae*, 276, 109747.
- Marseglia, A., Musci, M., Rinaldi, M., Palla, G., & Caligiani, A. (2020). Volatile fingerprint of unroasted and roasted cocoa beans (*Theobroma cacao* L.) from different geographical origins. *Food Research International*, 132, 109101.
- Md Yusof, A. H., Abd Gani, S. S., Zaidan, U. H., Halmi, M. I. E., & Zainudin, B. H. (2019). Optimization of an ultrasound-assisted extraction condition for flavonoid compounds from cocoa shells (*Theobroma cacao*) using response surface methodology. *Molecules*, 24(4), 711.
- Oracz, J., & Nebesny, E. (2019). Effect of roasting parameters on the physicochemical characteristics of high-molecular-weight Maillard reaction products isolated from cocoa beans of different *Theobroma cacao* L. groups. *European Food Research and Technology*, 245(1), 111-128.
- Parbuntari, H., Prestica, Y., Gunawan, R., Nurman, M. N., & Adella, F. (2018). Preliminary phytochemical screening (qualitative analysis) of cacao leaves (*Theobroma cacao* L.). *Eksakta: Berkala Ilmiah Bidang MIPA (E-ISSN: 2549-7464)*, 19(2), 40-45.
- Permatasari, R., Suniarti, D. F., Herda, E., & Mas'ud, Z. A. (2016). Identification of alkaloids of Indonesian Cacao beans (*Theobroma cacao* L.) and its effect on tooth enamel hardness. *Journal of Medicinal Plants Research*, 10(15), 202-208.

- Pierre, Guillaume., (2010). Biochemical characterization of algal exopolymers from Marennes-Oléron and study of the physico-chemical surface properties of microorganisms involved in their adhesion. *Thèse de doctorat*.
- Ramos-Sobrinho, R., Ferro, M. M., Nagata, T., Puig, A. S., Von Keith, C., Britto, D. S., & Brown, J. K. (2021). Complete genome sequences of three newly discovered cacao mild mosaic virus isolates from *Theobroma cacao* L. in Brazil and Puerto Rico and evidence for recombination. *Archives of Virology*, 1-5.
- Richardson, J. E., Whitlock, B. A., Meerow, A. W., & Madriñán, S. (2015). The age of chocolate: a diversification history of *Theobroma* and Malvaceae. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 3, 120.
- Rojo-Poveda, O., Barbosa-Pereira, L., Zeppa, G., & Stévigny, C. (2020). Cocoa Bean Shell—A By-Product with Nutritional Properties and Biofunctional Potential. *Nutrients*, 12(4), 1123.
- Sepahpour, S., Selamat, J., Abdul Manap, M. Y., Khatib, A., & Abdull Razis, A. F. (2018). Comparative analysis of chemical composition, antioxidant activity and quantitative characterization of some phenolic compounds in selected herbs and spices in different solvent extraction systems. *Molecules*, 23(2), 402.
- Scapagnini, G., Davinelli, S., Di Renzo, L., De Lorenzo, A., Olarte, H. H., Micali, G., ... & Gonzalez, S. (2014). Cocoa bioactive compounds: significance and potential for the maintenance of skin health. *Nutrients*, 6(8), 3202-3213.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Sophie L., (2018), Cacao en poudre, *Cuisineaz*, <https://www.cuisineaz.com/articles/cacao-en-poudre-2589.aspx>.
- Tixier, C. (2013). De l'arbre à cacao au chocolat : voyage à la source des arômes et des saveurs. *Phytothérapie*, 11(2), 79-84.
- Ulhasanah, M. E., Widiastuti, A., Agustina, M., & Hidayat, T. T. (2021). Effect of Consumption Chocolate (*Theobroma Cacao* L) on Cholesterol Levels in Patients With Hypercholesterolemia (study in the UPTD Puskesmas Jatiroto). In *International Conference Health, Science And Technology (ICOHETECH)* (pp. 68-71).
- Vázquez-Ovando, A., Ovando-Medina, I., Adriano-Anaya, L., Betancur-Ancona, D., & Salvador-Figueroa, M. (2016). Alcaloides y polifenoles del cacao, mecanismos que regulan su biosíntesis y sus implicaciones en el sabor y aroma. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 66(3), 239-254.
- Veeresh, S. A., Minimol, J. S., Suma, B., Athira, M. R., & Shilpa, K. S. (2020). Fat, polyphenol and minerals estimate in exotic accessions of cocoa (*Theobroma cacao* L.). *International Journal of Agricultural Sciences*, 16(1), 11-16.

Yulizar, Y., Bakri, R., Apriandanu, D. O. B., & Hidayat, T. (2018). ZnO/CuO nanocomposite prepared in one-pot green synthesis using seed bark extract of *Theobroma cacao*. *Nano-Structures & Nano-Objects*, *16*, 300-305.

Yousfi, M., Bombarda, I., Hamia, C., Djeridane, A., Stocker, P., & Gaydou, E. (2009). Fatty acid, triglyceride and tocopherol composition of Algerian Argan (*Argania spinosa*) fruit seed lipids. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, *2*(3), 197.