



# Contribution à la détermination de la teneur en caféine du café produit au Burundi

Ferdinand Ndikuryayo<sup>1</sup>, Paynet Ndiokubwayo<sup>2</sup>, Pierre Claver Mpawenayo<sup>2</sup>, Prosper Cishahayo<sup>2</sup>, Christophe Niyungeko<sup>2</sup>, Godefroid Gahungu<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup>Centre Universitaire de Recherche et de Pédagogie Appliquées aux Sciences, Laboratoire de Nutrition-Phytochimie, d'Ecologie et Environnement Appliqués, Institut de Pédagogie Appliquée, Université du Burundi, BP 2700, Bujumbura, Burundi.

<sup>2</sup>Centre de Recherche en Sciences Naturelles et de l'Environnement, Département de Chimie, Faculté des Sciences, Université du Burundi, BP 2700, Bujumbura, Burundi.

\*Auteur de correspondance / Email: [godefroid.gahungu@ub.edu.bi](mailto:godefroid.gahungu@ub.edu.bi)

**Reçu:** le 06 septembre 2022

**Accepté pour publication:** le 19 novembre 2022

**Publié en ligne pour la première fois:** le 30 novembre 2022

## Résumé

La caféine est un alcaloïde dont une consommation excessive peut provoquer des effets négatifs sur la santé humaine. La teneur en caféine de 21 catégories de café produit au Burundi a été déterminée afin de proposer des prises quotidiennes sans conséquences néfastes sur la santé des consommateurs. Le dichlorométhane et l'eau ont été utilisés pour extraire la caféine dont la teneur a été estimée par spectrométrie UV-Visible. Les résultats révèlent que la teneur en caféine se situe entre  $1,12 \pm 0,02\%$  et  $1,54 \pm 0,02\%$  respectivement pour Fully Washed 15<sup>+</sup> (FW 15<sup>+</sup>) produit à Kayanza et Natural 2 produit au Mirwa. L'analyse de variance (ANOVA) couplée au test de Duncan a révélé que les teneurs en caféine varient en fonction des catégories et des régions caféicoles. Cette étude a aussi révélé que la quantité de caféine contenue dans une tasse (250 ml) de café à boire se situe entre  $56,52 \pm 0,75$  mg (S1) et  $66,36 \pm 1,17$  mg (S4). Ces teneurs ont servi de base de proposition de la limite de consommation journalière en tenant compte des catégories et de ses spécificités personnelles.

**Mots clés :** Burundi, caféine, dosage, café.

## Abstract

Caffeine is an alkaloid whose excessive consumption can cause negative effects on human health. The caffeine content of 21 categories of coffee produced in Burundi was determined in order to propose daily intakes without harmful consequences on the health of consumers. Dichloromethane and water were used to extract caffeine, which was estimated by UV-Visible spectrometry. The results show that the caffeine content ranged from  $1.12 \pm 0.02\%$  and  $1.54 \pm 0.02\%$  for Fully Washed 15<sup>+</sup> (FW 15<sup>+</sup>) produced in Kayanza and Natural 2 produced in Mirwa, respectively. The analysis of variance (ANOVA) coupled with Duncan's test revealed that caffeine levels vary by category and coffee growing region. This study also revealed that the amount of caffeine in a 250 ml-cup of coffee beverage ranged from  $56.52 \pm 0.75$  mg (S1) to  $66.36 \pm 1.17$  mg (S4). These contents were used as a basis for proposing the daily consumption limit, taking into account the categories and personal specificities.

**Key words:** Burundi, caffeine content, coffee.

## 1. Introduction

Naturellement présente dans de nombreuses plantes, la caféine (1,3,5-triméthylxanthine) est l'un des alcaloïdes les plus consommés dans le monde (Quadra et al., 2022). Une revue de la littérature suggère que la caféine peut avoir des effets positifs ou négatifs sur la santé humaine selon la dose consommée. En effet, une consommation modérée de caféine améliore les performances cognitives et prévient le cancer, le vieillissement, l'obésité, le diabète, les maladies cardiaques et l'inflammation grâce à ses propriétés anti-oxydantes (Glade, 2010; Hayat et al., 2015; Jarvis, 1993; Metro et al., 2017; Vaibhav et al., 2011). Cependant, une consommation excessive peut provoquer le délire, le cancer du côlon, la fièvre, l'agitation, les convulsions, l'irritabilité, la perte d'appétit, les tremblements, l'hypotension, les maladies cardiaques, les vomissements, l'arythmie, les malformations infantiles, l'augmentation des troubles anxieux et des maladies cardiovasculaires (Browne et al., 2007; Hering-Hanit & Gadoth, 2003; Turnbull et al., 2017; Yang et al., 2007).

Le Burundi est l'un des pays producteurs du café arabica (*Coffea arabica*) appréciée par les consommateurs en raison de sa meilleure saveur liée à sa richesse en caféine (Perrois et al., 2015). Poussant bien dans la zone intertropicale, le caféier arabica est un arbuste appartenant au genre *Coffea* de la famille des rubiacées (Figure 1).



**Figure 1 :** Photo d'un caféier dans un champ (Source: Paynet, 2022)

Avec une hauteur pouvant atteindre 10 m, cette plante porte des fleurs à cinq pétales blancs qui donneront des fruits charnus, le plus souvent rouges contenant deux noyaux renfermant chacun un grain de café.

Au Burundi, le café est cultivé dans des régions distinctes en termes de conditions édaphiques et climatiques, ce qui pourrait influencer sa teneur en caféine. Du point de vue économique, le café a respectivement occupé la première et la deuxième place pour les recettes d'exportations burundaises en 2016 et depuis 2017 jusqu'à 2020 (ISTEEBU, 2021). Alors que le café soit la première boisson mondiale après l'eau (Butt & Sultan, 2011), la place des burundais en termes de consommation du café reste déterminée. Il est important de mentionner que les quantités

de caféine ingérée par les consommateurs du café produit au Burundi ne sont pas connues.

Afin d'apprécier la qualité du café avant sa commercialisation, l'Office pour le Développement du Café du Burundi (ODECA) se base sur les caractéristiques physiques des grains. Cette appréciation est suivie par des tests organoleptiques subjectivement effectués sur du café à boire. Bien que la détermination de la teneur en caféine reste le moyen recommandé pour apprécier la qualité du café (Fajara & Susanti, 2017), la teneur en caféine du café produit au Burundi, à notre connaissance, n'a jamais été déterminée. L'objectif de la présente étude était donc de déterminer la teneur en caféine du café produit au Burundi afin d'en déterminer les prises quotidiennes sans conséquences néfastes sur la santé des consommateurs.

## 2. Matériels et Méthodes

### 2.1. Échantillonnage

21 échantillons de café utilisés dans cette étude ont été fournis par l'ODECA : 15 échantillons de grains de café vert collectés dans les régions caféicoles et 6 échantillons de café en poudre (S1, S2, S3, S4, S5, S5 et S6) déjà préparés par l'ODECA. Les échantillons de grains de café vert comprenaient le Fully Washed A (FWA), le Fully Washed 15<sup>+</sup> (FW 15<sup>+</sup>), le Fully Washed Pea Berry (FW PB), le Fully Washed TT (FW TT), le Fully Washed T (FW T), le Naturel 1, le Fully Washed Stock Lot (FW STLT) (collectés à Kirimiro), le FW AA, le FW 15<sup>+</sup>, le FW TT et le Naturel 2 (collectés à Mirwa), le FW 15<sup>+</sup>, le FW TT et le Naturel 1 (collectés à Kayanza) et le FW 15<sup>+</sup> (collecté à Ngozi).

### 2.2. Extraction de la caféine

Les grains de café vert ont été torréfiés à 215°C pendant 15 min dans une étuve (Carbolite, Parson's Lane, Hope Valley S33 6RB, England) avant d'être moulus à l'aide d'un mortier et d'un pilon. Après tamisage, la caféine a été extraite selon la méthode Seyoum (Seyoum, 2017) avec modification. En effet, 0,020 g de café ont été pesés à l'aide d'une balance analytique (Ohaus Pioneer, Ohaus Corporation, Parsippany, NJ, USA), puis dissout dans 15 ml d'eau distillée. La solution ainsi obtenue a été chauffée à ébullition puis agitée pendant 30 min à l'aide d'un agitateur magnétique (Speedsafe TM Hanna). 10 ml de dichlorométhane ont été ajoutés au filtrat et le mélange a été agité pendant 10 min. Cette opération a été répétée 4 fois et les extraits ainsi obtenus ont été mélangés puis homogénéisés. Les phases organique et aqueuse ont été séparées à l'aide d'une ampoule à décanter. Afin de s'assurer de la totalité de l'extraction de la caféine, des absorbances de la phase organique de chaque extrait ont été déterminées à l'aide d'un spectrophotomètre UV/VIS 6705 (Jenway, Staffordshire, UK) à des longueurs d'onde allant de 245 à 320 nm. Du café à boire a été aussi préparé selon le protocole proposé par l'ODECA. Deux cuillerées de café en poudre (5440 mg de S1 et 6280 mg de S4) ont été mélangées avec 250 ml d'eau bouillante. Après filtration, 10 ml de la solution ainsi obtenue ont été mélangés

avec l'eau du robinet jusqu'à 150 ml. 10 ml de dichlorométhane ont été ajoutés à 10 ml de la solution précédente afin d'extraire la caféine, une opération qui a été répétée 4 fois et les extraits ont été mélangés puis homogénéisés avant de mesurer les absorbances dans la gamme de longueur d'onde d'absorption maximale de 210 à 320 nm.

### 2.3. Préparation des étalons

La solution-mère de caféine (Merck 2584, Allemagne) a été préparée selon la méthode de Seyoum (Seyoum, 2017) avec modification. 8,5 mg de caféine ont été dissous dans 50 ml de dichlorométhane et la solution obtenue a été agitée pendant 30 min à l'aide d'un agitateur magnétique. Une solution-mère de caféine de  $8,7 \times 10^{-4} M$  a été successivement diluée avec du dichlorométhane pour obtenir les concentrations finales des solutions étalons allant de  $1,74 \times 10^{-5} M$  à  $5,5 \times 10^{-4} M$  dont les absorbances ont permis d'établir une courbe d'étalonnage.

### 2.4. Quantification de la caféine

L'absorbance de la caféine a été déterminée à l'aide d'un spectrophotomètre (UV/VIS 6705 Jenway, Staffordshire, UK) réglé à une longueur d'onde d'absorption maximale de 276 nm (Seyoum, 2017) La teneur en caféine a été quantifiée à l'aide des équations (1) et (2) :

$$C = \frac{A + 0.0084}{0.1003} \quad (1)$$

$$T = \frac{C \times M \times V \times 100}{m_s} \quad (2)$$

où  $C$  représente la concentration de la caféine calculée (en  $10^{-5}$  mol/l),  $A$  l'absorbance de l'échantillon,  $M$  la masse molaire de la caféine (en g/mol),  $m_s$  la masse de l'échantillon (en g),  $V$  le volume total des quatre extraits (en l), et  $T$  la teneur en caféine (en %). La masse de caféine contenue dans 250 ml de boisson à base de café a été calculée selon l'équation (3):

$$m_0 = C \times M \times \frac{V_T}{V_C} \times V_e \times K \quad (3)$$

où  $m_0$  représente la masse de la caféine (en mg) contenue dans une tasse de 250 ml de l'infusion du café préparée,  $C$  la concentration de la caféine (en mol/l),  $M$  la masse molaire de la caféine (en g.mol<sup>-1</sup>),  $V_T$  le volume de l'infusion du café dans une tasse (en ml),  $V_C$  le volume prélevé de l'infusion du café (en ml),  $V_e$  le volume total des 4 extraits au dichlorométhane (en ml) et  $K$  le facteur de dilution.

La teneur en caféine de chaque extrait a été calculée à l'aide de l'équation (4) obtenue à partir de la courbe d'étalonnage ( $r^2=0,9989$ ).

$$y = 0,1003x - 0,0084 \quad (4)$$

où  $x$  et  $y$  représentent respectivement la concentration de caféine et l'absorbance.

### 2.5. Analyse des données

Les données ont été traitées à l'aide du tableur Excel. Le logiciel Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) (IBM, 2017) a été utilisé pour réaliser l'analyse de variance (ANOVA) couplée au test de Duncan (Kim, 2017; Sawyer, 2009).

## 3. Présentation et discussion des résultats

### 3.1. Extraction de la caféine

Afin d'assurer une extraction maximale de la caféine du café, un spectre d'absorption a été déterminé pour chaque extrait. La Figure 2 montre la superposition de quatre spectres obtenus correspondant à quatre extractions successives. Cette figure montre que la quantité de caféine diminue avec l'augmentation du nombre d'extraits. L'absorbance du quatrième extrait (0,037), dont le spectre était plus proche de la ligne de base (Figure 2), a suggéré que l'extraction était complète car elle est inférieure à 0,05 (Sharif et al., 2014). Cette observation a donc permis l'extraction de la caféine en quatre étapes successives comme le recommande Abebe *et al.* (Belay et al., 2008).

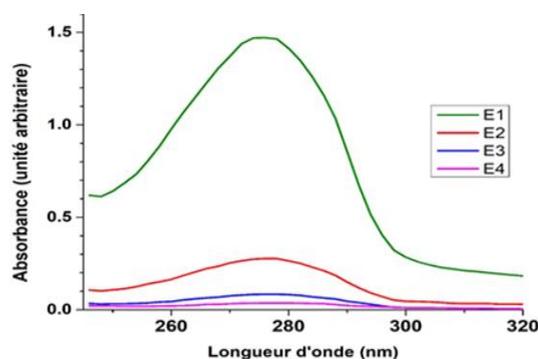


Figure 2. Superposition des spectres obtenus à partir d'extraits dichlorométhanoïques de caféine.

### 3.2. Teneur en caféine des échantillons

Les teneurs en caféine des catégories de café produites dans différentes régions caféicoles du Burundi ont été déterminées. Les résultats sont repris dans le Tableau 1 montrant que les teneurs en caféine sont dans la même intervalle que les valeurs issues des études similaires (Gichimu et al., 2014) (Silvarolla et al., 2000).

Tableau 1 : Teneurs en caféine (%) des différentes catégories de café issues des différentes régions caféicoles.

Catégorie	Région caféicole			
	Kirimiro	Mirwa	Kayanza	Ngozi
FW A	1,50 ± 0,07 <sup>a</sup>	-	-	-
FW AA	-	1,38 ± 0,03 <sup>b</sup>	-	-
FW 15 <sup>+</sup>	1,24 ± 0,03 <sup>bc</sup>	1,15 ± 0,11 <sup>c</sup>	1,12 ± 0,02 <sup>c</sup>	1,30 ± 0,09 <sup>a</sup>
FW PB	1,18 ± 0,06 <sup>c</sup>	-	-	-
FW TT	1,29 ± 0,01 <sup>b</sup>	1,38 ± 0,01 <sup>b</sup>	1,50 ± 0,02 <sup>a</sup>	-
FW T	1,30 ± 0,02 <sup>b</sup>	-	-	-
Natural 1	1,30 ± 0,00 <sup>b</sup>	-	1,36 ± 0,01 <sup>b</sup>	-
Natural 2	-	1,54 ± 0,02 <sup>a</sup>	-	-
FW STLT	1,25 ± 0,04 <sup>bc</sup>	-	-	-

Le signe - indique l'absence de l'échantillon d'une catégorie donnée dans une région caféicole. Dans une colonne, les mêmes lettres en exposant indiquent que les teneurs en caféine ont une différence non significative

Globalement, les résultats indiquent que la plus faible quantité de caféine ( $1,12 \pm 0,02\%$  pour FW 15<sup>+</sup>) et la plus forte teneur ( $1,54 \pm 0,02\%$  pour Natural 2) ont été trouvées dans les échantillons de café respectivement collectés à Kayanza et à Mirwa. Ces valeurs sont proches des teneurs reportées par d'autres chercheurs, et cela avec la même méthode spectrophotométrique. Par exemple, Sualeh *et al.* (Sualeh et al., 2020) ont trouvé des teneurs comprises entre 0,98% et 1,41% dans 9 districts d'Ethiopie. L'analyse des résultats du tableau 1 montre que la teneur en caféine peut fortuitement varier en fonction des catégories de café dans une même région caféicole ( $p$ -value < 0,05). C'est le cas, par exemple, de catégories FW A, FW 15<sup>+</sup> et FW PB collectés dans la région caféicole de Kirimiro. Cette variation pourrait être liée aux méthodes de préparation des cerises, d'une part, et l'âge des caféiers, à la fertilisation des sols par des engrais chimiques ou à leur couverture par le paillis (Anaclet et al., 2021), d'autre part. Cependant, les paramètres ci-haut évoqués semblent ne pas influencer les teneurs en caféine des catégories FW 15<sup>+</sup>, FW TT, FW T, Natural 1 et FW STLT produites dans la région de Kirimiro où ces teneurs sont similaires ( $p$ -value > 0,05) pour des raisons inconnues. Les teneurs en caféine des catégories FW 15<sup>+</sup> et FW TT collectées dans les régions de Kirimiro, Mirwa et Kayanza montrent que la teneur en caféine peut aussi varier en fonction de la région dans laquelle le café a été cultivé. En effet, bien que contestés (Franca et al., 2005), les résultats des études similaires ont souligné l'importance des facteurs environnementaux sur le contenu biochimique des grains de café vert (Abeyot et al., 2011; Bertrand et al., 2006), y compris la teneur en caféine. Néanmoins, la similarité des catégories FW 15<sup>+</sup> et FW TT collectées dans la région de Kirimiro n'est pas observée dans les mêmes catégories collectées dans les régions de Mirwa et Kayanza pour des raisons non encore documentées.

### 3.3. Teneur en caféine du café à boire

Compte tenu des effets indésirables que la caféine peut avoir sur la santé humaine (Browne et al., 2007; Hering-Hanit & Gadoth, 2003; Turnbull et al., 2017; Yang et al., 2007), il est très important de quantifier la caféine consommée. La méthode de préparation est l'un des paramètres qui influencent le plus la concentration de la caféine dans les boissons (Bunker & McWilliams, 1979). L'analyse des échantillons de café en poudre préparés par l'ODECA a montré que les teneurs en caféine de S1 ( $1,25 \pm 0,01\%$ ), S2 ( $1,35 \pm 0,02\%$ ), S3 ( $1,41 \pm 0,03\%$ ), S4 ( $1,49 \pm 0,03\%$ ), S5 ( $1,25 \pm 0,02\%$ ) et S6 ( $1,30 \pm 0,09\%$ ) sont toutes différentes ( $p$ -value < 0,05). Les échantillons S1 (faible teneur en caféine) et S4 (teneur élevée en caféine) ont été choisis pour la quantification de la caféine contenue dans une tasse de 250 ml. Comme les extraits obtenus successivement à l'aide de l'eau du robinet et du dichlorométhane pourraient contenir d'autres substances, un spectre a été déterminé (Figure 3).

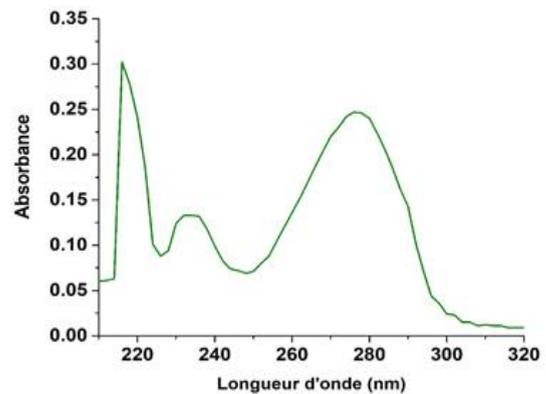


Figure 3 : Spectre UV-Visible de l'extrait de l'infusion du café.

Ce spectre a trois pics correspondant à 217 nm, à 233 nm et à 276 nm. A l'exception du troisième pic qui représente la caféine (Atomssa & Gholap, 2011), les autres pics peuvent représenter d'autres substances inconnues dont la détermination de leur nature requiert une étude *ad hoc*.

La masse de la caféine contenue dans une tasse de café (250 ml) préparée selon la méthode de l'ODECA a été déterminée. Les résultats expérimentaux montrent que cette masse varie de  $56,52 \pm 0,75$  mg (S1) à  $66,36 \pm 1,17$  mg (S4). Cependant, les teneurs en caféine calculées se sont respectivement avérées être de 68,23 mg (S1) et 93,57 mg (S4). Cette différence serait principalement due aux solvants utilisés pour l'extraction de la caféine. En effet, de l'eau a été utilisée pour la préparation du café au lieu du dichlorométhane couramment utilisé pour extraire la caféine à des fins expérimentales, ce qui a entraîné une rétention de caféine de 17,16 % (S1) et 29,07% (S4).

Afin de minimiser les effets néfastes de la caféine chez l'homme, la consommation quotidienne de cette substance a été recommandée par diverses agences nationales. La quantité de caféine maximale recommandée peut aller de 200 mg à 400 mg par jour (Reyes & Cornelis, 2018). Sur base de ces dosages autorisés, des suggestions de prises journalières ont été faites pour le café produit au Burundi à condition que le café soit préparé comme décrit dans cette étude. En effet, il a été démontré que la méthode de préparation et la quantité de boisson à base de café consommée influencent l'estimation de l'apport en caféine (Bell et al., 1996; Bunker & McWilliams, 1979). Bien qu'une possible perturbation du sommeil ait été observée, une consommation allant jusqu'à 7 tasses de 250 ml de S1 et 6,5 tasses de S4 peut présenter des effets bénéfiques, tels que la prévention de la maladie d'Alzheimer, de la cataracte, du cancer et du diabète pour les adultes sains (Londzin et al., 2021; Nowaczewska & Wiciński Michałand Kazmierczak, 2020; Yang et al., 2007). La consommation de ce même nombre de tasses a pour importance l'amélioration des performances fonctionnelles chez les femmes de plus de 45 ans (Waer et al., 2021). En revanche, il est très important de tenir compte des différences individuelles, y compris l'état de santé, l'âge et l'activité physique. Ainsi, les personnes souffrant d'hypertension artérielle peuvent prendre jusqu'à 2,5 tasses de S1 ou 2 tasses de S4 par jour sans nuire à leur santé (Mahmud

& Feely, 2001). Les enfants et les femmes en âge de procréer ont besoin de conseils spécifiques pour modérer leur prise de la caféine. Par exemple, pour un enfant de 25 kg, la prise journalière ne doit pas dépasser une seule tasse de 250 ml du café produit au Burundi (Nawrot et al., 2003). La consommation de la caféine pour les femmes allaitantes et les femmes enceintes en bonne santé ne doit pas dépasser 200 mg/jour soit un équivalent de 3,5 tasses de S1 ou 3 tasses de S4 par jour (van Dam et al., 2020). Mais, il faut noter que le café n'est pas la seule de la caféine. La prise du café avec un autre produit tel que du thé, du chocolat, des boissons énergétiques, pouvant contenir de la caféine pourrait élever de plus la caféine prise par jour.

#### 4. Conclusion

La teneur en caféine du café produit au Burundi a été déterminée. La connaissance de ces teneurs qui se situent dans la gamme d'autres cafés produits ailleurs a permis la suggestion d'un guide de consommation quotidienne de caféine. Les résultats de cette étude pourraient aider les consommateurs à modérer la quantité de la caféine prise par jour. Ils peuvent aussi aider l'ODECA non seulement à établir des étiquettes à mettre sur les emballages de café produits au Burundi afin d'informer les consommateurs mais aussi à améliorer son protocole de préparation du café à boire. Cependant, d'autres recherches sont nécessaires pour caractériser d'autres substances présentes dans du café à boire.

#### Remerciements

Les auteurs remercient les autorités de l'ODECA pour avoir fourni les échantillons de café et les réviseurs anonymes pour leurs précieuses suggestions et leur examen critique par les pairs.

#### Références bibliographiques

- Abeyot, T., Sentayehu, A., Taye, K., Weyessa, G., & others. (2011). Variability and association of quality and biochemical attributes in some promising *Coffea arabica* germplasm collections in southwestern Ethiopia. *International Journal of Plant Breeding and Genetics*, 5(4), 302–316.
- Anaclet, N., Laurence, J., Gilbert, N., Evariste, N., Cyriaque, S., Piet, V., & Charles, B. (2021). Status and management of coffee plantations in Burundi: Reasons to worry. *African Journal of Agricultural Research*, 17(9), 1180–1191.
- 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.
- Bell, L. N., Wetzel, C. R., & Grand, A. N. (1996). Caffeine content in coffee as influenced by grinding and brewing techniques. *Food Research International*, 29(8), 785–789.
- Bertrand, B., Vaast, P., Alpizar, E., Etienne, H., Davrieux, F., & Charmetant, P. (2006). Comparison of bean biochemical composition and beverage quality of Arabica hybrids involving Sudanese-Ethiopian origins with traditional varieties at various elevations in Central America. *Tree Physiology*, 26(9), 1239–1248.
- Browne, M. L., Bell, E. M., Druschel, C. M., Gensburg, L. J., Mitchell, A. A., Lin, A. E., Romitti, P. A., & Correa, A. (2007). Maternal caffeine consumption and risk of cardiovascular malformations. *Birth Defects Research Part A: Clinical and Molecular Teratology*, 79(7), 533–543.
- Bunker, M. L., & McWilliams, M. (1979). Caffeine content of common beverages. *Journal of the American Dietetic Association*, 74(1), 28–32.
- Butt, M. S., & Sultan, M. T. (2011). Coffee and its consumption: benefits and risks. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(4), 363–373.
- Fajara, B. E. P., & Susanti, H. (2017). HPLC determination of caffeine in coffee beverage. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 259(1), 12011.
- Franca, A. S., Mendonça, J. C. F., & Oliveira, S. D. (2005). Composition of green and roasted coffees of different cup qualities. *LWT-Food Science and Technology*, 38(7), 709–715.
- Gichimu, B. M., Gichuru, E. K., Mamati, G. E., & Nyende, A. B. (2014). *Biochemical composition within Coffea arabica cv. Ruiru 11 and its relationship with cup quality*.
- Glade, M. J. (2010). Caffeine-not just a stimulant. *Nutrition*, 26(10), 932–938.
- Hayat, K., Iqbal, H., Malik, U., Bilal, U., & Mushtaq, S. (2015). Tea and its consumption: benefits and risks. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(7), 939–954.
- Hering-Hanit, R., & Gadoth, N. (2003). Caffeine-induced headache in children and adolescents. *Cephalalgia*, 23(5), 332–335.
- ISTEEBU. (2021). *Bulletin du commerce extérieur de marchandises*. 1–52.
- Jarvis, M. J. (1993). Does caffeine intake enhance absolute levels of cognitive performance? *Psychopharmacology*, 110(1), 45–52.
- Kim, T. K. (2017). Understanding one-way ANOVA using conceptual figures. *Korean Journal of Anesthesiology*, 70(1), 22–26.
- Londzin, P., Zamora, M., Kakol, B., Taborek, A., & Folwarczna, J. (2021). Potential of caffeine in Alzheimer's diseases. A review of experimental studies. *Nutrients*, 13(2), 537.
- Mahmud, A., & Feely, J. (2001). Acute effect of caffeine on arterial stiffness and aortic pressure waveform. *Hypertension*, 38(2), 227–231.
- Metro, D., Cernaro, V., Santoro, D., Papa, M., Buemi, M., Benvenga, S., & Manasseri, L. (2017). Beneficial effects of oral pure caffeine on oxidative stress. *Journal of Clinical & Translational Endocrinology*, 10, 22–27.

- Nawrot, P., Jordan, S., Eastwood, J., Rotstein, J., Hugenholtz, A., & Feeley, M. (2003). Effects of caffeine on human health. *Food Additives & Contaminants*, 20(1), 1–30.
- Nowaczewska, M., & Wiciński Michał and Kaźmierczak, W. (2020). The ambiguous role of caffeine in migraine headache: From trigger to treatment. *Nutrients*, 12(8), 2259.
- Perrois, C., Strickler, S. R., Mathieu, G., Lepelley, M., Bedon, L., Michaux, S., Husson, J., Mueller, L., & Privat, I. (2015). Differential regulation of caffeine metabolism in *Coffea arabica* (Arabica) and *Coffea canephora* (Robusta). *Planta*, 241(1), 179–191.
- Quadra, G. R., Brovini, E. M., dos Santos, J. A., & Paranaíba, J. R. (2022). Caffeine consumption over time. In *Handbook of substance misuse and addictions: From Biology to Public Health* (pp. 1–18). Springer.
- Reyes, C. M., & Cornelis, M. C. (2018). Caffeine in the diet: country-level consumption and guidelines. *Nutrients*, 10(11), 1772.
- Sawyer, S. F. (2009). Analysis of variance: the fundamental concepts. *Journal of Manual & Manipulative Therapy*, 17(2), 27E–38E.
- Seyoum, A. (2017). *Determination 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*. Addis Ababa University.
- 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.
- Silvarolla, M. B., Mazzafera, P., & Lima, M. M. A. de. (2000). Caffeine content of ethiopian *coffea arabica* beans. *Genetics and Molecular Biology*, 23, 213–215.
- Sualeh, A., Tolessa, K., & Mohammed, A. (2020). Biochemical composition of green and roasted coffee beans and their association with coffee quality from different districts of southwest Ethiopia. *Heliyon*, 6(12), e05812.
- Turnbull, D., Rodricks, J. V, Mariano, G. F., & Chowdhury, F. (2017). Caffeine and cardiovascular health. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 89, 165–185.
- Vaibhav, D., Arunkumar, W., Abhijit, M. P., & Arvind, S. (2011). Antioxidants as immunomodulator: An expanding research. *Avenue Int J Curr Pharmaceut Res*, 3, 8–10.
- van Dam, R. M., Hu, F. B., & Willett, W. C. (2020). Coffee, caffeine, and health. *New England Journal of Medicine*, 383(4), 369–378.
- Waer, F. Ben, Laatar, R., Jouira, G., Srihi, S., Rebai, H., & Sahli, S. (2021). Functional and cognitive responses to caffeine intake in middle-aged women are dose depending. *Behavioural Brain Research*, 397, 112956.
- 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.