

PHYTOCHIMIE. — *Sur la formation d'un complexe « depside-caféine » lors de la conservation, au froid, en milieu hydro-éthanolique, d'échantillons foliaires de caféiers. Implications méthodologiques pour l'extraction des depsides.* Note (*) de **Jean-Paul Colonna**, présentée par M. Roger Gautheret.

Après fixation à l'éthanol bouillant puis conservation au froid à -25°C , en milieu hydro-éthanolique, les depsides présents dans les feuilles de caféiers n'apparaissent pas à l'extraction par l'éthanol fort. Le complexe qu'ils forment avec la caféine les masque. Un traitement au chloroforme rompt le complexe et les fait réapparaître, il est possible alors de les doser dans leur totalité. Le complexe correspond à un « artefact » de conservation au froid; il ne peut exister en quantité importante dans les tissus vivants; il se forme aussi bien avec l'acide chlorogénique qu'avec ses isomères.

The depsides present in coffee leaves are not apparent upon extraction with ethanol if the plant material has been fixed in boiling ethanol then maintained at -25°C . A complex formed with caféin prevents the extraction and this artefact from cold conservation concerns chlorogenic acid and its isomers. A treatment with chloroform can break the complex and allows the depsides to be dosed. The complex does not seem to exist in living tissues.

J'ai traité précédemment ⁽¹⁾ d'une méthode de séparation et de dosage des depsides caféyl-quiniques chez le caféier, après fixation à l'azote liquide puis lyophilisation du matériel végétal. L'impossibilité d'utiliser ce dernier procédé d'une façon constante m'a conduit à le remplacer par une stabilisation à l'éthanol bouillant [⁽²⁾, ⁽³⁾]. De plus, la nécessité de répartir dans le temps le traitement de divers échantillons récoltés au même moment m'imposait de conserver ces échantillons à -25°C , durant plusieurs semaines. Or, le froid favorise ⁽⁴⁾ l'apparition du complexe entre l'acide chlorogénique et la caféine [⁽⁵⁾, ⁽⁶⁾]. Il importait donc de vérifier que l'éventuelle formation de ce dérivé de condensation n'empêchait pas l'extraction et la détermination quantitative des depsides.

PREUVES DE LA FORMATION DU COMPLEXE. — *Présence des depsides et de la caféine à l'état non combiné chez le caféier.* — La découverte et l'étude des depsides de l'acide quinique sont liées au café ⁽⁷⁾; la plupart des espèces du genre *Coffea* en contiennent. Il en est de même de la caféine, sauf pour la section *Mascarocoffea* ⁽⁸⁾. Pour les caféiers *robusta* et *excelsa*, j'ai constaté que l'éthanol fort dans lequel le complexe n'est pas soluble, extrait la quasi totalité de l'acide chlorogénique et de la caféine présents, aussi bien du matériel végétal « tel quel » que lyophilisé ⁽¹⁾. La plus grande partie de l'acide chlorogénique des grains et des feuilles vivants ne serait donc pas liée à la base purique.

Absence apparente de depsides, après fixation à l'éthanol bouillant et conservation à -25°C . — A la suite d'une expérience portant sur de jeunes plants de caféiers, j'ai constitué puis fixé à l'éthanol bouillant quinze échantillons de feuilles. Après six mois de conservation au congélateur à -25°C , broyage, prélèvement d'une aliquote du broyat et extraction, l'analyse ne révélait aucune trace de depsides pour ces échantillons. Le procédé d'extraction utilisé ⁽¹⁾ faisait intervenir l'éthanol fort puis l'éther de pétrole pour la dépigmentation et la purification partielle. Sur ce même matériel végétal, récemment stabilisé à l'azote liquide, il permettait de mettre en évidence d'importantes quantités de depsides. Les depsides existaient donc bien dans ce matériel, mais se trouvaient masqués à la suite de cette longue période de conservation à -25°C . La formation du complexe durant ce laps de temps et l'incapacité du solvant à l'extraire, constituaient la première explication possible de ce phénomène.

22 SEP. 1977
O. R. S. T. O. M. ex 1
Collection de Référence
n° 8269 B. B. V.

Rupture du complexe par le chloroforme et réapparition des depsides. — Pour retrouver les depsides éventuellement masqués comme constituants du complexe, il faut rompre ce dernier. Celui-ci se défait lorsque le pH s'élève ⁽⁹⁾, mais diverses dégradations interviennent ⁽¹⁰⁾. Il peut alors s'extraire par l'éthanol moins fort ou par l'eau, sans séparation des constituants. Par contre, la relative faiblesse des forces qui unissent le depside à la base purique ⁽¹¹⁾ laisse supposer qu'un solvant pour lequel les deux constituants présenteraient des différences de solubilité marquées permettrait de les séparer. Le chloroforme remplit ces conditions. Le traitement de l'échantillon au chloroforme fait, effectivement réapparaître les depsides masqués : c'est une preuve indirecte mais indiscutable de la formation du complexe.

TABLEAU

Quantités de depsides mises en évidence sur divers échantillons de feuilles de caféiers, fixés à l'éthanol bouillant et conservés durant 6 mois à -25°C (I. avant rupture du complexe « depside caféine »; II. après rupture

du caféier ne nécessite aucun traitement d'extraction tendant à rompre le complexe; il en est de même, après fixation très récente à l'éthanol bouillant comme je l'ai vérifié sur *C. arabica*. A la suite d'une stabilisation à l'éthanol bouillant et longue conservation à -25°C , ces composés semblent disparaître : le complexe se forme; un tel traitement devient obligatoire. De plus, dans ce dernier cas, l'éthanol de fixation maintenu durant une longue période en contact avec la poudre végétale extrait à peu près entièrement les depsides et la caféine. Ceci ne se produit pas s'il n'y a pas longue conservation au froid, mais explique la disparition apparente totale des depsides et de la caféine, qui peuvent

(⁴) R. R. PARIS et M. NISHIO, *Comptes rendus*, 270, série D, 1970, 1465-1467.

(⁵) A. PAYEN, *Précis de Chimie Industrielle*, Hachette éd., 1851, n. 569.