

Réf :

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Optimisation des conditions
d'extraction des composés phénoliques
à partir des feuilles de goyavier
(*Psidium guajava*)**

Présenté par :

ABACHE Fatima & ABBoud Lydia

Soutenu le : 15 Septembre 2020

Devant le jury composé de :

Mme KOUACHI K.

MCA

Président

Mme CHOUGUI N.

MCA

Encadreur

Mme Tamendjari S.

MCB

Examineur

Année universitaire : 2019 / 2020

Remerciements

Avant toute chose, nous remercions Dieu, le tout puissant, de nous avoir donné la force et la patience pour achever ce travail.

Nos vifs remerciements et profonde gratitude s'adressent à notre promotrice Mme CHOUGUI, qui a accepté de nous encadrer, nous le remercions infiniment pour sa grande patience et ses conseils durant la réalisation du présent travail.

Je tiens à remercier les membres du jury pour l'honneur qu'ils nous ont accordés en jugeant ce travail, Mme KOUACHI, qui nous a fait l'honneur par sa présence en qualité de présidente de jury et Mme TAMENDJARI, pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Un chaleureux remerciement à nos parents pour leur amour inestimables, leurs Confiances, leurs soutiens, leurs sacrifices et leurs encouragements.

Nous remercions aussi tous ceux qui ont contribué des près ou de loin, nos famille pour la réalisation de notre travail.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

Ma mère et mes chères oncles Yacine et Fares, leurs épouses Djamila et Fifis sans oublier ma chère tante Siham pour leur affection, leur soutien, leurs efforts et sacrifices qu'ils ont entrepris afin de me voir réussir.

A mes chers frères et sœurs, Qodsi, Chatila, Oussama et Nazim.

A ma chère grande mère qui nous a quittés très tôt et qui est toujours présente dans nos cœurs.

J'espère que, le monde qui est le sien maintenant, apprécie cet humble geste, preuve de reconnaissance de sa petite fille qui a toujours prié pour elle. Que Dieu, tout puissant, te garde dans son vaste paradis.

A mes chers amies que je considère comme sœurs : Chouchou, Tita, Lynda, Saida, Sissa, Lila, Sinouh, Lydia, Nora, Celia et Chanez sans oublier mes copines de chambre Ouardia et Lynda.

A mon ami cher à mon cœur : Zineddine, et à tous mes amis avec qui j'ai vécu de beaux moments au cours de mon cursus Universitaire.

A ma camarade Lydia et à toute sa famille

FATIMA

Dédicace

*J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail en signe de respect et de reconnaissance
A ma tendre mère pour son soutien, son encouragement permanent et ses prières. Que dieu te
protège.*

A la mémoire de mon père, qui est et qui demeura dans mon cœur à tout jamais.

Que dieu l'accueille dans son vaste paradis.

A mes deux sœurs : Yasmina et Fazia, à mon petit frère : Yanis

Pour leur aide, leur présence et leur soutien

A tout mes amis surtout :

*Biba, Celia, Chanez, Katia, Nabila, Moh, Tarik et Bimou à qui je tiens beaucoup, qui m'ont
accompagné et encouragé durant ces années*

A ma cher camarade Fatima

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail

Lydia

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction	1
--------------------	---

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Description de la plante	3
1- Caractères généraux de la famille des Myrtaceae	3
2- Goyavier (Psidium guajava)	3
2-1 Description botanique.....	3
2-2 Classifications systématiques	4
2-3 Répartition géographique et production du goyavier	5
2-4 Variétés	6
2-5 Composition et valeur nutritionnelle de la goyave	7
Chapitre II : Antioxydants des feuilles de goyavier	10
1- Composition chimique des feuilles de goyavier	10
2- Autre composants des feuilles de goyavier.....	11
3- Antioxydants	11
3-1 Acide ascorbique (Vitamine C)	12
3-2 Caroténoïdes	12
3-3 Composés phénoliques	13
3-3-1 Flavonoïdes.....	13
3-3-2 Tannins	14
4- Rôles des antioxydants	15
5- Effets thérapeutique des feuilles de goyavier	16
5-1 Effet antidiarrhéique.....	16
5-2 Effet antimicrobien.....	16
5-3 Effet antitussif	17
5-4 Effet hépato-protecteur.....	17
5-5 Effets anticancéreux	17
5-6 Effets cardiovasculaires.....	17
5-7 Effet antihyperglycémique.....	17

5-8 Effet anti-inflammatoire et analgésique	18
6- Utilisation des feuilles du goyavier en médecine traditionnelle	18
Chapitre III : Optimisation d'extraction des composés phénoliques	19
1- Introduction.....	19
2- Méthodes d'extraction des composés phénoliques	19
2-1 Infusion.....	19
2-2 Décoction.....	19
2-3 Macération	20
2-4 Extraction par soxhlet.....	20
2-5 Extraction assistée par ultrasons (UAE).....	20
2-6 Extraction moderne par micro-onde (MAE).....	21
2-7 Extraction accélérée par solvant (EAS).....	21
2-8 Extraction par fluide supercritique (EFS).....	21
2-9 Extraction par champs électrique pulsé (CEP)	21
3- Paramètres d'extraction des composés phénoliques.....	22
3-1 Effet du matériel végétal.....	22
3-2 Effet du ratio liquide solide	22
3-3 Effet du solvant	22
3-4 Effet du couple température-temps	23

PARTIE EXPERIMENTAL

Matériel et méthodes	24
1- Matrice végétale	24
1-1 Choix de la matrice.....	24
1-2 Préparation de la matrice	24
2- Test d'humidité	24
3- Optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques.....	25
3-1 Optimisation de la concentration du solvant d'extraction	25
4- Dosage des composés phénoliques totaux	25
5- Activités antioxydante : Inhibition du radical DPPH.....	26
6- Analyse statistique.....	27
Résultats et discussion	28
1- Taux d'humidité	28
2- Optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques totaux.....	28
2-1 Optimisation de la concentration du solvant d'extraction	28
Conclusion et perspectives	31
Références bibliographiques	32

Liste des abréviations

Abs : Absorbance.

CPT : composés phénoliques totaux.

DPPH : (1,1-diphényl-2-picryl-hydrazyl).

EAG : équivalent l'acide gallique.

EQ : équivalent quercétine.

HPLC : chromatographie en phase liquide à haute performance.

LDL : Lipoprotéines basse densité.

MS : Matière sèche.

t-BHP : hydroperoxyde de *tert*-butyle.

Liste des figures

Figure 1: <i>Myrtus communis</i> Linné	3
Figure 2: Différentes parties de la plante : feuilles (a), fleurs (b), fruit (c), graine (d) et écorce (e)	4
Figure 3: Les variétés les plus fréquentes de la goyave : en forme de pomme (a) et de poire (b), à pulpe blanche (c) et à pulpe rose.....	7
Figure 4: Structure de l'acide ascorbique	12
Figure 5: Structure de β -carotène.....	13
Figure 6: Structure de base des flavonoïdes	14
Figure 7: Structure d'un tannin hydrolysable	15
Figure 8: Structure d'un Tannin condensé.....	15
Figure 9: Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (AH).....	26
Figure 10: Teneurs en composés phénoliques totaux(a), Inhibition du DPPH(b), des extraits des feuilles obtenus par différentes concentrations d'éthanol	29

Liste des tableaux

Tableau 1: Production mondiale de la goyave par pays (1000 t)	6
Tableau 2: Composition et valeurs moyennes pour 100 g de fruit frais de goyave.....	8
Tableau 3: Les antioxydants de fruit de goyavier.....	9
Tableau 4: La teneur de quelques composés chimiques et quelques métaux des feuilles du goyavier en poudre.....	10
Tableau 5: Les antioxydants des feuilles de goyavier.	11

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses ressources trouvées dans son environnement afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies. Actuellement, l'organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'environ 80% des habitants de la terre ont recours aux préparations traditionnelles à base de plantes en tant que soins de santé primaire (**Lhuillier, 2007**).

En effet, beaucoup d'études épidémiologique ont démontrée qu'une alimentation riche en aliments d'origine naturelle réduit considérablement plusieurs maladies comme les accidents cardiovasculaires et certains types de cancer (**Dauchet et al., 2005**). Les propriétés préventives de ces aliments sont dues à la présence de vitamines (C, E et A), de caroténoïdes et de composés phénoliques (**Guo et al., 2003**) qui sont des molécules dotées d'un pouvoir antioxydant.

Le phénomène d'oxydation, généré par les radicaux libres, affecte aussi bien l'organisme humain que les différents groupes alimentaires existants (**Rolland et al., 2004**). Dans certaines conditions il apparaît un déséquilibre dans la balance oxydants/antioxydant provoqué par une production exagérée des radicaux libres ou par diminution des défenses antioxydantes, ce qu'on appelle le stress oxydatif (**Baudin, 2006**). Pour prévenir les graves séquelles du stress oxydant, il est nécessaire de maintenir l'équilibre entre oxydants et antioxydants, afin de préserver les performances physiologiques optimales de l'organisme, grâce à un apport externe (ex. fruits et légumes) (**Derbel et Ghedira, 2005**).

Psidium guajava dit communément le goyavier dont le fruit est la goyave qui est l'un des plus exploités en région tropicale. En Algérie, ce fruit a été introduit dans les années 70 à titre expérimental. Ce n'est qu'en 1991, qu'un verger a été repris par un agriculteur dans la région de Fouka (Wilaya de Tipaza) pour pouvoir préserver ce fruit exotique.

P. guajava, est une culture vivrière importante, largement utilisée dans la médecine populaire à travers le monde. Différentes expériences pharmacologiques dans un certain nombre de modèles in vitro et in vivo ont démontré la capacité de cette plante (en particulier les feuilles et les fruits) à présenter des activités antihyperglycémique, anticancéreux, cardiovasculaires, anti-inflammatoires, antidiarrhéique...etc (**Vieira et al., 2001 ; Sanda et al., 2011**). Ceci est attribué à sa richesse en antioxydants tels que les composés phénoliques, vitamine C et caroténoïdes qui sont d'une grande importance pour prévenir l'action des radicaux libres dans l'organisme (**Chiari et al., 2012 ; Musaa et al., 2015**).

L'extraction est l'étape initiale et la plus importante pour récupérer les composés bioactifs à partir de la matière végétale. La qualité alimentaire ou thérapeutique d'un produit naturel est liée à l'efficacité et à la sélectivité du procédé d'extraction utilisé tels que la décoction, l'infusion et la macération. Ces techniques d'extraction, sont dites conventionnelles ou classique (**Pierre et Lis, 2007; Sofowora, 2010 ; Cheok et al., 2014**). De nouvelles techniques d'extraction dites innovantes, comme l'extraction assistée par ultrasons, l'extraction assistée par micro-ondes et extraction par fluide supercritique, ont été développées (**Farhat et al., 2009; Cheok et al., 2014 ; Ligor et al., 2018**). Par ailleurs, les composés phénoliques étant très réactifs, les conditions et les paramètres d'extraction peuvent modifier profondément leur interaction avec leur matrice et leur environnement. En effet, beaucoup de facteurs tels que le rapport solide/liquide, la température, le temps et le solvant d'extraction...etc., peuvent influencer de manière significative l'efficacité de l'extraction (**Ghafoor et al., 2009**).

L'objectif de notre travail est d'optimiser les conditions d'extraction des composés phénoliques, en utilisant une méthode conventionnelle simple la macération, de les doser dans l'extrait obtenu, une fois les paramètres optimisés, et d'évaluer leur activité antioxydante par le test d'inhibition de DPPH ainsi que et le pouvoir réducteur du phosphomolybdate et du fer ferrique. Cependant, pour raison de la pandémie due au COVID 19, nous avons été dans l'obligation de réduire le nombre de tests.

Dans la première partie, nous aborderons les différentes connaissances bibliographiques partagées en trois chapitres : le premier est consacré sur la description de la plante, suivi d'un second qui traite les antioxydants des feuilles du goyavier et d'un troisième qui est sur l'optimisation d'extraction des composés phénoliques.

Dans la partie expérimentale, nous développerons dans le premier chapitre le matériel et les méthodes analytiques utilisées pour l'extraction, le dosage colorimétrique des composés phénoliques totaux et l'activité antiradicalaire. Le deuxième chapitre sera consacré aux résultats obtenus dans notre étude.

A la lumière des résultats obtenus, différentes perspectives de recherche seront évoquées.

1- Caractères généraux de la famille des Myrtaceae

Les Myrtacées (Figure 1) sont une famille d'angiospermes, dicotylédone qui comprend Environ 3800 à 5600 espèces réparties en 140 genres. Originaires de l'Amérique du Sud, l'Australie et l'Asie tropicale. Beaucoup d'espèces de cette famille sont cultivées comme plantes ornementales et pour la production de bois, d'huile, résine, épices et fruits. Il existe quatre genres d'intérêt qui produisent des fruits comestibles : *Psidium*, *Eugenia*, *Syzygium* et *Feijoa* (Mitra, 2010).

Ce sont des végétaux ligneux (arbuste à grand arbre), à feuilles simples, opposées, entières à inflorescences axillaires ou terminales avec des fleurs bisexuées, parfois polymorphe, actinomorphe présentant des étamines très nombreuses et des ovaires souvent inférieurs (Mitra et al., 2012).



Figure 1 : *Myrtus communis* Linné (Chabert, 2013).

2- Goyavier (*Psidium guajava*)

2-1 Description botanique

Le goyavier (*Psidium guajava* L.) est dans la classification phylogénétique placé dans la famille des myrtaceae qui renferme environ 150 espèces de *Psidium*. C'est un arbuste ou petit arbre vêtu d'une écorce lisse, verte à brun rouge. Ses racines sont peu profondes se ramifiant à partir de la base et produisant souvent des drageons. Son feuillage persistant est composé de feuilles de 10 à 15 cm de long de couleur vert clair, opposées, ovales et lisse. Il produit de magnifiques fleurs blanches bisexuées, solitaires ou groupées par deux ou trois fleurs, d'environ 2,5 cm de diamètre aux étamines nombreuses et très pollinifères. Son fruit est une baie de taille et de forme variables, sphérique à piriforme, sa peau extérieure de couleur verte virant au jaune pâle à maturité rempli d'une chair blanche, jaune ou rouge et de saveur douce à acide (Pontikis, 1996).

La Figure 2 illustre les différentes parties du goyavier.

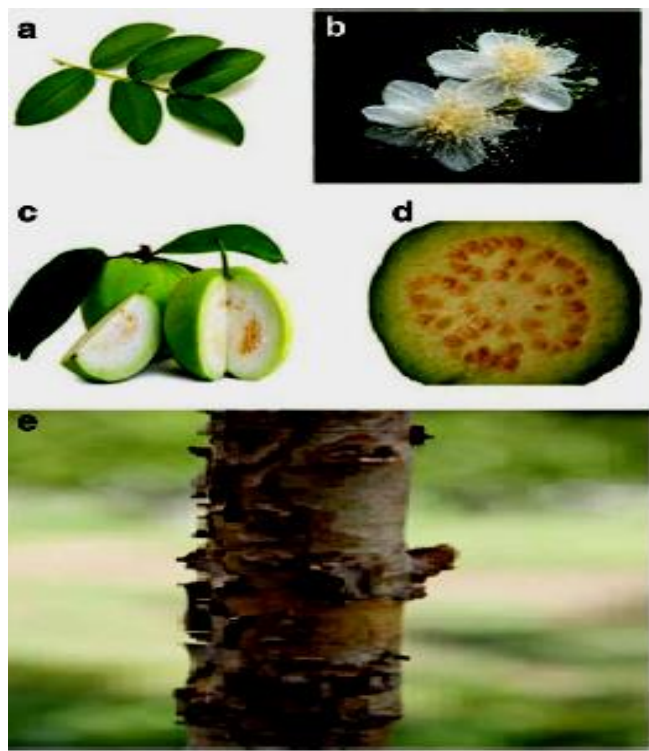


Figure 2 : Différentes parties de la plante : feuilles (a), fleurs (b), fruit (c), graine (d) et écorce (e) (Naseer et *al.*, 2018).

2-2 Classifications systématiques

La classification scientifique de la goyave, selon Dakappa et *al.* (2013), est la suivante :

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Rosidae

Ordre : Myrtales

Famille : Myrtaceae

Genre : *Psidium*

Espèce : *Guajava*

2-3 Répartition géographique et production de goyavier

De nombreux botanistes considèrent que l'espèce est originaire du Mexique ou d'Amérique centrale où elle se trouve à la fois cultivée et sauvage, mais sa distribution a été considérablement étendue grâce à la culture et elle est maintenant répandue dans les régions tropicales et subtropicales. En raison de sa valeur nutritive élevée la goyave est cultivée abondamment dans plusieurs pays tels que le Brésil, Bangladesh, Chine, Indonésie, Inde, Nigéria, Mexique, Pakistan, Thaïlande et Philippines, et commercialement dans presque tous les états de l'Inde (Tableau 1) (**Shaheena et al., 2019**).

Au cours de l'année 2016-2017, la superficie totale de culture de goyave était estimée de 2 61 700 hectares avec une production de 3 648 200 de tonnes (**Shaheena et al., 2019**).

En Algérie, la goyave est nommée également «goyabes» ou «djewaffa», on l'a trouve particulièrement à Fouka (Wilaya de Tipaza). Elle a été introduite à la fin des années 1970 à titre d'expérimentation, selon Hadj Ahmed Hamada, le seul agriculteur en Algérie à se spécialiser dans la culture de ce fruit. Certains affirment que ce fruit a été introduit en Algérie directement du Moyen-Orient, d'autres pensent qu'il a été ramené d'Amérique Latine par les colons. En 1978, il a été créé un verger de 2 hectares au niveau d'un ex-domaine agricole social (Das) à Fouka, qui relevait à l'époque de la wilaya de Blida. Abandonné en 1987, il a été repris en 1991 par Hadj Hamada pour pouvoir préserver ce fruit exotique (**Anonyme 1**).

Tableau 1 : Production mondiale de la goyave par pays (Pommer et Murakami, 2009).

Pays	2000	2001	2002	2003	2004
Inde	1710,5	1631,5	1715,5	1700,0	1700,0
Pakistan	494,5	525,5	550,0	580,0	600,0
Mexique	254,2	263,4	283,3	299,2	317,0
Brésil	117,6	281,1	300,0	300,0	300,0
Égypte	216,8	228,8	243,9	231,2	230,0
Thaïlande	170,1	154,4	160,0	160,0	160,0
Colombie	130,6	149,6	145,0	145,7	154,7
Indonésie	137,6	138,1	138,1	138,1	138,1
Venezuela	120,0	120,0	120,0	120,0	120,0
Soudan	96,3	100,0	100,0	100,0	100,0
Bengladesh	48,0	49,0	49,9	50,9	51,8
Vietnam	38,5	37,8	34,0	35,0	35,0
Malaisie	11,7	13,0	13,1	24,8	28,9

2-4 Variétés

L'espèce présente une grande diversité dans la taille des arbres, le rendement, la qualité de fruits et la résistance aux maladies (**Bourgeois et al., 1998**).

Selon la forme de fruit, les plus courantes sont la goyave en forme de pomme (*Psidium guajava pomifera*) qui possède une chair de couleur blanche, à saveur douce. Elle est surtout dégustée en compote, et la goyave en forme de poire (*Psidium guajava piriforma*) qui possède une chair colorée, à saveur agréable. Elle est utilisée en frais et pour les produits de transformations (**Nicole et François, 2013**).

La Figure 3 représente les variétés les plus fréquentes de la goyave.

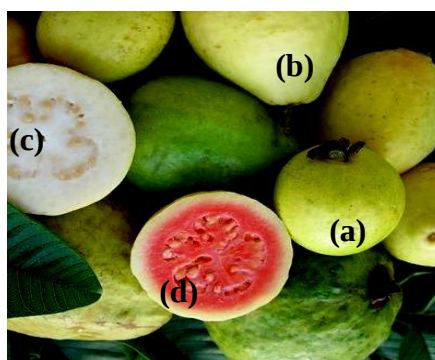


Figure 3 : Les variétés les plus fréquentes de la goyave : en forme de pomme (a) et de poire (b), à pulpe blanche (c) et à pulpe rose (d) (**Anonyme 2**).

2-5 Composition et valeur nutritionnelle de la goyave

Du fait de la multiplicité des variétés des régions ou des techniques culturales, une composition type de la goyave est difficile à établir. La goyave est un fruit caractérisé par sa forte teneur en eau qui est de l'ordre de 84 g/100 g de fruit. Peu calorique en raison de sa faible teneur en glucides (6 g/100g), qui sont constitués pour l'essentiel par des sucres simples : glucose (2 g/100g), fructose (3,5 g/100g) et saccharose (0,5 g/100g), les autres constituants énergétiques ne sont présents qu'en faibles proportions : 1 g de protéines et 0,5 g de lipides pour 100 g de fruit. La goyave est une source importante de fibres (5 g/100g), ce qui le rend extrêmement bénéfique pour la santé. Les valeurs en potassium et en sodium donnent un rapport K/Na particulièrement élevé qui confère à la goyave de réelles propriétés diurétiques, elle renferme également des quantités non négligeables de calcium (18 mg/100g), magnésium (12 mg/100g), zinc (0,6m g/100g), phosphore (30 mg/100g) et de fer (0,8 mg/100g). Dans les goyaves consommées crues, la quantité de la vitamine C (300 mg/100g) est très importante, elles contiennent deux à cinq fois plus de vitamine C que les oranges fraîches, on trouve aussi de la vitamine B, en particulier la vitamine B₁ (0,03 mg), B₂ (0,04 mg) et une valeur relativement élevée en vitamine B₃ (1 mg/100g) (**Nicole et François, 2013**). La composition chimique de la goyave (dans 100 g du fruit) est présentée dans le tableau 2.

Tableau 2 : Composition et valeurs moyennes pour 100 g de fruit frais de goyave (Nicole et François, 2013).

Composés	Teneur
Énergie	34 Kcal
Eau	84 g
Protides	1 g
Lipides	0,5 g
Glucides dont	6 g
Glucose	2 g
Fructose	3,5 g
Saccharose	0,5 g
Fibres	5 g
Sodium	4 mg
Potassium	300 mg
Magnésium	12 mg
Calcium	18 mg
Fer	0,8 mg
Zinc	0,6 mg
Phosphore	30 mg
Vitamine B1	0,03 mg
Vitamine B2	0,04 mg
Vitamine B3	1 mg
Vitamine C	300 mg
Acide malique	300 mg
Acide citrique	500 mg
Acide lactique	20 mg

La goyave présente une composition riche et variable en antioxydants. En effet, plusieurs études scientifiques ont démontré que la goyave avait un contenu élevé en composés phénoliques, en particuliers les flavonoïdes (apigénine, isorhamnétine, kaempférol, lutnéoline, myricétine et quercétine) et l'acide ascorbique (Musa et al., 2015). Ces derniers sont d'une grande importance pour prévenir l'action des radicaux libres dans le corps, capables de causer des maladies telles que le cancer et le vieillissement prémature de la peau...), elle contient également des caroténoïdes qui inhibent la croissance de cellules cancéreuses (Chiari et al.,

2012). D'autres éléments ont été détectés : des huiles essentielles, des sesquiterpénoïdes, des acides triterpénoïdes, alcaloïdes, stéroïdes, tanins et des saponines (Baby, 2011).

Le Tableau 3 regroupe quelques antioxydants de fruit de goyavier.

Tableau 3 : Les antioxydants de fruit de goyavier (Ellong et al., 2015).

Antioxydants	Teneurs
Flavonoïdes (mg EQ/g100MS)	49,6
CPT (mg EAG/100gMS)	422,7
Caroténoïdes (µg/100g MS)	604,3

1- Composition chimique des feuilles de goyavier

Dans une étude sur les feuilles du goyavier en poudre en effectuant une analyse phytochimique et une analyse immédiate. L'analyse phytochimique des feuilles du goyavier en poudre a révélé la présence des flavonoïdes, tannins, saponines, phénols, alcaloïdes, glycosides et stéroïdes qui sont importants en tant que composés de protection et de lutte contre les maladies. L'analyse immédiate des feuilles a révélé un pourcentage élevé en glucides (54,53%), des niveaux modérés de protéines (18,64%), d'eau (10,74%) et de fibres (10,37%) avec des niveaux faibles de cendres (4,35%) et de matières grasses (1,37%) (Tableau 4) (Offor, 2015).

L'analyse de la teneur en métal des feuilles du goyavier en poudre a révélé la présence de sept métaux calcium (1,34 mg/kg MS), magnésium (0,64 mg/kg MS), potassium (0,76 mg/kg MS), sodium (0,05 mg/kg MS), fer (16,18 mg/kg MS), manganèse (29,23 mg/kg MS) et zinc (56,49 mg/kg MS) (Tableau 4) (Okunrobo et al., 2010).

Tableau 4 : La teneur de quelques composés chimiques et quelques métaux des feuilles du goyavier en matière sèche (Okunrobo et al., 2010 ; Offor, 2015).

Composants	Teneurs
Glucides (% MS)	54,53
Protéines (% MS)	18.64
Eau (% MS)	10,74
Fibres (% MS)	10,37
Cendres (% MS)	4,35
Graisses (% MS)	1,37
Calcium (mg/kg MS)	1,34
Magnésium (mg/kg MS)	0,64
Potassium (mg/kg MS)	0,76
Sodium (mg/kg MS)	0,05
Fer (mg/kg MS)	16,18
Manganèse (mg/kg MS)	29,23
Zinc (mg/kg MS)	56,49

2- Autre composants des feuilles de goyavier

Les feuilles du goyavier contiennent de l'huile essentielle avec les principaux composants tels que : α -pinène, β -pinène, limonène, menthol, terpenyl acétate, alcool isopropyl, longicyclène, caryophyllène, β -bisabolène, cinéol, caryophyllène oxyde, β -copanène, farnésène, humulène, sélénène, cardinène et curcumène, des saponines ont été isolés des feuilles ainsi que des acides triterpéniques (Gutiérrez et al., 2008).

3- Antioxydants

Un antioxydant peut être défini comme une substance qui, lorsqu'elle est présente à des concentrations faibles comparées à celle d'un substrat oxydable, inhibent ou ralentissent de manière significative une oxydation du substrat (Prior, 1999). Les antioxydants agissent par un ou plusieurs mécanismes tel que : la réduction de l'activité, piégeage des radicaux libres. Ils sont présents sous nombreuses formes et peuvent intervenir en prévention de la formation des radicaux libres, aussi bien que pour participer à leur élimination (antioxydants primaires et secondaires).

Les analyses phytochimiques ont montré que les feuilles de goyavier sont riches en plusieurs composés tels que les tanins, phénols, triterpènes, flavonoïdes, saponines, caroténoïdes, lectines, et vitamines (Venkatachalam et al., 2012).

Le tableau ci dessous résume quelques antioxydants majeurs des feuilles de goyavier.

Tableau 5 : Les antioxydants des feuilles de goyavier.

Antioxydants	Teneurs	Références
Caroténoïdes (mg/g MS)	8,00	(Krishnaveni et al., 2013)
Vitamine C (mg/100g MF)	14,00	(Sheela et al., 2004)
CPT (mg EAG/g MS)	149,00 à 511,60	(He et Venant, 2004 ; Braga et al., 2014 ; Seo et al., 2014).
Flavonoïdes (mg QE/g MS)	3,10 à 5,03	(Nantitanon et al., 2010 ; Jayakumari et al., 2012)
Tannin (mg/g MS)	2,35 à 3,23	(Mailoa et al., 2013 ; Mailoa et al., 2014).

3-1 Acide ascorbique (Vitamine C)

L'acide ascorbique (Figure 4) est considéré comme l'un des antioxydants naturels le plus puissant et le moins toxique. C'est une vitamine soluble dans l'eau et se trouve en concentrations élevées dans de nombreux aliments ou plantes alimentaires (**Gülçin, 2011**). Il peut agir à la fois directement, par réaction avec des radicaux peroxyde aqueux, et indirectement, en restaurant les propriétés antioxydantes de la vitamine E (**Bendich et al., 1986**).

La teneur en vitamine C des feuilles du goyavier est de 14 mg /100g MF (**Sheela et al., 2004**).

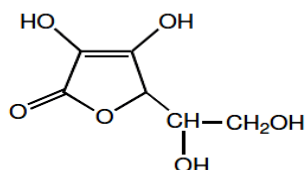


Figure 4 : Structure de l'acide ascorbique (**Diallo, 2005**).

3-2 Caroténoïdes

Les caroténoïdes (Figure 5) sont des pigments jaunes, orange et rouges présents dans tous les tissus végétaux. Pendant le développement des plantes, les caroténoïdes jouent un double rôle photoprotecteur essentiel dans les tissus verts et comme colorants à distribuer dans les fleurs et les fruits (**Giuliano et al., 1993**). Ils sont divisés en deux groupes : les carotènes et les xanthophylles. Carotènes, tels que α - carotène, β -carotène (Figure 5), γ - carotène et le lycopène sont des hydrocarbures. D'un autre côté, les xanthophylles, telles que la β -cryptoxanthine, la lutéine, la zéaxanthine, l'astaxanthine, la fucoxanthine et la pérédinine (**Maoka, 2019**).

La plupart des caroténoïdes sont des tétraterpénoïdes (C₄₀) constitués de 8 unités isoprénoïdes liés, de sorte que la molécule est linéaire et symétrique avec l'ordre inversé au centre (**Mezzomo et Ferreira, 2016**).

Une étude a été réalisée sur les feuilles de différentes plantes médicinales a révélé que les feuilles de goyavier présentent une teneur de (8 mg/g MS) en caroténoïde (**Krishnaveni et al., 2013**).

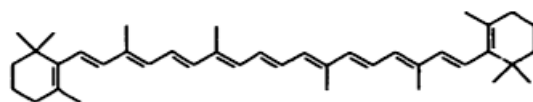


Figure 5 : Structure de β -carotène (Arab et *al.*, 2001).

3-3 Composés phénoliques

Les composés phénoliques ou polyphénols forment un des groupes le plus nombreux et largement distribué dans le règne végétal avec ce qui avoisine les 8000 structures phénoliques connus (**Lima et al., 2014**). Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux et sont présents dans toutes les parties de la plante (**Lugasi et al., 2003**). Plusieurs propriétés ont été attribuée à ces composées tel que les propriétés antioxydantes, anti-mutagènes, anti-œstrogéniques, anti-cancérigènes et anti-inflammatoires qui pourraient potentiellement être bénéfiques pour prévenir les maladies et protéger la stabilité du génome (**Ferguson, 2001**).

La teneur en phénols de l'extrait aqueux par gramme d'extrait sec de feuilles de goyave, varie entre 149 et 511,6 mg EAG/g MS (**He et Venant, 2004 ; Braga et al., 2014 ; Seo et al., 2014**).

3-3-1 Flavonoïdes

Le terme flavonoïdes (Figure 6) désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux. Ils sont reconnus pour leurs nombreuses activités biologiques, citons par exemple les activités antivirales, anti-inflammatoires et anticancéreuses. Ces activités sont attribuées en partie, à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres. Les flavonoïdes possèdent un squelette carboné de quinze atomes de carbone constitués de deux cycles aromatiques liés par trois atomes de carbone (C6-C3-C6). La structure se compose essentiellement de deux cycles aromatiques A et B reliés par un pont de trois carbones, qui peuvent se lier en formant un cycle oxygéné. Selon le degré d'oxydation, les flavonoïdes sont classés en : flavones, flavanonols, flavonols, flavanones et isoflavones (**Malešev et Kunti, 2007**). Cinq principaux flavonoïdes alimentaires, à savoir la quercétine, le kaempférol, la myricétine, et lutéoline, dont la concentration totale de goyave est de 1128,5 mg/kg (**Miean et Mohamed, 2001**). Les plus fortes concentrations de flavonoïdes dans les feuilles matures du goyavier ont été trouvées en mois de juillet : Myricétine (208,44 mg /kg MS), quercétine (2883,08 mg /kg MS), lutéoline (51,22 mg /kg MS) et kaempférol (97,25 mg /kg MS) donc les feuilles sont riches en flavonoïdes particulièrement la quercétine (**Gutiérrez et al., 2008**).

Les travaux de **Jayakumari et al. (2012)** et **Nantitanon et al., 2010**, ont révélé des teneurs en flavonoïde totaux dans les feuilles de goyavier allant de 3,10 à 5,03 mg/g MS.

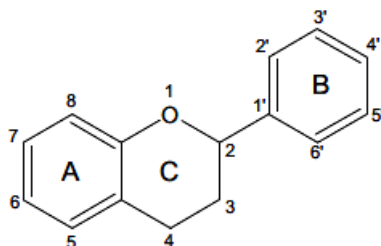


Figure 6 : Structure de base des flavonoïdes (**Malešev et Kuntic, 2007**).

3-3-2 Tannins

Ceux sont des polyphénols polaires d'origines végétales (**Berthod et al., 1999**), existent dans presque chaque partie de la plante : écorce, bois, feuilles, fruits et racines. Leurs poids moléculaires s'étendent de 500 à 3000 Da (**Koleckar et al., 2008**). Il est difficile de les séparer dans un extrait végétal parce que de nombreux isomères avec une base moléculaire très semblable coexistent (**Berthod et al., 1991**).

On distingue habituellement chez les végétaux deux groupes basés sur des différences structurales : les tannins hydrolysables et les tannins condensés.

- **Tannins hydrolysables**

Les tannins hydrolysables (Figure 7) sont des esters d'un sucre, qui est très généralement le glucose, et d'un phénol. Ces tannins sont de deux types : les tannins galliques qui sont les esters d'oses (glucose) et d'acides galliques. Les tannins ellagiques qui sont des esters d'oses et d'acides ellagiques (**McSweeney et al., 2001**).

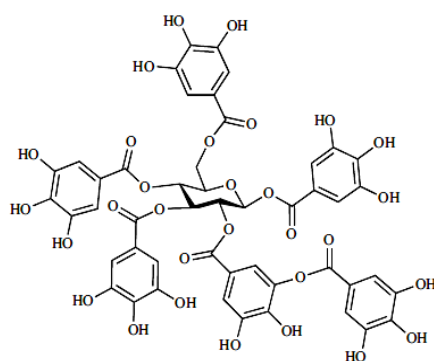


Figure 7 : Structure d'un tannin hydrolysable (Koleckar *et al.*, 2008).

- **Tannins condensés**

Les tannins condensés (Figure 8) sont chimiquement définis comme étant des oligomères ou des polymères d'unités flavanoïdes. Ils sont formés de 2 à plusieurs unités de flavan-3-ols ou de flavan-3,4-diols (proanthocyanidol) liés entre elles par des liaisons C-C, le plus souvent C4-C8 ou rarement C4-C6 (Koleckar *et al.*, 2008).

Toutes les parties du goyavier sont riches en tannins. Les résultats ont montré que la teneur en tanins dans les feuilles de goyavier varie de 2,351 à 3,228 mg/g MS (Mailloa *et al.*, 2013 ; Mailloa *et al.*, 2014).

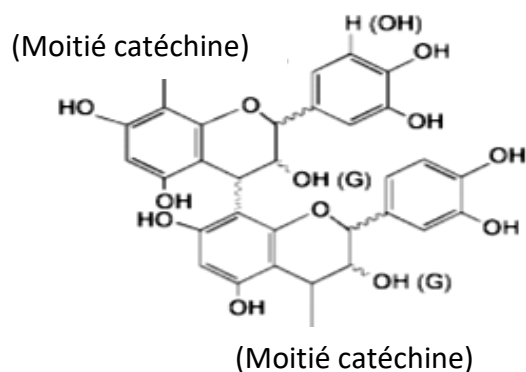


Figure 8 : Structure d'un Tannin condensé (Khanbabaee et Ree, 2001).

4- Rôles des antioxydants

Les composés phénoliques ont retenu l'attention, principalement par la peroxydation lipidique et l'inhibition de la lipoxygénase. Les terpènes et les flavonoïdes sont des agents antibactériens et anticariogène importants (Braga *et al.*, 2014). Une grande attention a été

accordée à l'utilisation d'antioxydants, en particulier d'antioxydants naturels, pour inhiber la peroxydation lipidique, ou pour se protéger contre les dommages des radicaux libres. La recherche actuelle sur les radicaux libres a confirmé que les aliments riches en antioxydants jouent un rôle essentiel dans la prévention des maladies cardiovasculaires et des cancers et les maladies neurodégénératives (Chen et Yen, 2007).

5- Effets thérapeutique des feuilles de goyavier

Les feuilles de goyavier sont utilisées pour un certain nombre de maux dans l'histoire de la médecine populaire. Elles contiennent un certain nombre d'ingrédients pharmacologiquement actifs majeurs responsables des principales activités biologiques telles que :

5-1 Effet antidiarrhéique

L'infusion de feuilles est utilisée pour des maux d'estomac tels que la constipation et la dysenterie (Jaiarj et al., 1999). L'effet antidiarrhéique des feuilles de goyavier est probablement dû à l'inhibition de l'augmentation des sécrétions aqueuses qui se produisent dans les maladies diarrhéiques aiguës. L'extrait méthanolique de feuilles a montré des activités inhibitrices importantes contre les croissances de deux isolats de *Salmonella* et *Shigella* spp et deux isolats de l'entéropathogène *Escherichia coli*. Il a été confirmé dans une étude que les extraits de germes de goyave constituent une option de traitement réalisable pour la diarrhée causée par les toxines produites par *E. coli* ou *Staphylococcus aureus* avec une action thérapeutique rapide (Vieira et al., 2001).

5-2 Effet antimicrobien

Les extraits de feuilles de *Psidium guajava* ont été testés pour leur potentiel antibactérien et se sont révélés efficaces contre *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutatis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Bacillus cereus*, *Proteus* spp, *Shigella* spp et *Escherichia coli*, les principaux agents causant des infections intestinales chez l'homme (Chah et al., 2006). Les extraits aqueux et méthanoliques des feuilles s'avèrent être des inhibiteurs efficaces de la formation de spores et de la production d'entérotoxines de *Clostridium prefringens* de type A. L'activité antibactérienne in vitro de l'extrait de feuille sur *Staphylococcus aureus* était probablement due à l'activité de dégradation des protéines des extraits. Une étude réalisée avec les extraits de feuilles a montrée de puissantes activités antimicrobiennes contre *Propionibacterium acnes* et peuvent être bénéfiques dans le traitement de l'acné (Qadan et al., 2005).

5- 3 Effet antitussif

Une étude a montré que l'infusion d'eau à partir d'extrait de feuille de *P. guajava* diminue la fréquence de la toux induite par l'aérosol de capsaïcine. Ces résultats suggèrent que l'extrait de feuille pourrait être utilisé comme remède contre la toux (**Sanda et al., 2011**).

5-4 Effet hépato-protecteur

La recherche utilisant un rat Wister a démontré que l'extrait aqueux de feuille de *P. guajava* possédait l'effet hépatoprotecteur. L'extrait de feuilles à des doses de 500 mg/kg produit une hépatoprotection importante (**Roy et al., 2006**).

5-5 Effets anticancéreux

L'extrait aqueux de feuilles de *P. guajava* a inhibé la viabilité de la lignée cellulaire cancéreuse DU-145 de manière dose dépendante à 1,0 mg / ml, l'extrait a réduit la viabilité du Pca DU-145 (les cellules Pca indépendantes des androgènes) à 36,1% et 3,6%, respectivement après 48 et 72 h d'incubation. Il a été rapporté que les feuilles d'huiles essentielles extraites de *P. guajava* L. étaient très efficaces pour réduire la croissance du carcinome épidermique de la bouche humaine et de la leucémie murine (**Sanda et al., 2011**).

5-6 Effets cardiovasculaires

Des activités cardiovasculaires de *P. guajava* ont été rapportées dans une étude d'un extrait aqueux de feuille qui a montré des effets cardioprotecteurs contre les lésions d'ischémie-reperfusion myocardique dans des cœurs de rats isolés a signalé l'utilisation de mécanismes cholinergiques d'un extrait aqueux de feuille qui a provoqué une hypotension dans le modèle animal expérimental. Une réduction significative de la pression artérielle systémiques et de la fréquence cardiaques d'un animal hypertendu a été observée après des administrations intraveineuses aiguës d'extrait de feuille (**Sanda et al., 2011**).

5-7 Effet antihyperglycémique

Une étude a révélé que le traitement avec l'extrait aqueux de feuille de *P. guajava* (0,01-0,625 mg/ ml) a montré une inhibition significative de la glycation des LDL de manière dose-dépendante (**Sanda et al., 2011**).

5-8 Effet anti-inflammatoire et analgésique

La propriété anti-inflammatoire d'un extrait aqueux de feuilles a été étudié chez des rats utilisant de l'œdème de patte induit par l'albumine d'œuf frais, tandis que l'effet analgésique de l'extrait de plante a été évalué par la plaque chauffante et les modèles de test d'acide acétique de la douleur chez la souris. Les feuilles ont montré une activité anti-inflammatoire significative à une dose de 300 mg/kg, pour L'huile essentielle à 0,8 mg/kg, significativement réduit la formation d'œdème induit par la carragénine tandis qu'à 0,4 et 0,8 mg/kg, l'huile a également considérablement réduit la formation de granulomes induite par les boulettes de coton (**Sanda et al., 2011**).

6- Utilisation des feuilles de goyavier en médecine traditionnelle

Il a été prouvé que les feuilles de *P. guajava* peuvent être bénéfiques pour la santé humaine (**Mittal et al., 2010**). Au Mexique, les feuilles sont utilisés dans le traitement de la gastro-entérite, de la diarrhée et de la dysenterie, également elles sont appliquées sur les plaies, les ulcères et les douleurs rhumatismales, on retrouve aussi une utilisation d'extrait aqueux de feuilles contre le diabète. En Afrique du Sud, les feuilles sont utilisées dans le traitement du diabète et de l'hypertension. En Amérique Latine et dans les Caraïbes, la goyave est utilisée contre les diarrhées et les douleurs stomacales par l'utilisation d'une décoction de feuilles. En Uruguay, les décoctions de feuilles servent à nettoyer le vagin et l'utérus lors d'apparition de leucorrhées, et au Costa Rica, celles-ci servent comme remède anti-inflammatoire. La médecine chinoise utilise les feuilles de *P. guajava* L. pour traiter les diarrhées et en tant qu'antiseptique (**Gutiérrez et al., 2008**).

1- Introduction

L'extraction de principes actifs à haute valeur ajoutée à partir de la matière végétale, notamment le cas des composés phénoliques, qui suscitent actuellement beaucoup d'intérêt grâce à leur pouvoir antioxydant, est une étape très importante dans l'isolement aussi bien que dans l'identification des composés phénoliques. La qualité alimentaire ou thérapeutique d'un extrait naturel est liée à l'efficacité et à la sélectivité du procédé d'extraction utilisé (**Bohui et al., 2018**).

Par ailleurs, les composés phénoliques étant très réactifs, les conditions et les paramètres d'extraction peuvent modifier profondément leur interaction avec leur matrice et leur environnement, beaucoup de facteurs tels que le rapport solide/liquide, la température, le temps et le solvant d'extraction...etc., peuvent influencer de manière significative l'efficacité de l'extraction (**Ghafoor et al., 2009**).

2- Méthodes d'extraction des composés phénoliques

2-1 Infusion

Une infusion est préparée en versant de l'eau bouillante sur une quantité spécifique de matière végétale, en laissant reposer la mixture pendant 10-15 min (**Sofowora, 2010**). L'infusion a l'avantage de permettre une dissolution efficace dans un solvant chaud en limitant la perte d'espèce chimiques volatiles, mais elle est moins efficace que la décoction qui permet par exemple de faire exploser les cellules végétales qui libèrent alors toutes les substances qu'elles renferment.

2-2 Décoction

La matière végétale est versée dans l'eau froide puis portée à ébullition pendant un temps plus ou moins long, 2-3 min pour les feuilles, les tiges et les fruits ; 5 min ou plus pour les écorces et les racines (**Pierre et Lis, 2007**). Cette méthode permet une extraction des principes actifs plus complète que par l'infusion. La décoction ne peut s'appliquer à tous les principes actifs car la montée en température pourrait les dégrader ou les modifier. Il faut que les substances extraites ne soient pas thermolabiles.

2-3 Macération

La macération est une extraction solide-liquide dans lequel le composé bioactif (soluté) à l'intérieur de la matière végétale est extrait par un solvant spécifique pendant une période de temps bien déterminée. L'efficacité du processus de macération est déterminée par deux facteurs principaux la solubilité et la diffusion. La macération est le choix le plus fréquent des chercheurs vu la simplicité de la mise d'un système d'extraction par macération. L'inconvénient de la macération est la longue durée d'extraction réduite toutefois par agitation (**Cheok et al., 2014**).

2-4 Extraction par soxhlet

L'extraction par Soxhlet est la deuxième méthode conventionnelle utilisée pour l'extraction des composants bioactifs, qui s'accompagne d'une amélioration par rapport à la macération en utilisant le chauffage par solvant au point d'ébullition et le retour des vapeurs condensées dans le ballon. De cette façon, l'extraction par Soxhlet peut être exécutée autant de cycles que souhaité. L'eau et l'éthanol semblent être les solvants les plus utilisés dans cette technique d'extraction, en raison de leur disponibilité, de leur efficacité et de leur non-toxicité. (**Ligor et al., 2018**). L'avantage de cette méthode est l'utilisation de faibles quantités de solvants, sans phénomène de saturation. Ses inconvénients est la toxicité des solvants en fonction des molécules à extraire et perte des composés thermolabiles/volatiles, plusieurs heures d'extraction nécessitent des particules de petite taille.

2-5 Extraction assistée par ultrasons (UAE)

L'extraction assistée par ultrasons consiste à traiter sous ultrasons un solide, sec ou humide, en contact avec un solvant. Le phénomène des ultrasons consiste à créer des bulles de cavitation dans le solvant permettant de dénaturer la paroi de la cellule végétale. Les ultrasons permettent d'accélérer l'extraction et de réduire le ratio solvant/soluté ce qui conduit à un meilleur rendement d'extraction des composés bioactifs (**Cheok et al., 2014**). Les avantages de cette méthode est la lyse cellulaire (augmentation possible des rendements d'extraction), diminution du temps d'opération, diminution possible de la quantité de solvants et température suffisamment basse pour préserver les molécules thermolabiles. Ces inconvénients est le problème de répétabilité et de reproductibilité lors de l'utilisation de sonde à ultrasons, moins efficace sur des cellules rondes.

2-6 Extraction moderne par micro-onde (MAE)

Les micro-ondes sont des ondes électromagnétiques non ionisantes avec une gamme de fréquences de 0,3 à 300 GHz. Les micro-ondes sont capables de pénétrer dans les biomatériaux et de générer de la chaleur en interagissant avec les molécules polaires comme l'eau. L'interaction entre les micro-ondes et les molécules polaires conduit à un surchauffage interne et une perturbation de la structure cellulaire facilitant la diffusion du composé bioactif à partir de la matrice végétale (**Cheok et al., 2014**). Cette technique a été considérée comme une alternative importante à l'extraction à basse pression en raison de ses avantages : réduction du temps d'extraction, faible utilisation des solvants et la sélectivité (**Chemat., 2009**). Son inconvénient est l'augmentation de la température (dégradation des composés thermolabiles).

2-7 Extraction accélérée par solvant (EAS)

L'extraction accélérée par solvant (ou PLE : extraction par liquide pressurisé) est une technique d'extraction moderne utilisée pour l'extraction des molécules bioactives en utilisant des solvants à haute température et haute pression, mais sans atteindre le point critique (**Ligor et al., 2018**). L'extraction accélérée par solvant se caractérise par un temps d'extraction court (15-25 minutes) et un volume réduit de solvant utilisé (15-45 ml) (**Cheok et al., 2014**).

2-8 Extraction par fluide supercritique (EFS)

L'extraction par fluide supercritique est une technique d'extraction précieuse et respectueuse de l'environnement utilisée pour extraire une grande variété de composés bioactifs. L'extraction par fluide supercritique présentant les avantages d'être rapide, sélective et économise les solvants. L'état supercritique se produit lorsque la température et la pression du fluide sont élevées au-dessus de son point critique. Le dioxyde de carbone est le solvant le plus utilisé dans l'extraction par fluide supercritique (**Ligor et al., 2018**). L'avantage de cette méthode est l'obtention des composés de grande pureté. Ses inconvénients est la pressions d'opération élevée, coûts d'investissements, température généralement élevée (dégradation des composés thermolabiles).

2-9 Extraction par champs électrique pulsé (CEP)

L'extraction par champ électrique pulsé repose sur la destruction de la paroi cellulaire pour améliorer l'extraction par solvant suivant l'exposition au champ électrique. La biomasse est exposée à un champ électrique qui vient briser les interactions entre les molécules ce qui augmente la perméabilité de la membrane cellulaire (**Bryant et Wolfe, 1987**). L'efficacité de ce

traitement dépend donc, entre autre, de la force du champ électrique appliqué, de la température et de la biomasse à extraire (**El-Belghiti, 2005**). La CEP permet la lyse de la paroi cellulaire améliorant ainsi l'extraction tout en réduisant les temps d'opération (**Toepfl et al., 2006**). De plus, cette méthode permet de maintenir une température relativement faible, ce qui limite la dégradation de composé thermolabiles (**Ade-Omowaye et al., 2001**). L'inconvénient de cette méthode est l'exposition de la biomasse aux champs électriques pulsés.

3- Paramètres d'extraction des composés phénoliques

3-1 Effet du matériel végétal

Le procédé d'extraction est influencé par la taille et la structure de la matière première ou le solide. La réduction de taille des particules affecte le transfert interne, en augmentant la surface spécifique et en diminuant la distance de diffusion des solvants et des solutés (**Poirot, 2007**). Ainsi la réduction de la taille des particules a permis d'atteindre des rendements élevés de composés phénoliques extraits à partir du matériel algal (**Luthria, 2008**). La microstructure de la matière végétale, sa porosité et ses parois cellulaires influencent également le procédé d'extraction.

3-2 Effet du ratio liquide solide

Le ratio liquide solide joue un rôle important dans l'extraction des composés phénoliques. En effet, le rendement s'améliore avec l'augmentation du ratio liquide solide, puisqu'il agit sur le gradient de concentration entre la matrice végétale et le solvant qui favorise le transfert de matière. Plusieurs études ont montré l'effet du ratio solide liquide sur l'extraction des composés phénoliques à partir de macroalgues (**Rajauria et al., 2012**).

3-3 Effet du solvant

Les extractions par solvants sont les procédures les plus couramment utilisées pour préparer des extraits de matériel végétal en raison de leur facilité d'utilisation, de leur efficacité et de leur grande applicabilité. Il est généralement connu que le rendement de l'extraction dépend du type de solvants ayant des polarités variables, du temps et de la température d'extraction, du rapport de l'échantillon au solvant ainsi que de la composition chimique et des caractéristiques physiques des échantillons. La solubilité des composés phénoliques dépend de la nature chimique de l'échantillon végétal, ainsi que de la polarité des solvants utilisés. Les matières végétales peuvent contenir des composés phénoliques allant de simples (par exemple des acides phénoliques, des

anthocyanes) à des substances hautement polymérisées (par exemple les tanins) en des quantités différentes. De plus, les composés phénoliques peuvent également être associés à d'autres composants végétaux tels que les hydrates de carbone et les protéines. Par conséquent, il n'existe pas de procédure d'extraction universelle appropriée pour l'extraction de tous les composés phénoliques végétaux. Selon le système de solvant utilisé pendant l'extraction, un mélange de composés phénoliques solubles dans le solvant sera extrait des matières végétales. Il peut également contenir certaines substances non-phénoliques telles que le sucre, les acides organiques et les graisses. Ainsi, des étapes supplémentaires peuvent être nécessaires pour supprimer ces composants indésirables. Des solvants, tels que le méthanol, l'éthanol, l'acétone, l'acétate d'éthyle, et leurs combinaisons ont été utilisés pour l'extraction de composés phénoliques à partir de matières végétales, souvent avec des proportions d'eau différentes. La sélection du bon solvant affecte la quantité et le taux de composés phénoliques extraits (**Dai et Mumper, 2010**).

3-4 Effet du couple température-temps

La température agit à la fois sur le solvant et sur le solide. Elle accroît la perméabilité des membranes cellulaires. L'augmentation de la température, diminue la viscosité du solvant et la tension de surface, augmentant ainsi la solubilité et la diffusivité moléculaire. D'autre part, une dégradation thermique et oxydation des composés phénoliques peut avoir lieu selon la température et la durée de l'extraction. Par exemple, une température de 50°C est définie par certains d'être la limite de dégradation des composés phénoliques (**Cacace et Mazza, 2003**), alors que pour d'autres, elle s'élève à 60°C (**Spigno et al., 2007**).

1- Matrice végétale

1-1 Choix de la matrice

L'étude a été réalisée sur les feuilles de goyavier (*Psidium guajava*) car, elles possèdent un pouvoir thérapeutique prouvé par plusieurs études et recherches (**Vieira et al., 2001**). De nombreuses régions dans le monde (Mexique, Afrique du Sud, Amérique Latine...etc) l'utilisent comme remède traditionnelle (**Gutiérrez et al., 2008**). Les bienfaits de ces feuilles restent malheureusement ignorés auprès de notre population.

1-2 Préparation de la matrice

Afin de réaliser notre étude, les feuilles de goyavier ont été récoltées en mars 2019, chez un particulier.

Les feuilles récoltées ont été bien nettoyées et débarrassées de toutes les impuretés, puis séchées à l'air à une température ambiante et à l'abri de la lumière. Les feuilles ont été ensuite transférées à l'étuve réglée à 40°C pendant 48 h pour affiner le séchage et obtenir un meilleur broyage. Celui-ci a été réalisé à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à obtention d'une poudre. Cette dernière a été par la suite tamisée à l'aide d'un tamiseur pour retenir une granulométrie de 250 µm. La poudre obtenue a été conservée dans un flacon en verre opaque et stocké à l'abri de la lumière à température ambiante (**Chellah., 2019**).

2- Test d'humidité

La teneur en eau a été déterminée par dessiccation de 1 g de poudre de feuilles dans une étuve à une température de 105°C jusqu'à l'obtention d'une masse constante de l'échantillon. Le taux d'humidité H (%) est calculé selon la formule suivante :

$$H(\%) = \frac{P_{av} - P_{ap}}{PE} \times 100$$

où:

H(%): taux d'humidité en pourcentage

Pav: poids de l'échantillon avant séchage (g)

Pap: poids de l'échantillon après séchage (g)

PE: poids de la prise d'essai (g)

3- Optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques

L'optimisation des paramètres d'extraction des composés phénoliques est une méthode dans laquelle les paramètres initiaux sont fixés et modifiés l'un après l'autre suivant une succession bien déterminée pour qu'on puisse définir au finale les conditions optimales qui permettent d'obtenir le meilleur rendement d'extraction et d'activité antioxydante. Les paramètres fixés au départ sont résumés dans le tableau (Annexe I).

Le choix du paramètre adéquat est déterminé selon la teneur en composés phénoliques totaux extraits et de l'activité antiradicalaire DPPH•.

3-1 Optimisation de la concentration du solvant d'extraction

Ce test avait pour but de fixer la concentration du solvant jugé plus performant que les autres solvants. Il consiste à mélanger 1 g de poudre de feuille du goyavier dans 10 ml du solvant optimisé (éthanol) à différentes concentration (35%, 40%, 45%, 50% et 55%) dans les mêmes conditions décrite précédemment (Annexe I).

4- Dosage des composés phénoliques totaux

➤ Principe

Le réactif Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleu de tungstène et de molybdène (**Ribéreau-Gayon, 1968**). La coloration produite, dont l'absorption maximum est comprise entre 725 et 760 nm est proportionnelle à la quantité de composés phénoliques présents dans les extraits (**Boizot et Charpentier, 2006**).

➤ Mode opératoire

La teneur en composés phénoliques totaux des extraits des feuilles de goyavier a été estimée selon la méthode décrite par **Alimi et al. (2011)**. Un volume de 100 µl de chaque extrait est mélangé avec 2 ml d'une solution de carbonate de sodium (2%). Après agitation et incubation pendant 2 min, 100 µl du réactif Folin Ciocalteu dilué (50/50 v/v) ont été ajoutés. L'ensemble des préparations ont été par la suite laissés à l'obscurité pendant 30 min. La lecture des absorbances a été réalisée grâce au spectrophotomètre contre un blanc à 760 nm.

La concentration en composés phénoliques, exprimée en mg équivalent d'acide gallique (EAG)/g de la matière sèche, est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue dans les mêmes conditions en utilisant l'acide gallique (Annexe II).

5- Activités antioxydante : Inhibition du radical DPPH

➤ Principe

Le DPPH• (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl) est un radical libre, il se caractérise par une coloration violette en état oxydé et une coloration jaune en état réduit (**Parejo et al., 2002**). Le principe de cette méthode est basé sur la mesure du piégeage des radicaux libres de DPPH• (Diphényl-2-picrylhydrazyl de couleur violette). En présence de molécules dites antioxydantes, le DPPH• est transformé en sa forme réduite (Diphényl picryl-hydrazine de couleur jaune) comme le montre la figure 9, ce qui conduit à une diminution de l'absorbance. La décoloration du DPPH• est directement proportionnelle à la capacité des molécules bioactives à le réduire (**Mansouri et al., 2005**).

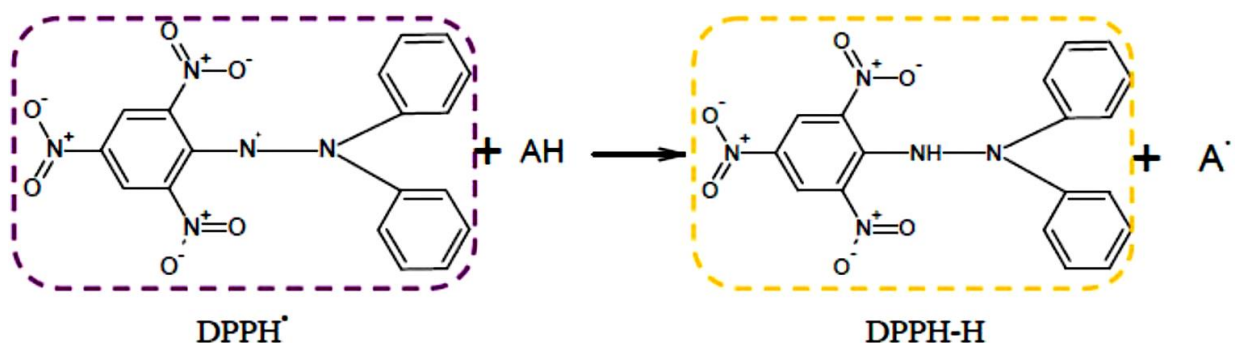


Figure 9 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (AH) (**Sanchez-Moreno, 2002**).

➤ Mode opératoire

Un volume de 60 µl de différentes concentrations de l'éthanol est ajouté à 2,44 ml de la solution de DPPH, préparé au préalable dans le méthanol ($1,07 \times 10^{-3}$ M). Les solutions ont été mélangées puis incubées à l'obscurité pendant 1h. Un contrôle a été préparé en remplaçant l'extrait par l'éthanol. La lecture des absorbances est effectuée à 517 nm à l'aide d'un

spectrophotomètre BIOTECH ENGINEERING MANAGEMENT CO.LTD. (UK) et le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH (%) est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}) / \text{Abs contrôle}] \times 100$$

6- Analyse statistique

Toutes les données obtenues représentent la moyenne de trois essais. Les paramètres de la statistique descriptive (moyenne et écart-type) ont été calculés à l'aide du programme Excel de Microsoft Office 2013. L'analyse de la variance entre les différents échantillons étudiés est faite via le test ANOVA LSD du logiciel STATICTICA (5.0) avec un niveau de signification de $p \leq 0,05$.

1- Taux d'humidité

L'objectif de sécher un produit est d'abaisser sa teneur en eau, de telle sorte que son activité d'eau soit portée à une valeur permettant sa conservation à une température ordinaire sur une longue durée.

Les résultats du test d'humidité obtenus après séchage à 105°C montrent que les feuilles de goyavier sont caractérisées par un taux d'humidité de 8% ce qui n'est pas très élevée. Cela a une importance majeure pour l'extraction des composés phénoliques, vue que les cellules végétales contiennent différents types d'enzymes, susceptibles de provoquer des modifications des composés phénoliques contenus dans le matériel végétal ainsi que leur dégradation par le phénomène d'oxydation (**Rolland, 2004**). La teneur en humidité de *P. guajava* se compare favorablement à celle d'**Offor (2015)** récoltée au Nigeria avec un taux d'humidité de 10,74%, et à celle de **Kaneria et Chanda (2011)** récoltée en Inde avec un taux d'humidité de 8,5%.

Dans une étude menée par **Afroze et hossain (2009)** sur les feuilles de *P. guajava* récoltées au Bangladesh, un taux d'humidité plus élevé de 15,35% a été atteint après séchage sous air chaud entre 105°C-110°C.

Cette différence d'humidité revient au mode de séchage de la matrice sur ses propriétés physico-chimiques ainsi qu'à l'origine géographique, la variété et le degré de la maturité de la matrice.

2- Optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques totaux

2-1 Optimisation de la concentration du solvant d'extraction

La concentration du solvant utilisée est le facteur qui a la plus grande influence sur la récupération de composés phénoliques pour une meilleure inhibition de DPPH. Les échantillons ont été extraits en utilisant le meilleur solvant qui est l'éthanol dans notre cas. Pour déterminer la meilleure concentration permettant un meilleur rendement en CPT avec une meilleure activité antioxydante, nous avons varié sa concentration comme suit : 35%, 40%, 45%, 50% et 55%. Les analyses quantitatives des CPT sont déterminées à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage exprimé en mg équivalent d'acide gallique.

Les résultats obtenus (Figure 10 (a) et (b)) ont révélé des différences significatives à $P \leq 0,05$.

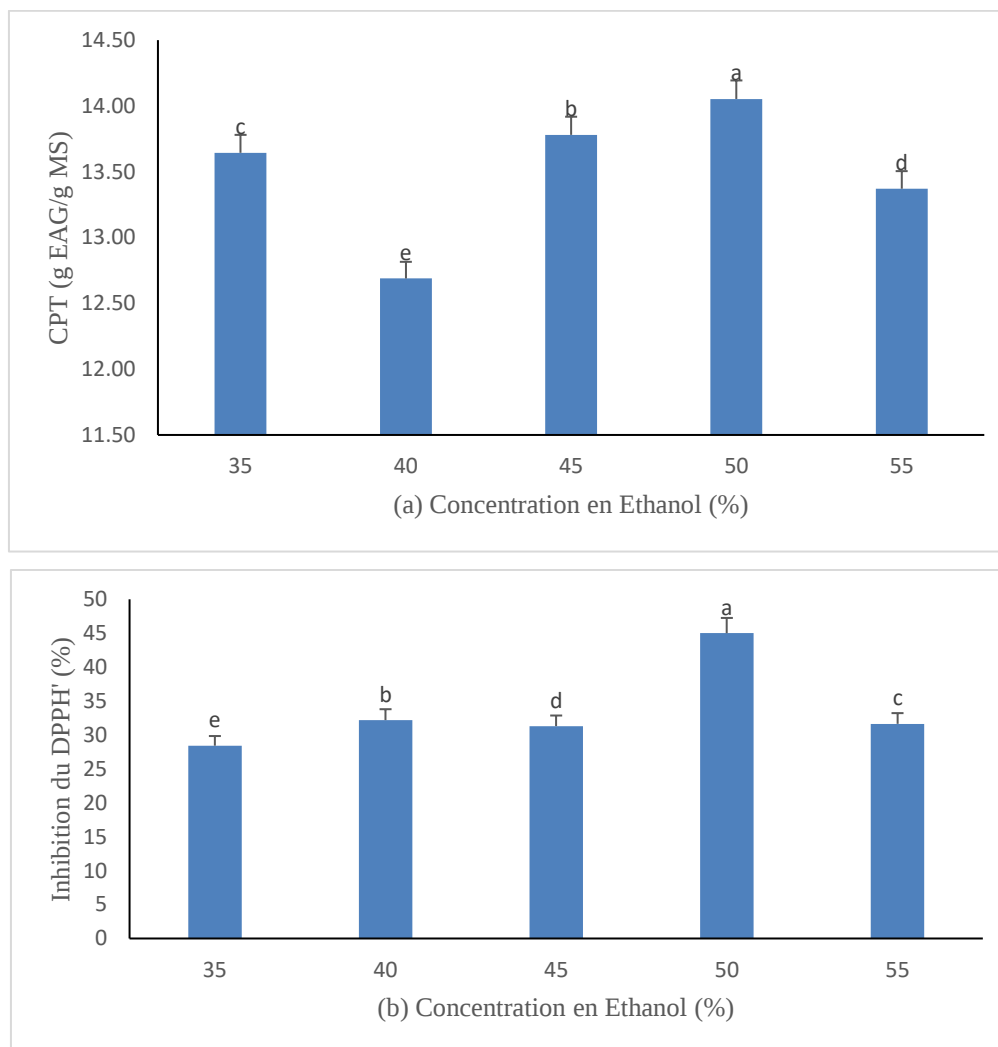


Figure 10 : Teneurs en composés phénoliques totaux (a), Inhibition du DPPH (b), des extraits des feuilles obtenus par différentes concentrations d'éthanol.

A, b, c, d, e : représente les différences significatives à $p \leq 0,05$

Les résultats du dosage des CPT des feuilles de *P. guajava*, représentés sur la figure 10a montrent une variation de teneurs allant de 12,69 g à 14,05 g EAG/g MS, indiquant que la concentration du solvant a une influence significative sur le rendement d'extraction de ces composés bioactifs.

Il apparaît clairement que la concentration de 50% est celle qui permet d'obtenir le meilleur taux d'extraction des CPT, avec une moyenne de 14,05 g EAG/ g MS suivie par la concentration de 45% (13,78 g EAG/ g MS), de celle de 35% (13,64 g EAG/ g MS) de celle à 55% (13,37 g EAG/ g MS) et enfin de celle à 40% (12,69 g EAG/ g MS).

De même l'activité antioxydante de tous les extraits a été évaluée par le test de DPPH, ce test a permis de déterminer la capacité des extraits à neutraliser le radical stable DPPH présent dans le milieu réactionnel. Les résultats relatifs à ce test sont consignés dans la figure 10b. Il en ressort un effet de la concentration du solvant. En effet, les extraits de feuilles de *P. guajava* présentent un pourcentage d'inhibition variant entre 28,42% et 45% dans une gamme de concentration de 35% à 55%, dont la concentration de 50% est celle qui permet une meilleure activité antiradicalaire, avec une moyenne de 45%. Pour les autres concentrations, les activités enregistrées sont de 35% : 28,42 % ; 40% : 32,19 % ; 45% : 31,30 et 55% : 31,64 %.

Les résultats de cette présente étude sont similaires à ceux obtenus par **He et Venant (2004)** qui ont montré que l'extraction par éthanol à 50% et à la ration de 1/10 (g/ml) de feuilles de *P.guajava* est celle qui permet l'obtention d'un rendement maximal en CPT avec une meilleure activité antiradicalaire de feuilles de goyavier. Par ailleurs, **Thenmozhi et Rajan (2013)** ont noté que l'éthanol à 70%, comparé aux autres concentrations, donne de meilleurs résultats en termes d'extraction des CPT et d'inhibition du DPPH•, ceci étant dû au potentiel réducteur élevé des composés phénoliques présents dans ces extraits.

Les variations de la concentration du solvant d'extraction observées peuvent être expliquées par plusieurs facteurs dont la variété, le stade de maturité, l'origine géographique, conditions environnementales, conditions expérimentales (préparation de l'échantillon, méthode d'extraction, temps, solvant...), méthode de dosage... (**Díaz-de-Cerio et al., 2016**).

La goyave « *Psidium guajava* » est une plante médicinale qui appartient à la famille des Myrtaceae qui présente une composition riche et variable en antioxydants, peu connu en Algérie. Les feuilles de cette dernière est une source potentielle riche en composés phénoliques qui possèdent un pouvoir thérapeutique prouvé par plusieurs études et recherches et qui sont utilisés comme remède traditionnelle.

Pour l'extraction efficace et optimale des composés phénoliques de feuille de *P. guajava*, différentes méthodes d'extraction des composés phénoliques peuvent être utilisées dont les méthodes conventionnelles telles que l'infusion, la macération, l'extraction en Soxhlet, et les méthodes non conventionnelles tels que l'extraction par fluides supercritiques, par micro-ondes et par ultrasons...etc. Par ailleurs, plusieurs paramètres peuvent influencer leur extraction, il s'agit du type et de la concentration de solvant, du rapport liquide/solide : solide (matrice) et liquide (solvant), de la température d'extraction, du temps d'extraction et du nombre d'extraction.

La présente étude a été réalisée pour déterminer les conditions opératoires optimales pour l'extraction des composés phénoliques des feuilles de *P. guajava*. La méthode d'extraction adoptée a été la macération et l'éthanol comme solvant d'extraction.

Les résultats des tests que nous avons pu réaliser sur la poudre de feuille de goyave et de son extrait ont montré que le taux d'humidité est faible (8%). Concernant les paramètres d'optimisation d'extraction des CPT seule la concentration du solvant a été étudiée et parmi les cinq concentrations du solvant testées (35%, 40%, 45%, 50%, 55 %), les résultats obtenus indiquent que la meilleure concentration de solvant permettant un meilleur rendement en CPT 14,05 g EAG/ g MS ainsi qu'une meilleure activité antiradical DPPH 45% est de 50%.

En perspective ; il serait intéressant d'élargir l'étude à savoir :

- Tester les autres paramètres afin de définir les conditions optimales d'extraction des CPT.
- Doser les autres composants bioactifs des feuilles de goyaves.
- Evaluer d'autres activités telles que les activités antioxydantes (réduction du fer et phosphomolybdate, inhibition du H_2O_2 ,...) et biologiques (antibactérienne, anti-inflammatoire,...).
- Identification des différents antioxydants de l'extrait de feuilles de goyave par des techniques plus avancées (HPLC, RMN...etc)

A

Anonyme 1: <https://www.djazairess.com>

Anonyme 2: http://caribfruits.cirad.fr/fruits_tropicaux/goyave

Ade-Omowaye, B. I. O., Angersbach, A., Taiwo, K. A., et Knorr, D. (2001). Use of pulsed electric field pre-treatment to improve dehydration characteristics of plant based foods. *Trends in Food Science & Technology*, 12(8): 285-295.

Afroze, F., et Hossain, M. T. (2015). Proximate analysis, phytochemical screening and antioxidant activity of *Psidium guajava* leaves growing in coastal area of Bangladesh. *World J Pharm Pharm Sci*, 4(5): 140-151.

Alimi, H., Hfaiedh, N., Bouoni, Z., Sakly, M., et Rhouma, K. B. (2011). Evaluation of antioxidant and antiulcerogenic activities of *Opuntia ficus indica* f. *inermis* flowers extract in rats. *Environmental toxicology and pharmacology*, 32(3): 406-416.

Arab, L., Steck-Scott, S., et Bowen, P. (2001). Participation of lycopene and beta-carotene in carcinogenesis: Defenders, aggressors, or passive bystanders?. *Epidemiologic Reviews*, 23(2): 211-230.

B

Baby, J. (2011). Review on nutritional, medicinal and pharmacological properties of Guava (*Psidium guajava* Linn.). *Int J Pharm Bio Sci*, 2, 53-69.

Baudin, B. (2006). Stress oxydant et pathologies cardiovasculaires. *mt cardio*, 2(1): 43-52.

Bendich, A., Machlin, L. J., Scandurra, O., Burton, G. W., et Wayner, D. D. M. (1986). The antioxidant role of vitamin C. *Advances in Free Radical Biology & Medicine*, 2(2): 419-444.

Berthod, A., Billardello, B., et Geoffroy, S. (1999). Polyphenols in countercurrent chromatography. An example of large scale separation. *Analisis*, 27(9): 750-757.

Bohui, P. S. G., Adima, A. A., Niamké, F. B., et N'Guessan, J. D. (2018). Etude comparative de trois méthodes d'extraction des flavonoïdes totaux à partir des feuilles de plantes médicinales: *Azadirachta indica* et *Psidium guajava*. *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, 46, 50-58.

Boizot, N., et Charpentier, J. P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Cahier des Techniques de l'INRA*, 79-82.

Bourgeois, P., Aurore, G. S., Abaul, J., et Joseph, H. (1998). Valorisation de la graine de goyave: huile de l'amande et poudre abrasive des coques. *Cahiers Agricultures*, 7(2) : 105-109.

Braga, T. V., das Dores, R. G. R., Ramos, C. S., Evangelista, F. C. G., da Silva Tinoco, L. M., de Pilla Varotti, F., ... et de Paula Sabino, A. (2014). Antioxidant, antibacterial and antitumor activity of ethanolic extract of the *Psidium guajava* leaves. *American Journal of Plant Sciences*, 5(23): 3492.

Bryant, G., et Wolfe, J. (1987). Electromechanical stresses produced in the plasma membranes of suspended cells by applied electric fields. *The Journal of membrane biology*, 96(2): 129-139.

C

Cacace, J.E., et Mazza, G. (2003). Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from mille dberries. *J. Food Eng*, 59, 379-389.

Chabert, G. (2013). Myrtacées et aromathérapie (Doctoral dissertation, Thèse de doctorat en pharmacie. Université joseph fourier Grenoble).

Chah, K. F., Eze, C. A., Emuelosi, C. E., et Esimone, C. O. (2006). Antibacterial and wound healing properties of methanolic extracts of some Nigerian medicinal plants. *Journal of ethnopharmacology*, 104(1-2): 164-167.

Chellah,A. (2019). Optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques à partir des feuilles de goyavier (*Psidium guajava*).Mémoire de fin de cycle. Université A.MIRA - Bejaia.

Chemat, F. (2009). Mise au Point d'un Procédé d'Extraction d'Huiles Essentielles par Micro-Ondes. In *International Symposium on Medicinal and Aromatic Plants-SIPAM2009*, 853, 207-214.

Chen, H. Y., et Yen, G. C. (2007). Antioxidant activity and free radical-scavenging capacity of extracts from guava (*Psidium guajava L.*) leaves. *Food chemistry*, 101(2): 686-694.

Cheok, C. Y., Salman, H. A. K., et Sulaiman, R. (2014). Extraction and quantification of saponins: A review. *Food Research International*, 59, 16-40.

Chiari, B. G., Severi, J. A., Pauli-Credendio, D., Abackerli, P., Sylos, C. M. D., Vilegas, W., ... et Isaac, V. L. B. (2012). Assessment of the chemical profile, polyphenol content and antioxidant activity in extracts of *Psidium guajava L.* fruits. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 331-336.

D

Dai, J. et Mumper, R.J. (2010). Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecule*, 15, 7313-7352.

Dakappa, S. S., Adhikari, R., Timilsina, S. S., Sajjekhan, S. (2013). A review on the medicinal plant *Psidium guajava Linn.* (Myrtaceae). *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 3(2): 162-168.

Dauchet, L., Amouyel, P., et Dallongeville, J. (2005). Consommation de fruits et légumes et risque d'accident vasculaire cérébral et cardiaque : méta-analyse des études épidémiologiques prospectives. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 40(1): 31-40.

Derbel, S., et Ghedira, K. (2005). Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie*, 3(1): 28-34.

Diallo, A. (2005). Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* Willd. (Myrtaceae). PhD. of the University Bamako, Mali, 38-47.

Díaz-de-Cerio, E., Gómez-Caravaca, A. M., Verardo, V., Fernández-Gutiérrez, A., et Segura-Carretero, A. (2016). Determination of guava (*Psidium guajava* L.) leaf phenolic compounds using HPLC-DAD-QTOF-MS. *Journal of Functional Foods*, 22, 376-388.

E

El-Belghiti, K., Rabhi, Z., et Vorobiev, E. (2005). Kinetic model of sugar diffusion from sugar beet tissue treated by pulsed electric field. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(2): 213-218.

Ellong, E. N., Billard, C., Adenet, S., et Rochefort, K (2015). Polyphenols, Carotenoids, Vitamin C Content in Tropical Fruits and Vegetables and Impact of Processing Methods. *Food and Nutrition Sciences*, 06(03): 299-313.

F

Farhat, A., Ginies, C., Romdhane, M., et Chemat, F. (2009). Eco-friendly and cleaner process for isolation of essential oil using microwave energy: experimental and theoretical study. *Journal of Chromatography A*, 1216(26): 5077-5085.

G

Ghafoor K., Choi Y.H., Jeon J.Y., et Jo I.H. (2009). Optimization of ultrasound- assisted extraction of phenolic compounds, antioxidants, and anthocyanins from grape (*Vitis vinifera*) seeds. *Journal of Agricultural Food and Chemistry*, 57(11): 4988-4994.

Giuliano, G., Bartley, G. E., et Scolnik, P. A. (1993). Regulation of carotenoid biosynthesis during tomato development. *The Plant Cell*, 5(4): 379-387.

Gülcin, I. (2012). Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of toxicology*, 86(3): 345-391.

Guo, C., Yang, J., Wei, J., Li, Y., Xu, J., et Jiang, Y. (2003). Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutrition research*, 23(12): 1719-1726.

Gutiérrez, R. M. P., Mitchell, S., et Solis, R. V. (2008). *Psidium guajava*: a review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Journal of ethnopharmacology*, 117(1): 1-27.

H

He, Q., et Venant, N. (2004). Antioxidant power of phytochemicals from *Psidium guajava* leaf. *Journal of Zhejiang University-Science A*, 5(6): 676-683.

J

Jaiarj, P., Khoohaswan, P., Wongkrajang, Y., Peungvicha, P., Suriyawong, P., Saraya, M. S., et Ruangsomboon, O. (1999). Anticough and antimicrobial activities of *Psidium guajava* Linn. leaf extract. *Journal of Ethnopharmacology*, 67(2): 203-212.

Jayakumari, S., Anbu, J., Ravichandiran, V., Anjana, A. S. H. W. I. N. I., Siva Kumar, G. M., et Maharaj, S. (2012). Antiulcerogenic and free radical scavenging activity of flavonoid fraction of *Psidium guajava* Linn leaves. Int. J. Pharm. Pharm. Sci, 4, 170-174.

Joseph, B., et Priya, M. (2011). Review on nutritional, medicinal and pharmacological properties of guava (*Psidium guajava* Linn.). International Journal of pharma and bio sciences, 2(1): 53-69.

K

Kaneria, M., et Chanda, S. (2011). Phytochemical and pharmacognostic evaluation of leaves of *Psidium guajava* L.(Myrtaceae). Pharmacognosy Journal, 3(23): 41-45.

Khanbabaee, K., et Van Ree, T. (2001). Tannins: classification and definition. Natural product reports, 18(6): 641-649.

Koleckar, V., Kubikova, K., Rehakova, Z., Kuca, K., Jun, D., Jahodar, L., et Opletal, L. (2008). Condensed and hydrolysable tannins as antioxidants influencing the health. Mini reviews in medicinal chemistry, 8(5): 436-447.

Krishnaveni, M., Amsavalli, L., Chandrasekar, R., Durairaj, S., et Madhaiyan, P. (2013). Biochemical changes in medicinal plant leaves as a biomarker of pollution. Research journal of pharmacy and technology, 6(5): 537-543.

L

Lhuillier, A. (2007). Contribution a l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauria salicifolia* Hook.f ex Oliver, *Agauria polyphylla* Baker (Ericaceae), *Tambourissa trichophylla* Baker (Monimiaceae) et *Embelia concinna* Baker (Myrsinaceae). Thèse de doctorat. Toulouse.

Ligor, M., Ratiu, I. A., Kielbasa, A., Al-Suod, H., et Buszewski, B. (2018). Extraction approaches used for the determination of biologically active compounds (cyclitols, polyphenols and saponins) isolated from plant material. *Electrophoresis*, 39(15): 1860-1874

Lima, G. P. P., Vianello, F., Corrêa, C. R., Campos, R. A. D. S., et Borguini, M. G. (2014). Polyphenols in fruits and vegetables and its effect on human health. *Food and Nutrition sciences*, 1065-1082.

Lugasi, A. (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta biologica szegediensis*, 47(1-4): 119-125.

Luthria, D.L.(2008). Influence of experimental conditions on the extraction of phenolic compounds from parsley (*Petroselinum crispum*) flakes using a pressurized liquid extractor. *Food Chemistry*, 107(2): 745-752.

M

Mailoa, M. N., Mahendradatta, M., Laga, A., et Djide, N. (2013). Tannin extract of guava leaves (*Psidium guajava L.*) variation with concentration organic solvents. *INTERNATIONAL JOURNAL OF SCIENTIFIC & TECHNOLOGY RESEARCH*, 2(9): 106-10.

Mailoa, M. N., Mahendradatta, M., Laga, A., et Djide, N. (2014). Antimicrobial activities of tannins extract from guava leaves (*Psidium guajavaL*) on pathogens microbial. *Int. J. Sci. Technol. Res*, 3(1): 236-241.

Malešev, D., et Kuntiće, V. (2007). Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. *Journal of the Serbian chemical society*, 72(10): 921-939.

Mansouri, A., Embarek, G., Kokkalou, E., et Kefalas, P. (2005). Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food chemistry*, 89(3): 411-420.

Maoka, T. (2019). Carotenoids as natural functional pigments. *Journal of natural medicines*, 1-16.

McSweeney, C. S., Palmer, B., McNeill, D. M., et Krause, D. O. (2001). Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 91(1-2): 83-93.

Mezzomo, N., et Ferreira, S. R. (2016). Carotenoids functionality, sources, and processing by supercritical technology: a review. *Journal of Chemistry*, 2016.

Miean, K. H., et Mohamed, S. (2001). Flavonoid (myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin, and apigenin) content of edible tropical plants. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(6): 3106-3112.

Mitra, S. K. (2010). Important Myrtaceae fruit crops. In II International Symposium on Guava and other Myrtaceae, 849, 33-38.

Mitra, S. K., Irenaeus, T. K. S., Gurung, M. R., et Pathak, P. K. (2012). Taxonomy and importance of Myrtaceae. In III International Symposium on Guava and other Myrtaceae, 959, 23-34.

Mittal, P., Gupta, V., Kaur, G., Garg, A. K., et Singh, A. (2010). Phytochemistry and pharmacological activities of *Psidium guajava*. *IJPSR*, 1(9): 9-19.

Musaa, K. H., Abdullaha, A., et Subramaniamb, V. (2015). Flavonoid profile and antioxidant activity of pink guava. *Skin*, 149-154.

N

Nantitanon, W., Yotsawimonwat, S., et Okonogi, S. (2010). Factors influencing antioxidant activities and total phenolic content of guava leaf extract. *LWT - Food Science and Technology*, 43(7): 1095–1103.

Naseer, S., Hussain, S., Naeem, N., Pervaiz, M., et Rahman, M. (2018). The phytochemistry and medicinal value of *Psidium guajava* (guava). *Clinical Phytoscience*, 4(1): 1-8.

Nicole, T., et François, G. (2013). Des fruits et des graines comestibles du monde entier. 1^{ère} édition. Lavoisier. Paris.

Nwozo, S. O., Awe, S., et Oyinloye, B. E. (2014). In vitro antioxidant activity of extracts from leaves of ten commonly used medicinal plants—a comparative study. *Oxidants and Antioxidants in Medical Science*, 3(3): 211-215.

O

Offor, C. E. (2015). Phytochemical and proximate analyses of *Psidium guajava* leaves. *J Res Pharm Sci*, 2(6): 05-07.

Okunrobo, L. O., Imafidon, K. E., et Alabi, A. A. (2010). Phytochemical, proximate and metal content analysis of the leaves of *Psidium guajava* Linn (Myrtaceae). *International Journal of Health Research*, 3(4): 217-221.

P

Parejo, I., Viladomat, F., Bastida, J., Rosas-Romero, A., Flerlage, N., Burillo, J., et Codina, C. (2002). Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled Mediterranean herbs and aromatic plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(23): 6882-6890.

Pierre, M., et Lys, M. (2007). *Secrets des plantes*. 4^{ème} Editions. Artémis. Paris.

Poirot, R.(2007). Méthodologie pour le passage en continu d'extraction de soluté à partir de matière végétale. Thèse de doctorat, L'institut national polytechnique de Toulouse, France.

Pommer, C. V., et Murakami, K. R. (2009). Breeding Guava (*Psidium guajava* L.). *Breeding Plantation Tree Crops: Tropical Species*, 83-120.

Pontikis, C. A. (1996). *Psidium guajava* L.(guava). In Trees IV . Springer, Berlin, Heidelberg, 308-320.

Prior, R. L., et Cao, G. (1999). In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods¹. Free Radical Biology and Medicine, 27(11-12): 1173-1181.

Q

Qadan, F., Thewaini, A. J., Ali, D. A., Afifi, R., Elkhawad, A., et Matalka, K. Z. (2005). The antimicrobial activities of *Psidium guajava* and *Juglans regia* leaf extracts to acne-developing organisms. The American Journal of Chinese Medicine, 33(02): 197-204.

R

Rajauria, G., Jaiswal, A.K., Abu-Ghannam, N., et Gupta, S. (2012). Antimicrobial, Antioxidant and Free Radical-Scavenging Capacity of Brown Seaweed *Himanthalia Elongata* from Western Coast of Ireland. Journal of Food Biochemistry, 37, 322-335.

Ribéreau-Gayon, P. (1968). Les Composés phénoliques des végétaux. Dunod. Paris, 254.

Rolland, Y. (2004). Antioxydants naturels végétaux. Oléagineux, Corps gras, Lipides, 11(6): 419-424.

Roy, C. K., Kamath, J. V., & Asad, M. (2006). Hepatoprotective activity of *Psidium guajava* Linn. leaf extract. Indian Journal of Experimental Biology, 44, 305-311.

S

Sánchez-Moreno, C. (2002). Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. Food science and technology international, 8(3): 121-137.

Sanda, K. A., Grema, H. A., Geidam, Y. A., et Bukar-Kolo, Y. M. (2011). Pharmacological aspects of *Psidium guajava*: An update. *International Journal of Pharmacology*, 7(3): 316-324.

Seo, J., Lee, S., Elam, M. L., Johnson, S. A., Kang, J., et Arjmandi, B. H. (2014). Study to find the best extraction solvent for use with guava leaves (*Psidium guajava*L.) for high antioxidant efficacy. *Food Science & Nutrition*, 2(2): 174–180

Shaheena, S., Chintagunta, A. D., Dirisala, V. R., et Kumar, N. S. (2019). Extraction of bioactive compounds from *Psidium guajava* and their application in dentistry. *AMB Express*, 9(1): 208.

Sheela, K., Nath, K. G., Vijayalakshmi, D., Yankanchi, G. M., et Patil, R. B. (2004). Proximate composition of underutilized green leafy vegetables in Southern Karnataka. *Journal of Human Ecology*, 15(3): 227-229.

Sofowora, A. (2010). Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. *Economie et Développement*. 1^{ère} Editions. Paris.

Spigno, G., Tramelli, L. et De Faveri, D.M. (2007). Effects of Extraction Time, Temperature and Solvent on Concentration and Antioxidant Activity of Grape Marc Phenolics. *Journal of Food Engineering*, 81, 200-208.

T

Thenmozhi, S., et Rajan, S. (2015). GC-MS analysis of bioactive compounds in *Psidium guajava* leaves. *Journal of pharmacognosy and phytochemistry*, 3(5): 162-166.

Toepfl, S., Mathys, A., Heinz, V., et Knorr, D. (2006). Potential of high hydrostatic pressure and pulsed electric fields for energy efficient and environmentally friendly food processing. *Food Reviews International*, 22(4): 405-423.

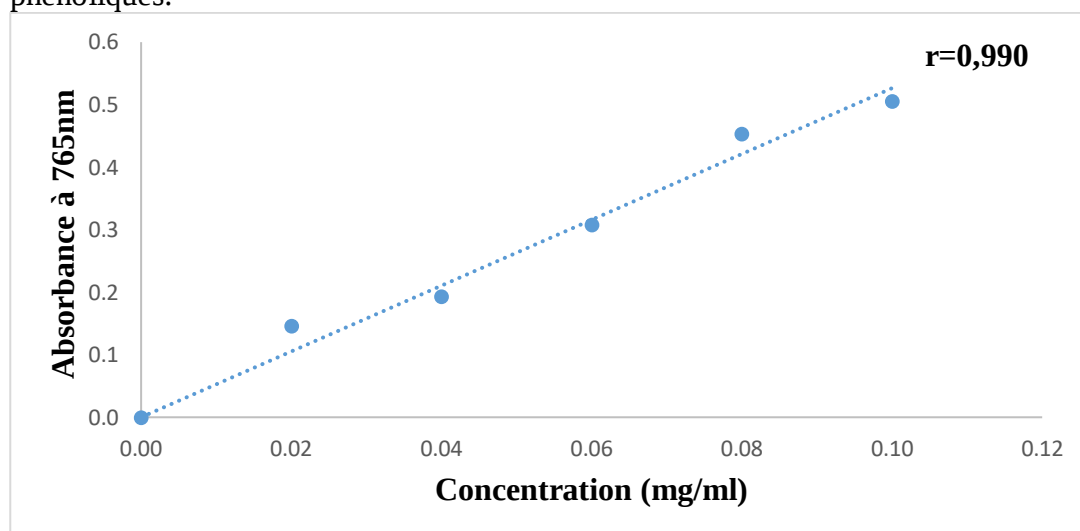
V

Venkatachalam, R. N., Singh, K., et Marar, T. (2012). Phytochemical screening in vitro antioxidant activity of *Psidium guajava*. *Free Radicals and Antioxidants*, 2(1): 31-36.

Vieira, R. H. S. D. F., Rodrigues, D. D. P., Gonçalves, F. A., Menezes, F. G. R. D., Aragão, J. S., et Sousa, O. V. (2001). Microbicidal effect of medicinal plant extracts (*Psidium guajava* Linn. and *Carica papaya* Linn.) upon bacteria isolated from fish muscle and known to induce diarrhea in children. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 43(3): 145-148.

Annexe I : Paramètres optimaux pour l'extraction des composés phénoliques des feuilles du goyavier

Paramètres d'extraction	Paramètres optimaux d'extraction
Solvant	Ethanol
Concentration du solvant	45%
Ration	1/10
Temps d'extraction	2h
Température d'extraction	20°C
Nombre d'extraction	Première extraction

Annexe II : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour la quantification des composés phénoliques.

Résumé

Il existe plusieurs méthodes d'extraction des composés phénoliques et plusieurs facteurs qui peuvent influencer leur rendement et leur activité. Cette étude a pour but d'étudier et optimiser les conditions d'extraction des composés phénoliques à partir des feuilles de *Psidium guajava* L. Dans notre cas la macération a été adoptée. Pour se faire, les effets de sept paramètres ont été prévus d'être étudiés, à savoir : la nature de solvant d'extraction et sa concentration, la température, le temps et le nombre d'extraction, sur le rendement en CPT et leur activité antioxydante. Cependant pour raison de la pandémie du Covid 19, nous nous sommes limités à effectuer le test d'humidité et l'optimisation de la concentration du solvant.

Les résultats obtenus montrent que la meilleure concentration permettant une meilleure extraction des CPT avec une meilleure activité est l'éthanol à 50% dans les conditions suivantes : rapport solide/liquide de 1/10 (g/ml), température à 20°C, temps d'extraction de 2h et première extraction. La teneur en CPT enregistrée sous les conditions suscitées est de l'ordre de 14,05 g EAG/ g MS et dont l'activité antiradical DPPH est de 45%.

Des études supplémentaires nécessitent d'être entreprises afin de compléter ce travail en déterminant les autres paramètres et techniques d'extraction permettant de définir les conditions optimales d'obtention d'un meilleur rendement en CPT avec une activité antioxydante élevée.

Mots clés : feuilles du goyavier (*Psidium guajava* L), extraction, optimisation, antioxydants, activité antioxydante.

Abstract

There are several methods of extracting phenolic compounds and several factors that can influence their yield and activity. This study aims to study and optimize the extraction conditions of phenolic compounds from *Psidium guajava* leaves. In our case, maceration was adopted. To achieve this, the effects of seven parameters were planned to be studied, namely: the nature of the extraction solvent and its concentration, the temperature, the time and the number of extractions, on the yield of CPT and their antioxidant activity. However, due to the Covid 19 pandemic, we were limited to performing the humidity test and the optimization of the solvent concentration.

The results obtained showed that the best concentration allowing better extraction of CPTs with better activity was 50% ethanol under the following conditions: solid / liquid ratio of 1/10 (g / ml), temperature at 20°C, 2h extraction time and first extraction. The CPT content recorded under the above conditions was 14.05 g EAG / g MS and the anti-radical DPPH activity was 45%.

Further studies need to be undertaken in order to complete this work by testing the other parameters and extraction techniques to define the optimal conditions for obtaining a better yield of CPT with high antioxidant activity.

Key words: Guava leaves (*Psidium guajava* L), extraction, optimization, antioxidants, antioxidant activity.