

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

Université de Blida 1

Faculté Des Sciences De La Nature Et De La Vie

Département Des Biotechnologies



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master II

En science de la Nature et de la vie

Option : Phytopharmacie et protection des végétaux

**Etude phytochimique et propriétés antioxydantes de la
goyave "*psidium guajava* L."**

Soutenu le 27/09/2020

Présenté par :

M^{elle} Rahmani Besma & M^{elle} Elahcene Rania

Devant les membres de jury :

Présidente :	M^{me} BENRIMA A.	Professeur	U. Blida 1
Examinatrice :	M^{me} BOURAHLA N.	Doctorante	U. Blida 1
Promotrice :	M^{me} DEBIB A.	MCA	U. Tipaza
Co-promotrice :	M^{elle} MOUALHI N.	Doctorante	U. Blida 1

2019/2020

REMERCIEMENT

Nous tenons tous particulièrement à adresser nos remerciements les plus vifs d'abord à notre promotrice Mme A. DEBIB, qui nous a fait l'honneur de nous inspirer ce sujet et nous guider tout au long de son élaboration, nous lui sommes très reconnaissantes, pour ses conseils, sa disponibilité, et surtout sa patience.

Nos sincères considérations et remerciements sont également exprimés aux membres du jury : Mme A.BENRIMA qui nous fait honneur par sa présence en qualité de présidente du jury ainsi que Mme N. BOURAHLA et qui a accepté d'examiner ce travail et consacré de son temps pour son évaluation.

Avec tout notre respect on tient à remercier notre Co-promotrice Mme N.MOUALHI, pour son aide, ses orientations judicieuses, ses qualités d'ordre et d'efficacité et pour l'élaboration de ce travail.

Nous remercions nos chers parents qui nous ont aidés à être ce que nous sommes et qui nous ont entourés avec tant d'amour et d'affection.

Dédicace

*C'est avec une grande gratitude et des mots sincères, que je dédie ce modeste travail de fin d'étude à
mes chers parents qui ont sacrifié leur vie pour ma réussite.*

A mon Père pour son soutien, son affection et la confiance qu'il m'accordé

A ma Mère pour son amour, ses sacrifiées et ses encouragements

*J'espère qu'un jour, je pourrai leurs rendre un peu de qu'ils ont fait pour moi, que dieu leur prête
bonheur et longue vie*

Je ne pourrai jamais oublier d'exprimer ma profonde gratitude à mes sœurs : Nour El Houda,

Maroua, Nada et mon chère frère Oualid.

A mon petit ange : Mohamed Abed El ghafoure

A ma meilleure amie : Sarah pour me soutenir et m'encourager

*A mes chères amies : Rabia, Rania, Yasmine, Rania, Nour El Houda Et ma cousine Sabrina pour leurs
énergies positives*

A ma binôme Rania pour sa patience et ses efforts, a tous ceux qui me sont chères... MERCI

Rahmani Besma

Dédicace

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

A l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect : mon
cher père

A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui
n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse : mon adorable mère

A ma chère sœur qui n'a pas cessée de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes
études. Que Dieu la protège et l'offre la chance et le bonheur.

A mes très chers frères et mes belles sœurs, Puisse Dieu vous donne santé, bonheur, courage et
surtout réussite.

A mes adorables neveux et nièces, qui savent toujours comment procurer la joie et le bonheur pour toute
la famille.

A mes grands-mères, et mon grand-père, que dieu ait pitié de lui et lui ouvre les portes de paradis.

Et à tous les amis que j'ai connu jusqu'à maintenant. Merci pour leurs amours et leurs encouragements.

Sans oublier mon chère Binôme Besma pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au
long de ce projet.

Elahcene Rania

Liste des Figures

Figure 1 :	<i>Psidium guajava</i> ; (a) Feuilles (b) Fleurs (c) Fruit (d) Graines dans le fruit (e) Écorce	3
Figure 2 :	Variation de forme et de pulpe de la goyave	6
Figure 3 :	Fruit du goyavier « la goyave »	7
Figure 4 :	Les variétés les plus fréquentes de la goyave en forme de pomme (A) et de poire (B)	7
Figure 5 :	La phase de déclenchement	13
Figure 6 :	La phase de propagation	14
Figure 7 :	Les familles d'antioxydants naturels	17
Figure 8 :	Rôle antioxydant des enzymes	18
Figure 9 :	Classification des polyphénols	22
Figure 10 :	Structure chimique de divers flavonoïdes	23
Figure 11 :	Structure chimique des acides phénoliques	24
Figure 12 :	Activités biologiques du fruit <i>Psidium guajava</i>	26
Figure 13 :	Localisation du site d'échantillonnage	29
Figure 14 :	Echantillon de la goyave après congélation	29
Figure 15 :	Les composants de goyave utilisée dans le cadre de notre étude	30
Figure 16 :	Les étapes d'extraction des polyphénols par l'éther de pétrole	31
Figure 17 :	Les étapes d'extraction des polyphénols par méthanol et l'acétone	32
Figure 18 :	Principe de fonctionnement d'une chaîne HPLC	37
Figure 19 :	Structure chimique du radical DPPH [•] et de sa forme réduite.	38
Figure 20 :	PH de la goyave (<i>psidium guajava</i>)	40
Figure 21 :	Brix de goyave (<i>psidium guajava</i>)	41
Figure 22 :	L'acidité de goyave (<i>psidium guajava</i>)	41

Figure 23 :	(a) Existence of saponines tests; L to R: l'extrait de l'acétone, méthanol, éther de pétrole, et l'eau distillée. (b) Existence of phénols and tannins tests; L R: l'extrait de l'acétone, méthanol, éther de pétrole, et l'eau distillée. (c) Existence of terpenoids tests; L to R: l'extrait de l'acétone, méthanol, éther de pétrole, et l'eau distillée. (d) Existence of flavonoïdes tests; L to R: l'extrait de l'acétone, méthanol, éther de pétrole, et l'eau distillée. (e) Existence of glycosides tests; L to l'extrait de l'acétone, méthanol, éther de pétrole, et l'eau distillée.	43
Figure 24 :	Les teneurs en composés phénoliques des trois parties (peau, pulpe, pépins)	45
Figure 25 :	La teneur de composés phénoliques de jus de goyave par différents solvants	46
Figure 26 :	Profil des composés phénoliques (HPLC-DAD) de la goyave	49
Figure 27 :	Chromatogrammes de substances phénoliques de la goyave	49
Figure 28 :	Analyse HPLC-MS-DAD d'extrait de goyave	50
Figure 29 :	Profil d'analyse des fractions méthanoliques des fruits de <i>P. guajava</i> (c). Acide gallique (pic 1), catéchine (pic 2), acide chlorogénique (pic 3), acide caféique (pic 4), épicatechine (pic 5), rutine (pic 6), quercitrine (pic 7), isoquercitrine (pic 8), quercétine (pic 9), kaempférol (pic 10) et campéférol glycosylé (pic 11).	51
Figure 30 :	La teneur en vitamine C de la goyave	52
Figure 31 :	La teneur en flavonoïde de la goyave	53
Figure 32 :	IC50 du pouvoir antiradicalaire du fruit de la goyave	54

Liste des tableaux

Tableau 1.	La valeur alimentaire par 100 g du fruit de goyave	8
Tableau 2.	Espèces dérivées de l'oxygène moléculaire	15
Tableau 3.	Les principaux tests d'activité antioxydante ; Principe, avantages et inconvénients	16
Tableau 4.	Paramètres physico-chimiques du jus de goyave	39
Tableau 5.	Les composants phénoliques dans le jus, pulpe, peau et pépins de goyave (<i>psidium guajava</i>)	42
Tableau 6.	Analyses phytochimiques de différents extraits des écorces de fruits de <i>P.guajava</i>	44

Abréviations

Gpx : Glutathion peroxidase

ROOH : Des hydroperoxydes organiques

SOD : Superoxyde dismutase

DHA : l'acide déshydroascorbique

RO₂ : radicaux peroxyles

•OH : radicaux hydroxyles

ROS : l'espèce réactive d'oxygène

ERO : les espèces réactives de l'oxygène

Cu : Le cuivre

Fe : Le fer

Co : Le monoxyde de carbone

Mn : Manganèse

Ni : Le nickel

Brix : total soluble solide

H₃O⁺ : ions oxonium

NaOH : hydroxyde de sodium

DPPH• : 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle

IC 50 : Concentration inhibitrice à 50%.

TABLE DES MATIERES

Introduction.....	1
--------------------------	----------

Synthèse bibliographique

CHAPITRE 1 : Généralités sur la goyave

1. Présentation de l'espèce.....	2
1.1.Généralités.....	2
1.2.Nomenclature.....	2
2. Taxonomie.....	3
3. Répartition géographique.....	4
4. Le goyavier en Algérie.....	4
5. Ecologie	4
6. Description botanique	5
7. Variétés.....	5
8. Composés phytochimique et valeur nutritionnelle	8
8.1.Composés phytochimique.....	8
8.2.. Valeur nutritionnelle.....	10
9. Utilisation du fruit en médecine traditionnelle.....	10
10. Toxicité de la goyave.....	11

CHAPITRE 2 : Le stress oxydatif, l'oxydation, les radicaux libres, et antioxydants

1. Stress oxydatif.....	12
2. Conséquences moléculaires du stress oxydatif.....	12
3. L'oxydation	12
3.1. Définition de l'oxydation	12
3.2. Mécanismes de l'oxydation.....	13

4. Radicaux libres	14
5. Espèces réactives de l'oxygène	14
6. Activité antioxydants.....	15
6.1. Antioxydants.....	17
6.1.1. Antioxydants naturels	17
6.1.2. Antioxydants enzymatiques endogènes.....	18
6.1.3. Antioxydants non enzymatiques endogènes.....	18
6.1.4. Antioxydants exogènes.....	19
6.1.4.1. Vitamines	19
6.1.4.2. Antioxydants d'origine végétale.....	20

CHAPITRE 3 : Composés phénoliques

1. Généralités sur les composés phénoliques	22
2. Classification.....	22
2.1. Flavonoïdes	23
2.2. Acides phénoliques	23
2.3. Tanins	25
2.4. Lignines.....	25
3. Rôle et intérêt des composés phénoliques	25
3.1. Chez les végétaux.....	25
3.2. Chez les humains	26

Partie expérimentale

CHAPITRE 1 : Matériel et méthodes

1. Objectifs.....	27
2. Période et lieu de l'étude.....	27
3. Appareil et produits chimiques	27

4. Matériel et méthodes.....	28
4.1.Matériel végétal.....	28
5. Extraction	30
5.1.Extraction des polyphénols par macération a l'eau	30
5.2.Extraction des polyphénols par les solvants organiques.....	30
• Extractions des polyphénols par l'éther de pétrole.....	30
• Extraction des polyphénols par le méthanol et l'acétone.....	31
6. Analyses physico-chimiques	32
7. Etude phytochimique.....	34
8. Etude phytochimique.....	35
9. Identification des composés phénoliques par CLHP.....	36
10. Estimation du pouvoir antioxydant par la méthode au DPPH.....	37

CHAPITRE 2 : Résultats et discussion

1. Paramètres physico-chimiques du jus de goyave	39
2. Paramètres physico-chimiques de la goyave.....	40
3. Screening phytochimique.....	42
4. Dosage spectrophotométrique des polyphénols totaux.....	45
5. Identification des composés phénoliques par HPLC	48
6. Teneur en antioxydants.....	52
➤ Teneur en acide ascorbique	52
➤ Teneur en flavonoïde	53
➤ Test au DPPH	53
Conclusion	56
Références bibliographiques.....	57

Phytochemical study and antioxidant properties of guava

"Psidium guajava L."

Abstract

Antioxidants are molecules that have the property of defending the body against free radicals, a varied and balanced diet, rich in vegetables and fruits must allow a sufficient intake of antioxidants, tropical fruits and mainly guava "*Psidium guajava L.*" are widely consumed worldwide. From a nutritional point of view, this fruit provides a strong antioxidant capacity due to its richness in organic compounds, it is mainly vitamins E and C, carotenoids (beta-carotene, lycopene), and polyphenols (flavonoids and tannins among others). This work aims to evaluate the antioxidant activity of the various parts of guava "*Psidium guajava L.*": juice, pulp, peels and seeds. Analysis of the results of previous studies has shown that these natural extracts are rich in polyphenols. Juice and pulp have high levels of flavonoids, tannins and other phenolic compounds, skin and seeds contain the lowest amount of flavonoids and cardenolids, however, they are rich in tannins, Yes The antioxidant content of guava is very interesting. , several scientific studies have shown that it has a high content of polyphenol, its consumption can then contribute to limit the oxidative damage in the human organism.

Key words: Antioxidant activity, DPPH, Guava (*psidium guajava*).

Etude phytochimique et propriétés antioxydantes de la goyave

" *psidium guajava* L."

Résumé

Les antioxydants sont des molécules qui ont la propriété de défendre l'organisme contre les radicaux libres, une alimentation variée et équilibrée, riche en légumes et fruits doit permettre un apport suffisant en antioxydants, les fruits tropicaux et principalement la goyave (*Psidium guajava*) sont largement consommés dans le monde. D'un point de vue nutritionnel, ce fruit fournit une forte capacité antioxydante due à sa richesse en composés organiques, il s'agit principalement des vitamines E et C, des caroténoïdes (bêta-carotène, lycopène), et des polyphénols (flavonoïdes et tanins entre autres). Ce travail vise à évaluer l'activité antioxydante des différentes parties de la goyave (*Psidium guajava*) : jus, pulpe, peau et pépins. L'analyse des résultats des études antérieures a montré que ces extraits naturels sont riches en polyphénols. Le jus et la pulpe présentent un taux élevé des flavonoïdes, tanins et d'autres composés phénoliques, la peau et les pépins contiennent la plus faible quantité de flavonoïdes et cardénolides, en revanche, ils sont riches en tanins. Effectivement le contenu en antioxydants de la goyave est très intéressant, plusieurs études scientifiques ont démontré qu'elle avait un contenu élevé en polyphénol, sa consommation pourra alors contribuer à limiter le dommage oxydatif dans l'organisme humain.

Mots clés : Activité antioxydante, DPPH, Goyave (*psidium guajava*).

Introduction

Nombreux documents historiques témoignent comment les bienfaits des aliments ont été pris en compte depuis plus de mille ans et même Hippocrate, considéré comme "le père" de la médecine occidentale, disait « *Permettez à vos aliments d'être votre médicament, et à votre médicament d'être vos aliments* » (**Witkamp et Norren, 2018 ; Vranou et al., 2020**).

Il y a quelques dizaines d'années, la science alimentaire se limitait à analyser la valeur nutritive des aliments. De nos jours, de nouvelles recherches ont conduit à une meilleure reconnaissance du rapport entre les aliments et la santé en mettant en valeur les composantes ayant des propriétés thérapeutiques (**Debib, 2014**).

Dans ce contexte, au cours des dernières décennies, les recherches scientifiques n'ont fait que confirmer les effets sanitaires bénéfiques des fruits. Il a été suggéré que sa teneur importante en phytonutriments, notamment en polyphénols pourrait être à l'origine de la prévention des maladies dégénératives, des maladies cardio-vasculaires, de certains cancers et du déclin cognitif lié à l'âge (**Trichopoulou et al., 2005**).

La goyave (*Psidium guajava* L.) appartient au genre *Psidium* de la famille des Myrtacées est considéré comme un aliment bénéfique pour la santé, d'une part sa richesse en fibres et sa faible teneur en lipides et d'autre part sa teneur élevée en polyphénols et en vitamines A et C (presque cinq fois plus qu'une orange) ce qui fait que la goyave est un puissant antioxydant naturel.

Ce fruit a été introduit en Algérie à la fin des années 1970 à titre d'expérimentation donc il reste un fruit peu connu on les trouve spécifiquement dans la région de Fouka Wilaya de Tipaza. Notre travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation de ce fruit localement par une étude phytochimique et biologique.

Ce travail vise à étudier l'activité antioxydante des extraits préparés de fruit *Psidium guajava* L.). L'étude va répondre à certaines questions et hypothèses à savoir :

- La richesse des variétés locales et internationales en polyphénols ?
- En raison de la diversité des molécules bioactives de ce fruit, leurs extraits ont-ils des propriétés antioxydantes ?
- Quels sont les facteurs qui contrôlent la puissance de l'activité antioxydante

Synthèse bibliographique

CHAPITRE 1

Généralités sur la goyave

CHAPITRE 1 : Généralités sur la goyave

1. Présentation de l'espèce

1.1 Généralités

Le goyavier est un arbre de taille moyenne qui peut atteindre dix mètres (**figure 1**) et qui pousse dans les régions tropicales d'Amérique et d'Afrique, il compte plus de 160 cultivars dans le monde, originaire d'Amérique tropicale, et naturalisé dans de nombreux pays tropicaux. Appartenant à la famille des *Myrtacées* et est apprécié pour la saveur, l'arôme et la valeur nutritive caractéristiques de ses fruits, en plus d'être une source potentielle de composés phytochimiques (**Souza et al., 2018**).

La goyave « *Psidium guajava L.* » est une baie ronde et jaune à maturité, de forme variable. Elle peut être arrondie, ovoïde ou pyriforme au parfum musqué, et mesure environ 5 à 8 cm de longueur. Ses fruits sont largement consommés frais ou transformés (boissons, sirop, crème glacée et confitures) et il est également utilisé en ethnomédecine en raison de ses propriétés antipaludiques et antioxydantes. (**Furlan et al., 2007**)

Le nom du genre *Psidium* vient du grec sidion qui signifie écorce de grenade. En effet les goyaves ressemblent extérieurement aux grenades (**Oh et al., 2005**)

1.2 Nomenclature

Selon The Plant List (**2016**), *P. guajava* peut être connu par des synonymes tels que *Guajava pumila* (Vahl) Kuntze, *Guajava pyrifera* (L.) Kuntze, *Myrtus guajava* (L.) Kuntze, *Psidium angustifolium* Lam., *Psidium cujavillus* Burm.f., *Psidium cujavus* L., *Psidium fragrans* Macfad., *Psidium igatemyense* Barb. Rodr., *Psidium intermedium* Zipp. Ex Blume, *Psidium pomiferum* L., *Psidium prostratum* O. Berg, *Psidium pumilum* Vahl, *Psidium sapidissimum* Jacq., *Psidium vulgare* Rich. Et *Syzygium ellipticum* K. Schum. Et Lauterb. (**Morais-Braga et al., 2016**).

Est communément appelé djawafa (جوافة) en arabe, guave, goyave ou goyavier en français ; guave, Guavenbaum, Guayave en allemand ; banjiro en japonais ; goiaba, goiabeiro au Portugal ; araçá-goiaba, araçá-guaçú, guaiaba au Brésil ; guayaba, guayabo en espagnol et gauve en anglais (**Gutiérrez et al., 2008**).

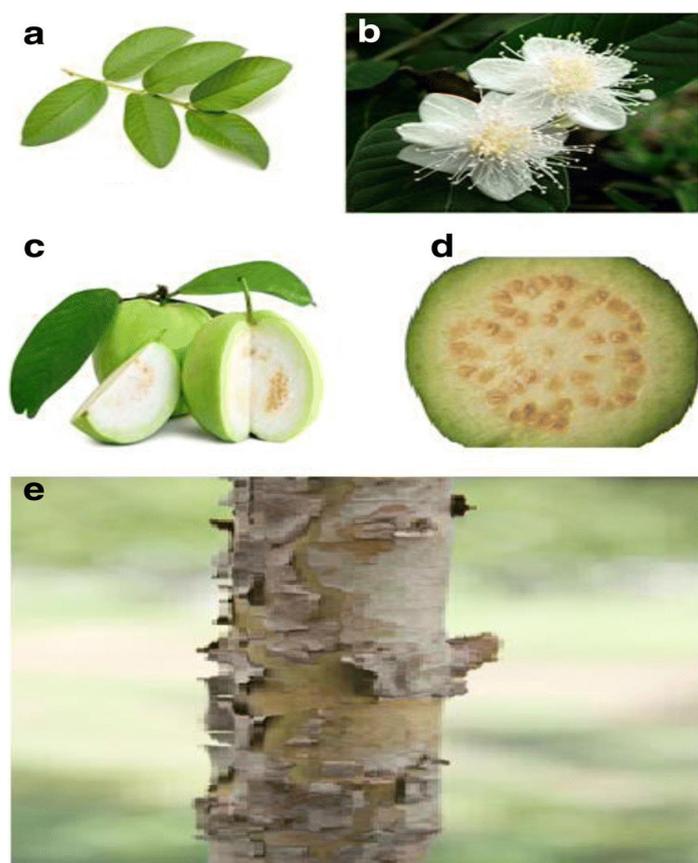


Figure 1. *Psidium guajava* ; (a) Feuilles (b) Fleurs (c) Fruit (d) Graines dans le fruit (e) Écorce
(Naseer, 2018)

2. Taxonomie

La classification scientifique de la goyave selon **Tensaout et Gaoua (2018)** est la suivante :

Règne : Plantae
Sous-règne : Tracheobionta
Division : Magnoliophyta
Classe : Magnoliopsida
Sous-classe : Rosidae
Ordre : Myrtales
Famille : Myrtaceae
Genre : *Psidium*
Espèce : *Psidium Guajava*

3. Répartition géographique

Psidium guajava est apparu sous les tropiques américains. Les explorateurs espagnols ont importé la goyave aux Philippines et les Portugais l'ont par la suite importée en Inde. Elle s'est ensuite étendue rapidement au reste des tropiques et a été naturalisée jusqu'au point que les habitants de plusieurs pays proclament que ce fruit est originaire de leur région. Il s'étend à toute l'Amérique du Sud, l'Europe, l'Afrique et l'Asie. Il pousse dans toutes les régions tropicales et subtropicales du monde. Il s'adapte aux différentes conditions climatiques, mais préfère les climats secs (Fathy et al., 2016).

4. Le goyavier en Algérie

La goyave est très peu cultivée en Algérie, Nous la trouvons qu'à Fouka (Wilaya de Tipaza), il est communément appelé « goyave ». Ce fruit a été introduit à la fin des années 1970 à titre d'expérimentation. Certains affirment que ce fruit a été introduit en Algérie directement du Moyen-Orient, d'autres croient qu'il a été ramené d'Amérique Latine par les colons.

La dernière hypothèse est la plus plausible car certaines maisons coloniales de Fouka Ils ont un ou deux goyaviers dans leurs jardins, et aussi planté au Jardin d'Essais du Hamma, à Alger. 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, qui est maintenant sous le nom de Domaine M'seguem-Abdelkader, sur la route de Douaouda. Puis Il a été abandonné en 1987, et récupéré en 1991 par Hadj Hamada pour préserver ce fruit exotique. Aujourd'hui, ce fermier récolte environ 3 tonnes par an et ne sont commercialisées qu'à Fouka (Tensaout et Gaoua, 2018)

5. Ecologie

Sous les tropiques, le goyavier s'établit entre le niveau de la mer et une altitude d'environ 1500 m et il peut supporter des températures allant de 15 à 45°C, avec des températures moyennes préférablement comprises entre 23 et 28°C. Le goyavier est plus résistant à la sécheresse que la plupart des arbres fruitiers tropicaux mais il s'épanouit le mieux avec 1000 à 2000 m³/ha de pluie répartie régulièrement sur l'année. (Khadhri et al., 2014)

La goyave s'adapte bien à une grande variété de sols, sauf ceux à forte teneur en argile, à faible capacité de drainage ou sur des sols acides et salins. Le sol optimum offre un bon

drainage, un taux élevé de matière organique et un pH compris entre 5 et 7. Si le pH est supérieur à 7, la carence en zinc et en fer peut poser problème. (Morais-Braga et al., 2016)

6. Description botanique

La goyave est un petit arbre avec des branches tortueuses et un tronc lisse. Le fruit est une baie avec une pulpe charnue jaune ou rose et de nombreuses graines près du centre. De nombreuses variétés différentes ont été développées qui varient dans la couleur, la taille et la forme de rond à ovoïde en forme de poire (Prance, 2003).

Psidium guajava est un petit arbre qui est de 10 m de haut avec mince, lisse, patch, écorce peeling. Les feuilles sont opposées, Elles sont aromatiques lorsqu'on les froisse, le pétiole est court, la lame est ovale, avec des nervures pennées proéminentes, de 5 à 15 cm de long. Les fleurs sont un peu voyantes, les pétales blanchâtres jusqu'à 2 cm de long, les étamines nombreuses.

Les fruits sont de couleur verte et vire au jaune à maturité, à la baie ovoïde environ 5 cm de diamètre avec un mésocarpe rose-rouge est sucrée et parfumée comestible contenant de nombreuses petites graines dures blanches (Gutiérrez et al., 2008). La chair est d'épaisseur variable, blanche, rose ou saumon, de consistance légèrement crémeuse, de saveur douce à acide et plus ou moins résineuse (Guillouty, 2016).

7. Variétés

Il existe de nombreuses variétés de fruits de la goyave qui diffèrent d'un endroit à l'autre par leur aspect, couleur et leur goût. Selon le cultivar, les fruits peuvent être de forme sphérique, ovoïde ou pyriforme. La surface des fruits est rugueuse à lisse, exempte de pubescence. La couleur de la peau des fruits immatures et non mûrs est principalement verte foncée, qui devient vert jaunâtre, jaune pâle et jaune avec du rouge sur les épaules au stade mûr selon le cultivar. La pulpe des fruits mûrs est tendre et juteuse et est blanche, rose ou rouge saumon (Figure 2).



Figure 2. Variation de forme et de pulpe de la goyave

(Nguyen., 2020)

La cavité des graines au centre du fruit peut être petite à grande avec de nombreuses graines difficiles à Semi-dures. Le mésocarpe extérieur de la goyave est de texture sableuse ou granuleuse en raison de la présence de cellules de pierre (78%), qui ont fortement lignifié les parois cellulaires (Singh, 2011).

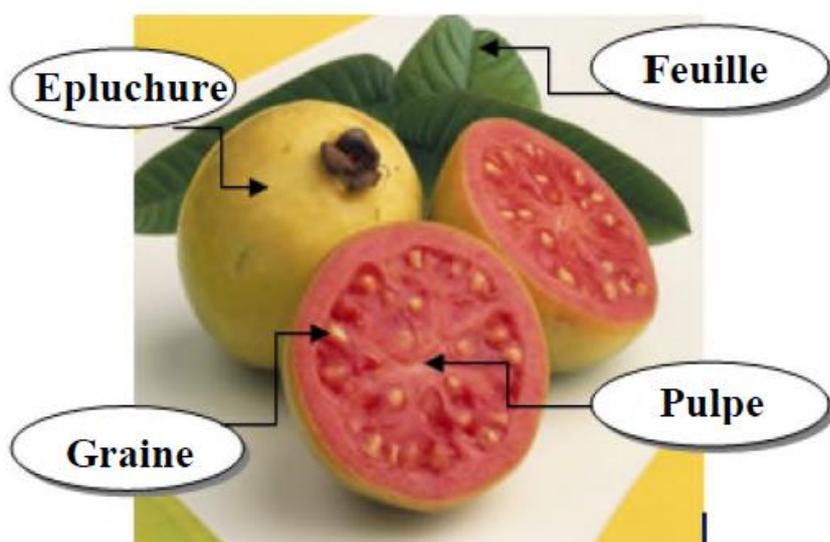


Figure 3 : Fruit du goyavier « la goyave »

(Nguyen, 2020)

Parmi les variétés les plus fréquentes sont :

- la goyave en forme de pomme (*Psidium pomiferum* ou *pomifera*) : possède une chair ferme de couleur rose saumon, dégageant un parfum musqué et de saveur douce (**Figure 4.A**).
- La goyave en forme de poire (*Psidium pyriforme* ou *pirifera*) : possède une chair rose carnée et son goût est sucrée (**Figure 4.B**). Son parfum évoque la fraise, et comme la poire, sa pulpe est granuleuse. (Tensaout et al., 2018)



(A)



(B)

Figure 4 : Les variétés les plus fréquentes de la goyave

Forme de pomme (A) et de poire (B)

(Tensaout et al., 2018)

8. Composés phytochimiques et valeur nutritionnelle

8.1 Composés phytochimiques

8.1.1 Fruits

Elles se caractérisent par une faible teneur en hydrates de carbone (13,2 %), en matières grasses (0,53 %) et en protéines (0,88 %) et par une teneur élevée en eau (84,9 %). La valeur alimentaire par 100 g est illustrée dans le tableau 1 :

Tableau 1. La valeur alimentaire par 100 g du fruit de la goyave

La valeur alimentaire par 100g	La quantité
Calories	36–50 kcal
Humidité	77–86 g
Fibres brutes	2,8–5,5 g
Cendres	0,43–0,7 g
Calcium	9,1–17 mg
Phosphore	17,8–30 mg
Fer	0,30–0,70 mg
Vitamine A	200–400 I.U
Thiamine	0,046 mg
Riboflavine	0,03–0,04 mg
Niacine	0,6 à 1,068 mg
Acide ascorbique	100 mg
Vitamine B3	40 I.U

(Gutiérrez et al., 2008)

Le manganèse est également présent dans la plante en combinaison avec les acides phosphorique, oxalique et malique. Ont été isolés à partir d'huile essentielle extraite des fruits. On a signalé des cas :

8.1.2 Peaux de fruits

L'acide ascorbique est le principal constituant de la peau, deuxièmement dans la chair ferme, et un peu de contenu dans la pulpe centrale varie de 56 mg à 600 mg et peut varier entre 350 mg et 450 mg dans les fruits presque mûrs. La mise en conserve ou tout autre traitement

thermique détruit environ 50 % de l'acide ascorbique. L'odeur forte du fruit est attribuée à ses composés carbonylés. (Gutiérrez et al., 2008)

8.1.3 Feuille

Les feuilles contiennent de l'huile essentielle dont les principaux composants sont α -pinène, β -pinène, limonène, menthol, acétate de terpényle, alcool isopropylique, longicyclene, caryophyllène, β -bisabolène, cinéol, oxyde de caryophyllène, β -copanène, farnesène, humulene, selinene, cardinène et curcumène. Le nérolidol, le β -sitostérol, les acides ursoliques, cragoliques et guayavoliques ont également été identifiés.

En outre, les feuilles contiennent des acides triterpéniques ainsi que des flavonoïdes; l'avicularine et son 3-1-4-pyranoside avec une forte action antibactérienne, l'huile fixe 6%, 3,15% résine, et 8,5% tannine, et un certain nombre d'autres substances fixes, graisse, cellulose, tanin, chlorophylle et sels minéraux. (Gutiérrez et al., 2008)

8.1.4 Écorce

Contient de 12 à 30 % de tanin, de résine et de cristaux d'oxalate de calcium. (Gutiérrez et al., 2008)

8.1.5 Racines

Elles contiennent des tanins, des leucocyanidines, des stérols, de l'acide gallique, des glucides et des sels. Les racines, l'écorce des tiges et toutes les feuilles contiennent un pourcentage important d'acide tannique. (Gutiérrez et al., 2008)

8.1.6 Graine

Elles contiennent 14 % d'huile, poids sec, 15 % de protéines et 13 % d'amidon, des composés phénoliques et flavonoïdes, dont la quercétine-3-O- β -d-(2-O-galloyl-glucoside)-4-O-vinylpropionate. Certains composés isolés sont cytotoxiques. (Gutiérrez et al., 2008)

8.1.7 Bourgeon floral

Les bourgeons ont les concentrations les plus élevées de myricétine (256 mg kg⁻¹), de quercétine (3605 mg kg⁻¹), de lutéoline (229 mg kg⁻¹), de kaempferol (229 mg kg⁻¹) et d'apigénine (252 mg kg⁻¹). (Gutiérrez et al., 2008)

8.2 Valeur nutritionnelle

La goyave est souvent commercialisée comme « super fruit », étant riche en vitamines « A » et « C » avec des graines qui sont riches en acides gras polyinsaturés oméga-3, oméga-6 et surtout en fibres alimentaires. Un seul fruit de Goyave contient plus de quatre fois la quantité de vitamine C que celle d'une seule orange, c.-à-d. plus de 200 mg par 100 g de portion et a également une bonne teneur en minéraux alimentaires, potassium, magnésium, et généralement un profil large, faible en calories des nutriments essentiels.

La goyave contient à la fois des caroténoïdes et des polyphénols – les principales classes de pigments antioxydants, ce qui lui confère une valeur antioxydant relativement élevée parmi les aliments végétaux. Comme ces pigments produisent la couleur des fruits, les goyaves de couleur rouge ou orange ont plus de valeur comme sources d'antioxydants que les goyaves de couleur vert jaunâtre. (Nimisha et al., 2013)

9. Utilisation du fruit en médecine traditionnelle

Diverses parties de la plante ont été utilisées en médecine traditionnelle. Feuilles : La décoction ou infusion des feuilles est utilisée comme fébrifuge, antispasmodique et pour les rhumatismes en Inde. Les feuilles sont utilisées aux États-Unis comme antibiotique sous forme de cataplasme ou de décoction pour les plaies, les ulcères et les maux de dents. La bronchite, les crises d'asthme, la toux, les maladies pulmonaires pourraient également être traitées avec des thés de goyave.

Écorce :

L'écorce sous forme de décoction et de cataplasme est utilisée comme astringent dans le traitement des plaies ulcéreuses et de la diarrhée aux Philippines alors qu'au Panama, en Bolivie et au Venezuela, l'écorce est utilisée dans le traitement de la dysenterie et des affections cutanées. Sous forme de décoction et de cataplasme, il est utilisé pour expulser le placenta après l'accouchement et dans les infections de la peau, les hémorragies vaginales, la fièvre, la déshydratation et les troubles respiratoires.

Racine :

La racine est utilisée en Afrique de l'Ouest comme décoction pour soulager la diarrhée, la toux, les maux d'estomac, la dysenterie, les maux de dents, l'indigestion et la constipation ; tandis qu'aux Philippines, aux Fidji et en Afrique du Sud, les racines sont utilisées sous forme de décoction et de cataplasme comme astringent dans les plaies ulcéreuses et dans le traitement de la diarrhée.

Plante entière :

En général, la plante entière ou ses pousses sont utilisées sous forme d'infusion, de décoction et de pâte comme tonique cutané à Tahiti et Samoa et comme analgésie lors de menstruations douloureuses, de fausses couches, de saignements utérins, de travaux prématurés et de blessures **(Joseph et Priya., 2011.)**

10. Toxicité de la goyave

Le profil toxicologique indiquait que même le niveau de métaux toxiques dans la goyave est significativement faible et incapable de causer des dommages, ce qui en fait un bon candidat pour les études cliniques. **(Prance, 2003)**

Mais Le fruit non mûr est indigeste, provoque des vomissements et de la fièvre. Est riche en tanins, astringent et a tendance à causer la constipation. **(Gutiérrez et al., 2008)**

CHAPITRE 2

Le stress oxydatif, l'oxydation, les radicaux libres, et antioxydants

CHAPITRE 2 : Le stress oxydatif, l'oxydation, les radicaux libres, et antioxydants

1. Stress oxydatif

Le stress oxydatif est un état de déséquilibre entre la production de radicaux libres et leur dégradation par les systèmes antioxydants avec une accumulation accrue d'espèces réactives d'oxygène (ROS) dans les tissus et les organes. **(Velasquez., 2015)**

Le stress oxydatif se produit lorsque des radicaux oxygénés en excès sont produits dans les cellules, ce qui pourrait dépasser la capacité antioxydante normale. Lorsque la concentration des espèces réactives n'est pas contrôlée par des mécanismes de défense internes tels que les antioxydants (tocophérols, acide ascorbique et glutathion) ou les enzymes impliqués dans le balayage des radicaux oxygénés (catalase, peroxydase et superoxyde dismutase, SOD), les dommages oxydatifs se produisent aux protéines, aux lipides et à l'ADN, ce qui pourrait entraîner une cytotoxicité, une génotoxicité et même une cancérogenèse lorsque les cellules endommagées (mutées) peuvent proliférer.

Le stress oxydatif pourrait résulter de ce qui suit : la présence de xénobiotiques, l'activation du système immunitaire en réponse à des microorganismes envahissants (inflammation) et le rayonnement, qui fait du stress oxydatif un dénominateur commun de la toxicité ou du stress. **(Gagné., 2014)**

2. Conséquences moléculaires du stress oxydatif

La production excessive des radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques : oxydation de l'ADN, des protéines, de lipides et des glucides, mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides **(Favier, 2006)**.

3. L'oxydation

3.1 Définition de l'oxydation

L'oxydation est générée par des radicaux libres, espèces chimiques neutres ou chargées instables qui ne cherchent qu'à récupérer un électron dans leur environnement pour retrouver un état plus stable. Ces deux propriétés font que les réactions d'oxydation sont très rapides et se propagent en cascade.

Les espèces moléculaires cibles de l'oxydation sont avant tous les corps gras comme les phospholipides des membranes cellulaires, mais aussi les protéines. Dans le cas des enzymes, l'oxydation entraîne une modification ou perte de l'activité biologique de la molécule, ce qui provoque des désorganisations cellulaires parfois irréversibles entraînant la mort de la cellule. Il en est de même quand l'oxydation touche l'ADN ou une partie du système traduction/transduction. (Rolland, 2004)

3.2 Mécanismes de l'oxydation

Les mécanismes d'oxydations des composés insaturés biologiques (acides gras, caroténoïdes, polyphénols...) sont souvent des réactions radicalaires avec l'oxygène moléculaire et présentent trois phases principales :

A. Phase de déclenchement

Où se forme un premier radical libre. L'arrachement du proton est facilité tant par la chaleur (agitation moléculaire) que les rayonnements ou les catalyseurs (métaux tels que Cu, Fe, Co, Mn, Ni...).

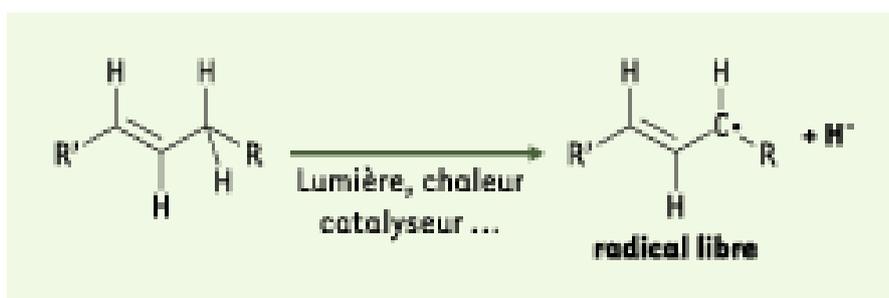


Figure 5 : la phase de déclenchement

(ROLLAND, 2004)

B. Phase de propagation

Où l'oxygène fixé donne un radical peroxy qui réagit avec une autre molécule et conduit à un néoradical libre et un hydroperoxyde. Les hydroperoxydes instables se scindent en composés plus courts.

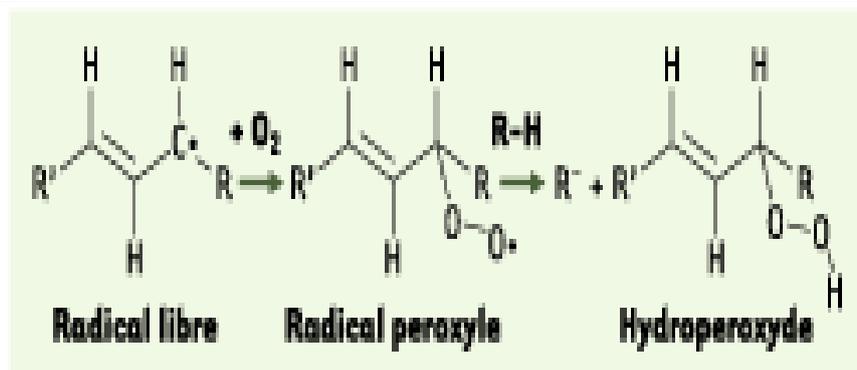


Figure 6 : la phase de propagation (ROLLAND, 2004)

C. La phase de terminaison : où se recombinent différents radicaux formés.
(ROLLAND, 2004)

4. Radicaux libres

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. Cette propriété rend ces éléments très réactifs en raison de la tendance de cet électron à se ré-appairer, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et déclenchent ainsi une réaction en chaîne. L'oxydation des acides gras entrant dans la constitution des phospholipides membranaires est un risque réel associé au développement de telles réactions biochimiques. La réactivité de ces radicaux ne doit cependant pas être exagérée ; la demi-vie de ces composés instables est extrêmement courte (10^{-9} à 10^{-6} s) et tous n'ont pas la même réactivité et le même potentiel de lésion. Le radical superoxyde est peu toxique du fait d'une relative inertie et diffusion à distance de son lieu de production, alors que le radical hydroxyle est le plus réactif des radicaux libres (Hininger et Bigard, 2007)

5. Espèces réactives de l'oxygène

Parmi les espèces radicalaires les plus intéressantes se trouvent les espèces réactives de l'oxygène (ERO) qui sont des radicaux libres qui dérivent de la molécule d'oxygène, par addition d'un électron. Les principales espèces réactives de l'oxygène sont : le radical superoxyde (O_2^\bullet), le radical hydroxyle (OH^\bullet), le monoxyde d'azote (NO^\bullet), et aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante tels que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le peroxynitrite ($ONOO^\bullet$) (tableau 2) (Jacques et André., 2004 ; Gutteridge, 1993)

Tableau 2. Espèces dérivées de l'oxygène moléculaire

Anion superoxyde	O_2^\bullet : radical peu réactif mais toxique, oxyde les catécholamines ; peut former OH^\bullet
Radical hydroxyle	OH^\bullet : très réactif, peu diffusible, initiateur principal de la lipoperoxydation, altère les protéines et l'ADN
Oxygène singulet	1O_2 : non radical, très réactif, peut initier la lipoperoxydation
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2 : non radical, stable, faiblement toxique, diffusible, antiseptique, peut former $^\circ OH$
Monoxyde d'azote	NO^\bullet : médiateur cellulaire de vasodilatation
Nitroxyde	NOO^\bullet
Peroxynitrite	$ONOO^\bullet$: radical très réactif, résulte de la réaction de l'anion superoxyde avec le monoxyde d'azote

(Hininger et Bigard, 2007)

6. Activité antioxydante

La capacité antioxydante d'un produit végétal est déterminée par la concentration et la forme chimique des composés qui peuvent agir comme antioxydants. Les principaux antioxydants alimentaires dans les fruits et légumes sont la vitamine C, la vitamine E, les caroténoïdes et les composés phénoliques. (Bengtsson et al., 2008)

L'activité antioxydante peut être évaluée à l'aide d'un certain nombre de méthodes qui entrent dans l'une ou l'autre des deux catégories générales suivantes :

- Dosages basés sur une réaction de transfert d'électrons qui est surveillée par le changement de couleur de l'oxydant à mesure qu'il est réduit ; et
- Essais basés sur une réaction de transfert d'atome d'hydrogène où l'antioxydant et le substrat sont en concurrence pour les radicaux libres. (Pradas-Baena et al., 2015)

Les principaux tests sont résumés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 3 : Les principaux tests d'activité antioxydante ; Principe, avantages et inconvénients (Fernandez et al., 2012)

Méthode	Principe	Avantage	Inconvénients
TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity) capacité antioxydante en équivalent trolox	Mesure colorimétrique du transfert d'électron d'un antioxydant vers le radical -cation ABTS, exprimée en TEAC	Méthode simple à mettre en œuvre, utile en screening et en routine	Interférences antioxydant /radicaux libres possible, radical ABTS non représentatif car absent des systèmes biologique
Test DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)	Mesure colorimétrique (absorbance à 517 nm) de la capacité réductrice d'un antioxydant en présence du radical libre DPPH, exprimée en IC50 (concentration nécessaire pour réduire le DPPH de 50 %)	Test complet, peu couteux (DPPH commercial), applicable à des échantillons simples et complexes et à d'autres techniques (bioautographie par exemple)	Interférences possibles, relativement sélectif (polyphénols essentiellement), relativement long (20 min -6h)
INDICE ORAC (Oxygen Radical absorbance capacity) capacité d'absorption des radicaux oxygénés	Mesure d'inhibition des radicaux hydroxyles formés par le générateur hydrophile AAPH, grâce à la décroissance de fluorescence de la fluorescéine. Expression en TEAC (comparaison avec trolox en parallèle)	Méthode standardisée et communément acceptée	Méthode relativement couteuse (équipement cher), longue et sensible au ph
Indice TRAP Total radical trapping antioxidant parameter) pouvoir antioxydant total	Mesure de l'oxygène consommé lors d'une peroxydation lipidique décomposition thermique de l'AAPH en présence d'un indicateur de fluorescence. Valeur TRAP exprimée par comparaison avec le trolox	Méthode simple, reproductible et sensible	Interférences entre antioxydants et indicateurs fluorescent, période de latence
Indice FRAP (Ferric Reducing antioxidant Power.	Test de la réduction du fer : mesure de la réduction d'un complexe ferrique en fe ²⁺ par l'antioxydant (mesure d'absorbance à 594 nm).	Test rapide, peu couteux répétable aux solutions biologiques et aux antioxydants.	Fiabilité moyenne selon le potentiel redox des composés des composés testés, ph bas parfois incompatible.
Indice de Folin-ciocalteu Dosage des phénols totaux	Mesure des polyphénols totaux (exprimée en équivalent acide gallique) et de la capacité réductrice d'un échantillon grâce au réactif de Folin-Ciocalteu. Absorbance à 720 nm proportionnelle au taux de composés phénoliques	Méthode simple et sensible, reproductible	Interférences possibles car réactif non spécifique, non applicable aux composés et matrice lipophiles

6.1. Antioxydants

Un antioxydant est une molécule naturelle ou synthétique qui est capable d'inhiber l'oxydation d'autres molécules en intervenant à différents stades du processus d'oxydation. C'est un procédé chimique bien connu qui permet l'élimination des électrons ou de l'hydrogène d'une substance.

Les radicaux libres sont produits pendant la réaction d'oxydation biologique. Parce que les radicaux sont réactifs, ils commencent la réaction en chaîne simultanément. Cela peut entraîner des dommages ou même la mort d'une cellule. Par conséquent, les agents antioxydants peuvent mettre fin à une réaction en chaîne en éliminant les intermédiaires des radicaux libres. **(Rao, 2015)**. Lorsqu'elles sont présentes en faible concentration par rapport à celles de substrats oxydables, retardent ou inhibent considérablement l'oxydation de cette substance. **(Gökçe et al., 2016)**

Les antioxydants végétaux sont importants pour la santé humaine et comprennent des composés comme l'acide ascorbique, les tocophérols, les composés polyphénoliques et les terpènes. **(Hartsel et al., 2016)**.

6.1.1. Antioxydants naturels

Les antioxydants naturels sont divisés en deux grands groupes : les antioxydants enzymatiques et les antioxydants non-enzymatiques (**figure 7**).

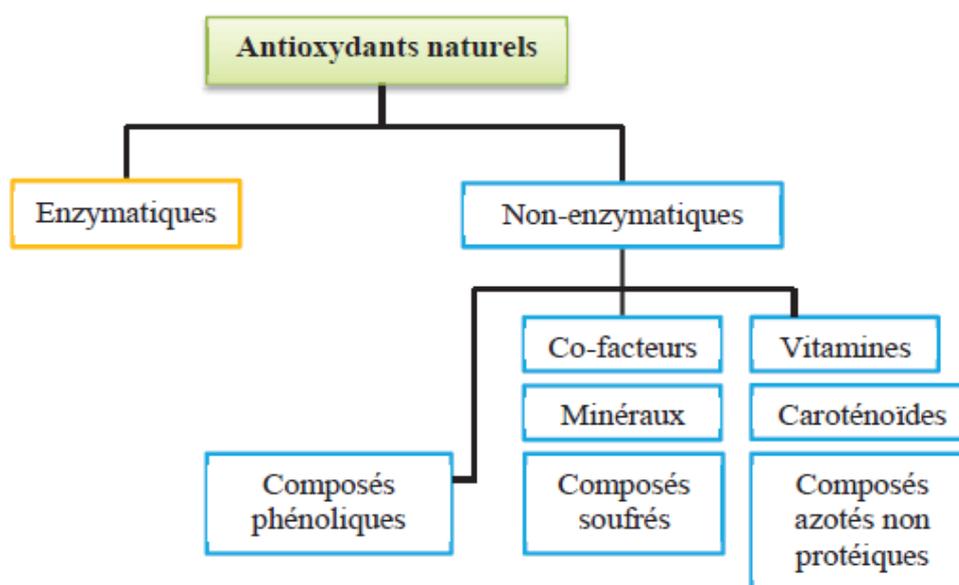


Figure 7 : Les familles d'antioxydants naturels

(Maurent, 2017)

6.1.2. Antioxydants enzymatiques endogènes

L'organisme humain possède un système enzymatique, constitué principalement de trois enzymes : le superoxyde dismutase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase (GPx) (Avisar *et al.*, 1989). Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau du superoxyde et du peroxyde d'hydrogène, conduisant finalement à la formation d'eau et d'oxygène moléculaire (Marfak, 2003).

La glutathion peroxydase réduit les peroxydes en sélénols, la catalase transforme le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 en eau et en oxygène moléculaire tandis que le superoxyde dismutase transforme l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène, substrat pour la catalase.

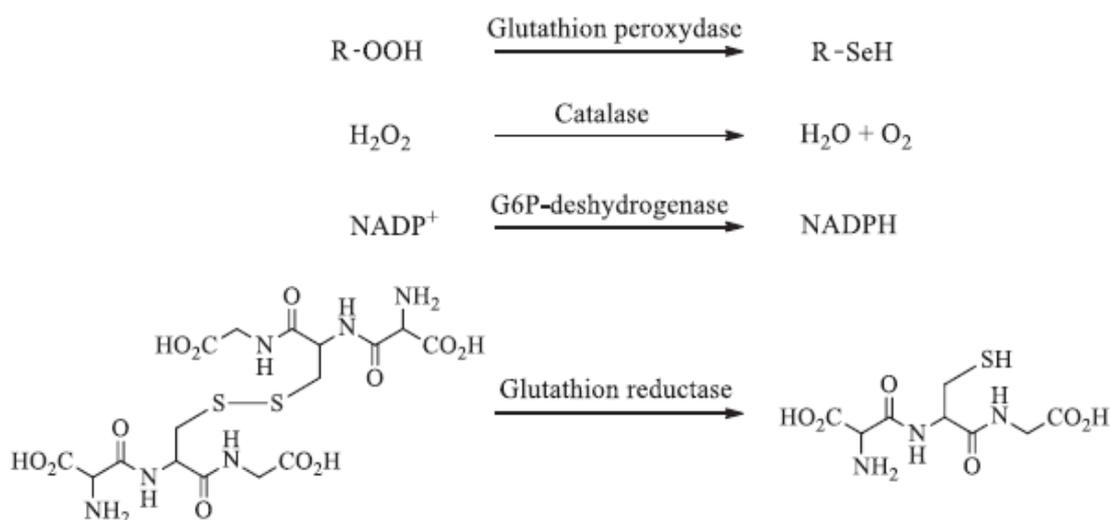


Figure 8 : Rôle antioxydant des enzymes

(Maurent, 2017)

6.1.3. Antioxydants non enzymatiques endogènes

Plusieurs protéines qui circulent dans le sérum peuvent prendre en charge des ions métalliques libres qui sont potentiellement toxiques, il s'agit de la transferrine et de la lactoferrine pour le fer et la céruléoplasmine pour le cuivre.

Elles agissent comme des chélateurs et maintiennent les ions métalliques sous forme inactive par rapport à la combinaison possible avec le peroxyde d'hydrogène (**Jacques et André., 2004**)

6.1.4. Antioxydants exogènes

De nombreuses molécules issues de notre alimentation : vitamines, nutriments, composés naturels, ...etc. sont considérés comme des antioxydants. Notons à titre d'exemples, les plus courants :

6.1.4.1 Vitamines

a. Vitamine E

La vitamine E (α -tocophérol, 1) est considérée comme l'antioxydant lipophile naturel le plus puissant, fournissant la première ligne de défense contre la peroxydation lipidique des membranes cellulaires en tant que récupérateur de radicaux en chaîne. (**Singh et Abraham., 2016**). En raison de ces propriétés, la vitamine E peut neutraliser l'effet des radicaux libres, et donc contrer ou retarder les anomalies physiologiques chroniques causées par eux. (**SalehAl-Sowayan, 2020**)

b. Acide ascorbique : Vitamine C

La vitamine C, une vitamine soluble dans l'eau, a deux formes bioactives, comme l'acide L'ascorbique et l'acide déshydroascorbique, et se trouve naturellement dans les aliments, principalement les fruits et légumes. (**Uğur et al., 2020**)

La vitamine C joue trois rôles principaux dans le métabolisme humain : cofacteur de l'enzyme, réducteur chimique et antioxydant. (**Hays et Roberts., 2003**)

L'acide ascorbique est un antioxydant important qui réduit d'autres composés (p. ex., les espèces réactives d'oxygène) et qui est converti à sa forme oxydée, l'acide déshydroascorbique (DHA). (**Litwack., 2018**)

6.1.4.2. Antioxydants d'origine végétale

- **Caroténoïdes et polyphénols**

Les caroténoïdes et les polyphénols constituent de vastes familles de composés (plusieurs centaines) parmi lesquels se trouvent le β -carotène, l'acide caféique et la quercétine.

Ils sont généralement de bons capteurs de radicaux hydroxyles OH^\bullet et peroxydes RO_2^\bullet , susceptibles d'inhiber les chaînes de peroxydation lipidique, mais d'une manière moins efficace que celle de l' α -tocophérol. En outre, les caroténoïdes ont un rôle spécifique de capteur d'oxygène singulet $^1\text{O}_2$, ce qui leur permet d'exercer une protection vis-à-vis des dommages induits par les rayons ultraviolets de la lumière solaire (**Gardès-Albert et al., 2003**).

La capacité des caroténoïdes à neutraliser l'oxygène simple est liée aux liaisons doubles conjuguées de sa chaîne latérale. (**Blanco, 2017**)

- **Terpénoïdes**

Les terpénoïdes sont une grande classe de composés naturels principalement d'origine végétale qui sont utilisés à des fins commerciales. Les terpénoïdes sont généralement composés d'isoprène (C5) unités, et peuvent être divisés en fonction de leur nombre en hémiterpénoïdes (C5), monoterpénoïdes (C10), sesquiterpénoïdes (C15), diterpénoïdes (C20), sesterpénoïdes (C25), triterpénoïdes (C30), tetraterpénoïdes (C40) et polyterpénoïdes (C > 40). En raison de leur grande variété et de leur structure complexe, les terpénoïdes sont d'une grande valeur dans les domaines des produits pharmaceutiques, des saveurs, des parfums et des alternatives de carburant liquide de haute qualité. Par exemple, le médicament antipaludique artémisinine, le paclitaxel, le lycopène antioxydant et l'huile de santal précieuse et naturelle. (**Ma et al., 2019**).

- **Alcaloïdes**

Les alcaloïdes sont des composés nécessaires à l'activité cellulaire et à la réalisation du code génétique dans le génotype. Ils sont biologiquement significatifs en tant que stimulateurs actifs, inhibiteurs et terminateurs de croissance, faisant partie d'un mécanisme endogène de sécurité et de régulation (**Linné, 2007**).

Les alcaloïdes représentent une grande variété de structures chimiques. Plus de 16 000 sont connus et la plupart sont dérivés de plantes plus élevées (**Verpoorte, 2020**).

Les alcaloïdes sont produits par une grande variété d'organismes tels que les plantes, les bactéries, les champignons et les animaux et sont utilisés en médecine depuis l'antiquité. Les alcaloïdes peuvent se trouver dans n'importe quelle partie de la plante, bien que des composés spécifiques puissent être limités à une certaine partie. (**Ribeiro, 2018**).

- **Coumarines**

Les coumarines qui sont aussi les dérivés de C6-C3, appartiennent au groupe des composés connus par des benzo- α -pyrone et toutes sont substituées en 7 par un hydroxyle. Elles se trouvent dans la nature soit à l'état libre ou bien combiné avec des sucres. Elles sont responsables de l'odeur caractéristique du foin (**Swallah et al., 2020**).

CHAPITRE 3

Les composés phénoliques

CHAPITRE 3 : Les composés phénoliques

1. Généralités Composés phénoliques totaux

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires de grande importance pharmacologique, vu leurs diverses activités biologiques confirmées dans un grand nombre d'études. (Amiour et al., 2014). Sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Ce qui signifie qu'ils n'exercent pas des fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance, ou la reproduction

Ils ont un cycle aromatique avec un ou plusieurs groupes hydroxyles et agissent comme antioxydants, (Saranraj et al., 2019) sont présents dans les céréales, les grains de café, les fruits, les olives, les légumes et les feuilles de thé. (Friedman, 2004)

2. Classification

D'après leurs structures chimiques, les composés phénoliques peuvent être divisés en différents sous-groupes, tels que les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les coumarines, les lignanes, les quinones, les stilbens et les curcuminoïdes (figure 9) (Gan et al., 2019)

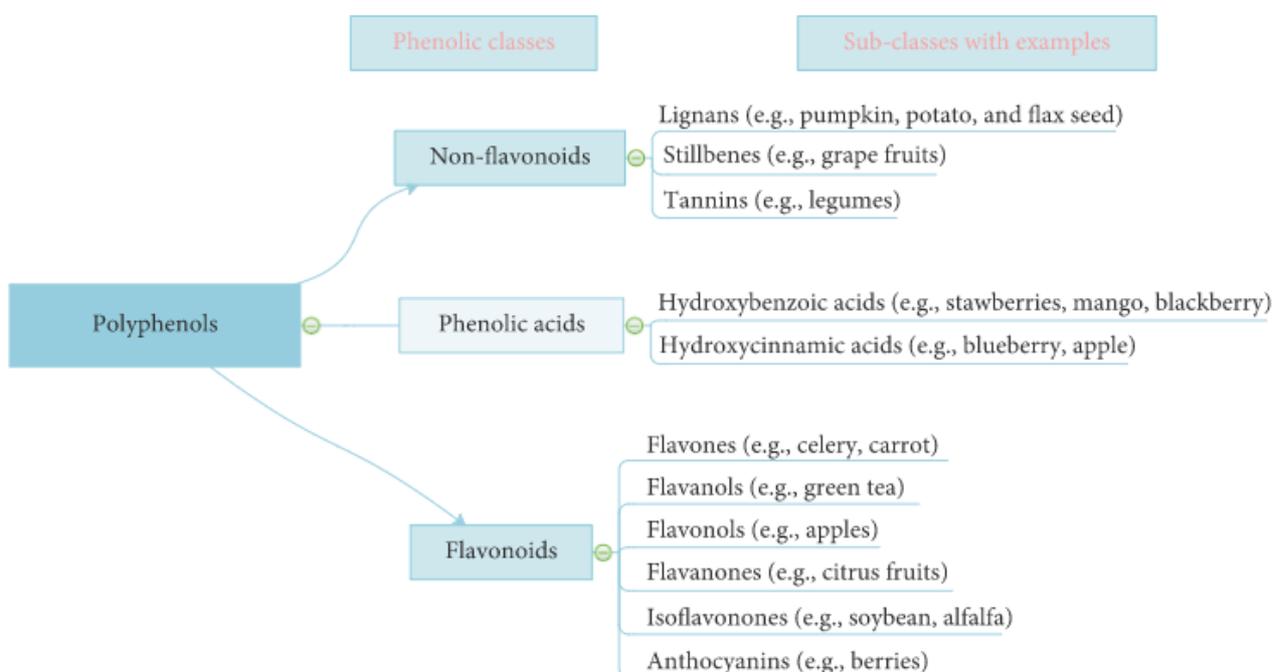


Figure 9 : Classification des polyphénols

(Swallah et al., 2020)

2.1. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés polyphénoliques omniprésents et forment le grand groupe de produits naturels. À ce jour, plus de 8000 flavonoïdes différents ont été documentés et sont principalement présents dans les cellules ou la surface de différents organes du tissu végétal. La structure chimique des flavonoïdes dépend de la structure de base C₆-C₃-C₆. Sur la base de la position de la fraction benzopyrone dans les cycles aromatiques, les flavonoïdes sont divisés en trois classes telles que les flavonoïdes (2-phénylbenzopyranes), les isoflavonoïdes (3-benzopyranes) et les néoflavonoïdes (4-benzopyranes) (voir fig.10). (Jan et Abbas., 2018)

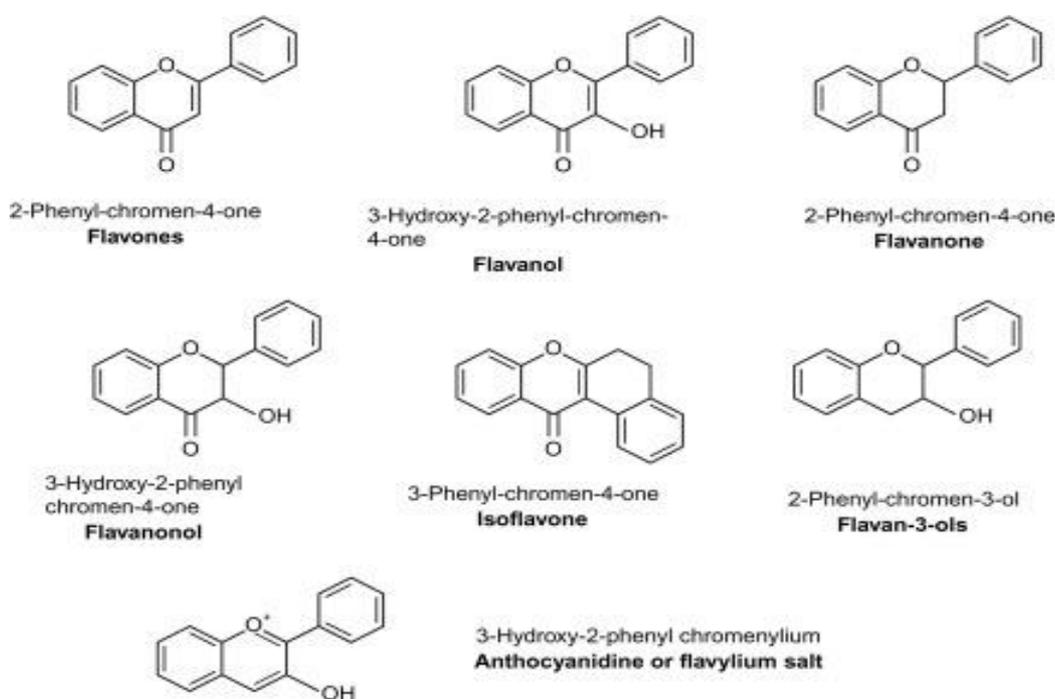


Figure 10 : Structure chimique de divers flavonoïdes

(Jan et Abbas., 2008)

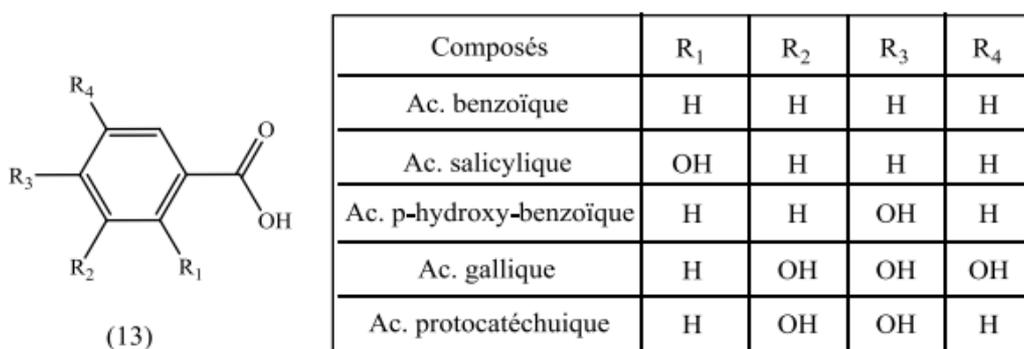
Les flavonoïdes sont contenus dans divers composants de l'alimentation. Ils ont une action antioxydant puissante in vitro. (Blanco et Blanco, 2017) sont présents dans les fruits, les légumes, les noix, les céréales et le thé (Horn et al., 2001)

2.2. Acides phénoliques

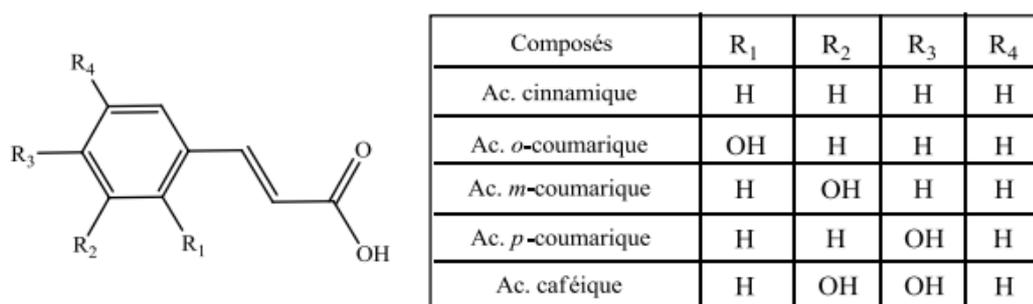
Les acides phénoliques sont des métabolites secondaires dans les plantes. Les animaux et les humains ne peuvent pas synthétiser ces composés et, par conséquent, ne peuvent être obtenus que par les aliments. Les fruits, les légumes, les haricots et les céréales sont de bonnes sources d'acides phénoliques, tout comme le thé et le café.

La plupart des acides phénoliques peuvent être classés comme des acides hydroxybenzoïques ou des acides hydroxycinnamiques, avec une structure moléculaire différente basée sur l'acide benzoïque et l'acide cinnamique. Il y en a cependant qui n'appartiennent à aucune des deux catégories, comme les acides ellagiques et chlorogéniques.

Comme la plupart des composés bioactifs, les acides phénoliques contiennent des activités antioxydantes, anticancéreuses, antibactériennes et antivirales et une consommation régulière est associée à une baisse de la tension artérielle et du cholestérol, et à une amélioration du contrôle de la glycémie. (Shao *et al.*, 2020).



Dérivés de l'acide benzoïque formule générale (13)



Dérivés de l'acide cinnamique formule générale (14)

Figure 11 : Structure chimique des acides phénoliques

(Shao *et al.*, 2020)

2.3. Tanins

Les tanins sont des dérivés polyphénoliques synthétisés naturellement par les plantes en tant que produit métabolique. (Krzyszowska et al., 2017) Dans la nature, il s'agit du quatrième polymère naturel en importance après la cellulose, l'hémicellulose et la lignine. Possèdent une structure hydroxyle de polyphénol unique et sont verts. (Liu et al., 2020) Ils sont généralement divisés en deux groupes : tanins hydrolysables et condensés et peuvent être trouvés dans tout le règne végétal. (Martins et al., 2020)

Le tanin est une ressource biologique macromoléculaire naturelle, se trouve principalement dans les fruits, les graines, les fleurs et les écorces. Les propriétés chimiques uniques du tanin ont conduit à son utilisation généralisée comme colorant alimentaire, antioxydant, agent de traitement des eaux usées, adsorbant métallique, matériau biologique et dans les applications de tannage du cuir. (Guo et al., 2020)

2.4. Lignines

La lignine présente de nombreuses complexités par rapport à d'autres constituants en raison de sa structure et des groupes fonctionnels, qui peuvent être alkylés et acétylés de préférence en plus de subir plusieurs autres réactions telles que l'halogénéation, la nitration, la réduction, l'oxydation, la sulfonation, l'hydrolyse, l'hydrogénation catalytique sous pression et la fusion avec des métaux ou des composés alcalins. (Nasrollahzadeh et al., 2020)

La lignine représente aussi les plus grandes macromolécules aromatiques naturelles renouvelables au monde, offrant un grand potentiel pour fournir des produits chimiques aromatiques, des matériaux et des biocarburants de grande valeur. (Zhao et al., 2020)

3. Rôle et intérêt des composés phénoliques

3.1. Chez les végétaux

Les composés phénoliques peuvent intervenir dans certains aspects de la physiologie de la plante (lignification, régulation de la croissance, interactions moléculaires avec certains microorganismes symbiotiques ou parasites...), dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique (relations avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance aux UV (Nsemi, 2010).

3.2. Chez les humains

Le rôle des composés phénoliques est largement montré dans la protection contre certaines maladies en raison de leur interaction possible avec de nombreuses enzymes et de leurs propriétés antioxydantes spécifiquement, on attribue aux polyphénols des propriétés variées : veinotonique, antitumorale, anti-radicalaire, anti-inflammatoire, analgésique, antiallergique, antispasmodique, antibactérienne, hépatoprotectrice, estrogénique et/ ou anti-estrogénique. Ils sont également connus pour moduler l'activité de plusieurs enzymes ou de récepteurs cellulaires. Les flavonoïdes favorisent la relaxation vasculaire et empêchent l'agglutinement des plaquettes sanguines. Par conséquent, ils réduisent la coagulation du sang et le rendent plus fluide. Ils limitent l'oxydation des lipides sanguins et contribuent à la lutte contre les plaques d'athérome. Ils sont aussi anxiolytiques et protèges nos artères contre l'athérosclérose et réduit la thrombose (caillots dans les artères) (Nsemi, 2010).

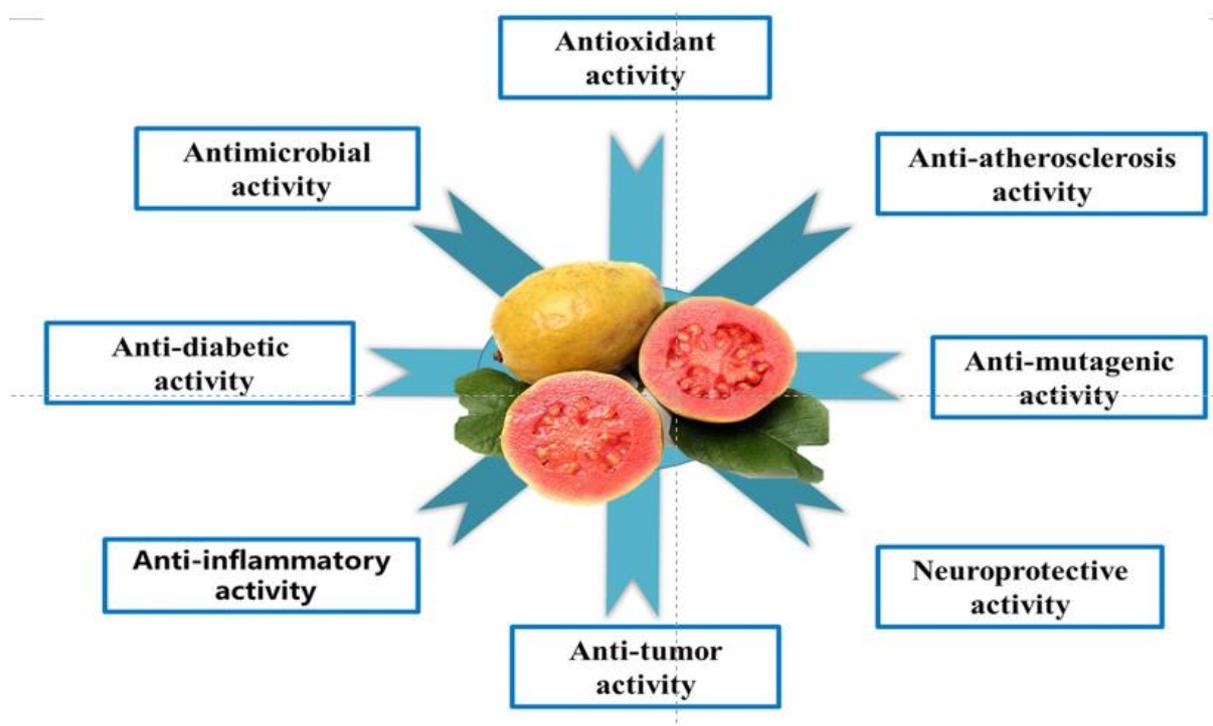


Figure 12 : Activités biologiques du fruit *Psidium guajava*

(Pereiraa et al., 2018 ; Vijaya Anand, 2020)

Partie expérimentale

CHAPITRE 1

Matériel et Méthodes

CHAPITRE 1 : Matériel et Méthodes

1. Objectifs

Dans le contexte de rechercher des antioxydants naturels, notre étude visée à étudier les constituants chimiques « les polyphénols » et évaluer *in vitro* l'activité antioxydante des extraits organiques et l'extraits aqueux préparer à partir du fruit « *Psidium guajava* ». Pour cela nous avons fixés les objectifs suivants :

1. Analyse des paramètres physico-chimiques du fruit *Psidium guajava* L.
2. Extraction des composés phénoliques par des solvants à polarité croissante (Ether de pétrole, Méthanol, Acétone, Eau distillée).
3. Analyse qualitative et quantitative du contenu en polyphénols par HPLC des différents extraits préparés.
4. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits préparés.

2. Période et lieu de l'étude

Notre étude c'était prévu d'être réalisée pendant une durée de trois mois, allant du 01/03/2020 au 30/06/2020 au niveau du :

- Laboratoire de phytopharmacie et protections des végétaux du département de biotechnologie de l'université de Blida 1 pour l'extraction des polyphénols.
- Du Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-chimiques (CRAPC) de Bou-Ismaïl pour faire la chromatographie en phase liquide à haute performance (CLHP) et l'activité antioxydante des extraits préparés, mais à cause de la situation sanitaire de l'épidémie du COVID-19 nous n'avons pu réaliser que 20 jours de pratique ou nous avons terminé la partie extraction et dosage des polyphénols.

3. Appareil et produits chimiques

❖ Appareils utilisés

- Balance analytique
- Bain marie

- Broyeur électrique
- Centrifugeuse
- Etuve
- Rota vapeur
- Plaque agitatrice
- Spectrophotomètre

❖ **Produits chimiques utilisés :**

Solvants	Réactifs	Standards
Acétone	Hgcl ₂	Acide gallique
Acide sulfurique (H ₂ SO ₄)	Folin Ciocalteu	B- carotène
Ethanol 96%	Chlorure d'aluminium (AlCl ₃)	BHT
Méthanol	Fecl ₃	Mg
Ether de pétrole 96%	Na ₂ CO ₃	Quercétine
Acide linoléique	DPPH	Acide ascorbique
	NaH ₄ OH (ammoniaque)	KI
	Tripyridyltriazine (Fe-TPTZ)	
	C ₄ H ₆ O ₃ (andhydride acétique)	

4. Matériel et méthodes

4.1 Matériel végétal

✓ Echantillonnage

Des fruits de la goyave mûrs ont été récoltés dans la commune de Fouka, province de Tipaza au mois de novembre 2019 et la confirmation de l'espèce est réalisée au niveau du laboratoire de phytopharmacie de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université de Blida 1. Le positionnement géographique de site de récolte est montré dans **(Figure 13)**.

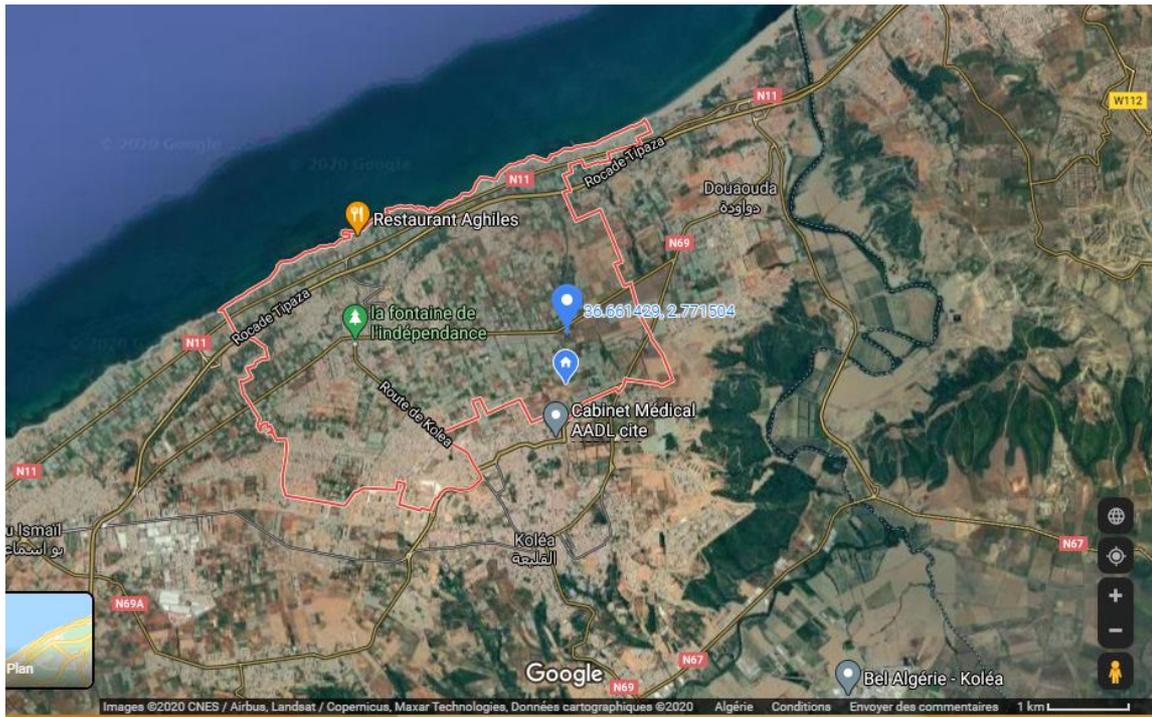


Figure 13 : Localisation du site d'échantillonnage

(Originale, 2020).

Après lavage à l'eau du robinet puis à l'eau distillée pour éliminer toute poussière les fruits ont été stockés au congélateur (-80°C) dans un emballage alimentaire (**figure14**).



Figure 14 : Echantillon de la goyave après congélation

(Originale, 2020)

5. Extraction

Il s'agit d'extraire et de libérer les molécules phytochimiques présentes dans des structures vacuolaires par rupture de tissu végétal et par diffusion. En utilisant des solvants organiques qui accélèrent et augmentent le rendement d'extraction.

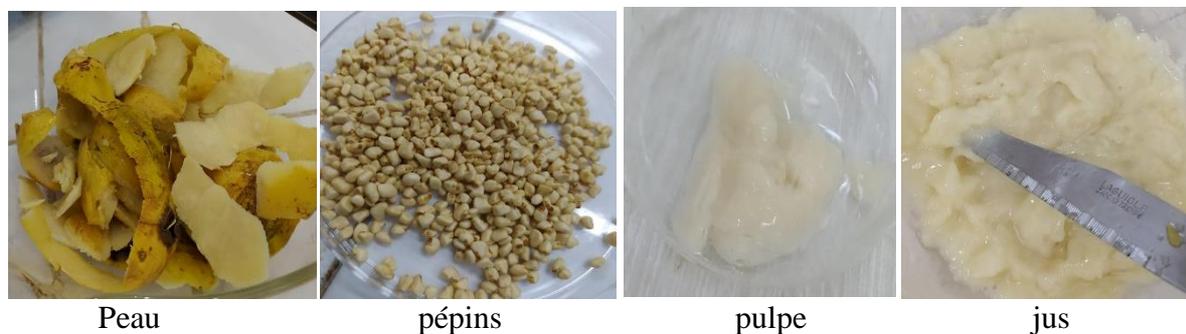


Figure 15 : Les composants de la goyave utilisés dans le cadre de notre étude

(Originale, 2020)

Les extraits phénoliques de la goyave ont été obtenus à partir de quatre parties :

- La peau : a été épluchée manuellement
- Des pépins : séchées et broyées après une séparation manuelle
- La pulpe : recueillies sous forme de jus
- Jus

5.1. Extraction des polyphénols par macération à l'eau (Debib et al., 2014)

Est une opération qui consiste à laisser du chaque 25g de matériel végétal "peau, pépins : broyée et 25ml de jus, pulpe" agitée pendant 24h avec 250 ml d'eau distillées par l'agitateur à hélice. Puis filtrée sur un papier filtre Wathman (n° :1), et évaporé à l'aide d'un rotavapeur, les résidus obtenus sont conservés à 4°C.

5.2. Extraction des polyphénols par les solvants organiques

✓ Extractions des polyphénols par l'éther de pétrole (Debib et al., 2014)

Chaque 25g de matériel végétal la peau et pépins "broyée de manière à ce que la surface en contact avec le solvant soit la plus grande possible " et de 25ml de jus et de la pulpe agitée avec 500ml d'éther de pétrole 96% pendant 24h par l'agitateur à hélice à température ambiante.

Le mélange est filtré et concentré au rotavapeur à la température de 30°C, afin d'obtenir l'extrait d'éther de pétrole

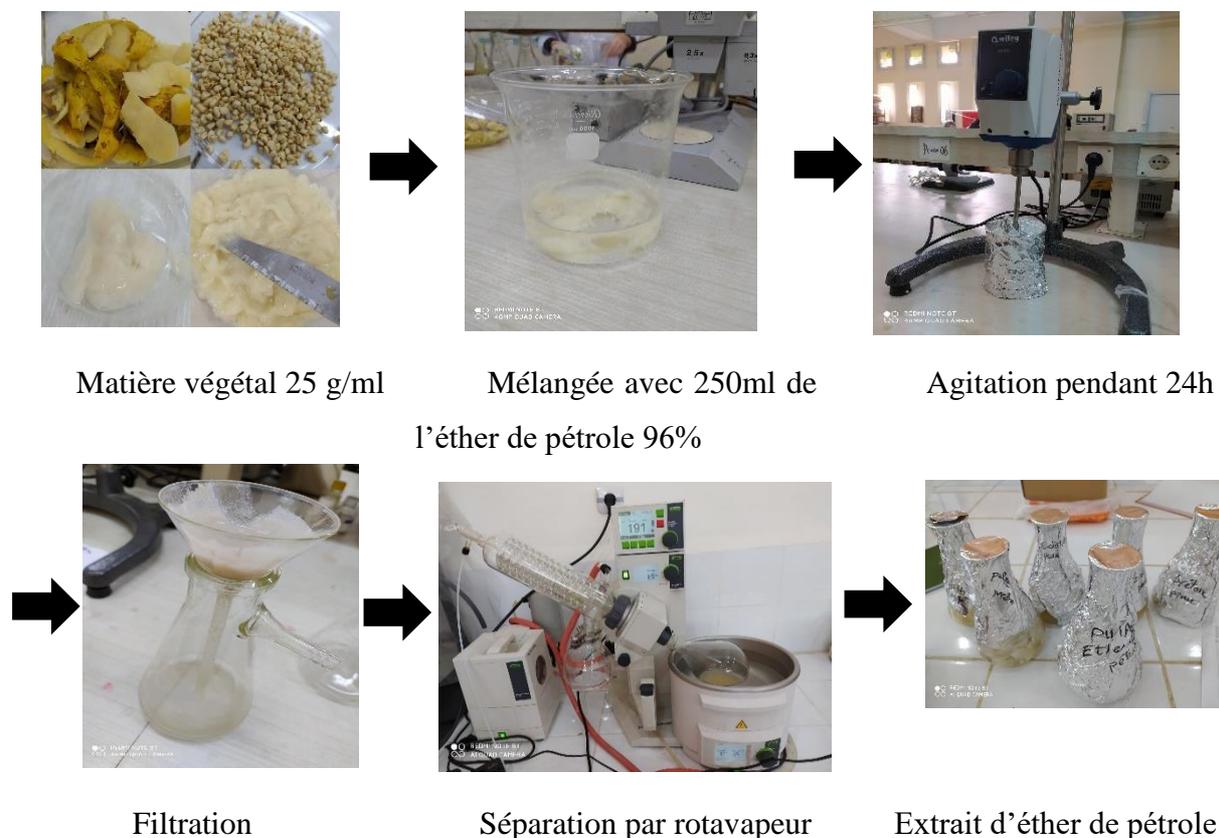


Figure 16 : les étapes d'extraction des polyphénols par l'éther de pétrole

(Originale, 2020)

✓ **Extraction des polyphénols par le méthanol et l'acétone : (Robert et al., 2007, Boizot et Charpentier., 2006)**

25g/ml de chaque partie du matériel végétal "peau, pépins, pulpe, jus" était mis en contact avec 250 ml du méthanol et acétone à 80% (mélanger chaque 200 ml du méthanol et acétone avec 50 ml d'eau distillée), qui subit une agitation pendant 24h à l'aide d'un agitateur à hélice. Puis sont filtrés et évaporés à l'aide d'un rotavapeur afin d'obtenir l'extrait méthanolique et l'extrait d'acétone des quatre parties.

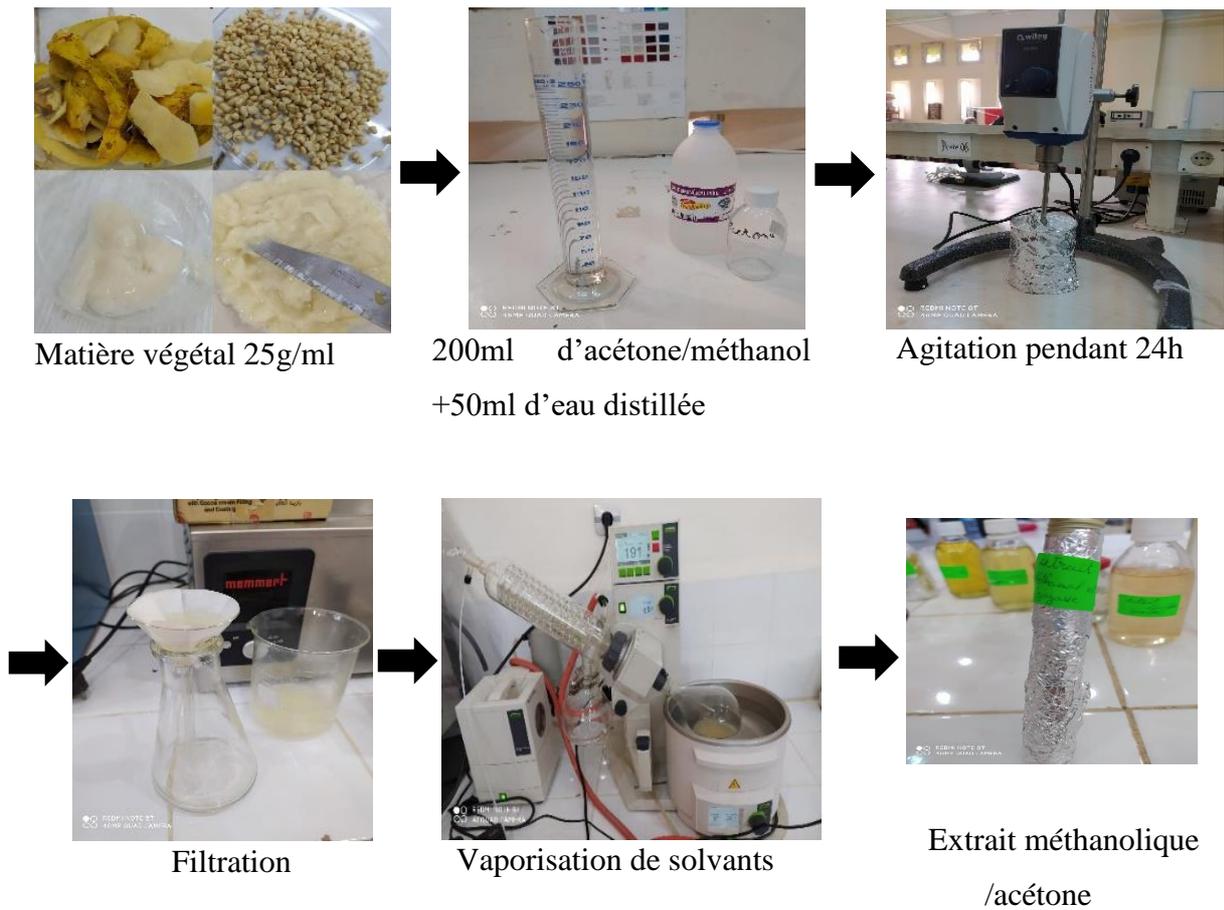


Figure 17 : les étapes d'extraction des polyphénols par méthanol et l'acétone

(Originale, 2020)

Les rendements d'extraction ont été calculés selon la formule suivante :

$$R = \frac{\text{Masse d'extrait obtenu}}{\text{Masse des goyaves analysées}} \times 100$$

6. Analyses physico-chimiques

Les analyses physico-chimiques ont été réalisées, à l'exception du taux d'humidité, sur le jus de fruit frais. Ce dernier a été obtenu par filtration après avoir broyé et pressé la pulpe de la goyave.

6.1. Mesure du pH

La valeur du pH d'une solution est directement liée à sa concentration en ions oxonium (H_3O^+) contenus dans une solution. Pour ce faire, le pH mètre a été étalonné au préalable avec des solutions tampons (pH 4 et pH 7), puis l'électrode du pH-mètre a été introduite dans un bécher contenant le jus de goyave.

La valeur du pH est obtenue par simple lecture sur l'écran du pH-mètre (Josiah, 2018)

6.2. Acidité

C'est une méthode de Josiah, (2018) qui consiste à neutraliser l'acidité par la solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) en présence de phénolphtaléine comme indicateur coloré. A ce fait, un volume de 1 ml de jus de goyave a été dilué dans 9 ml d'eau distillée, auquel 2 à 3 gouttes de phénolphtaléine ont été additionnées. Le mélange a été maintenu sous agitation, puis titré avec NaOH (0,01N) jusqu'au virage de la couleur vers le rose qui doit persister pendant une dizaine de secondes. Le volume de NaOH ainsi obtenu est noté en ml. L'acidité est exprimée en gramme d'acide ascorbique par litre de jus de la matière fraîche suivant la formule :

$$\text{Acidité} = N_b * V_b * (MM/V_a)$$

Avec : - **N_b** : Normalité de la solution d'hydroxyde de sodium (0,01N)

- **V_b** : Volume de la solution d'hydroxyde de sodium (mL)

- **MM** : Masse molaire de l'acide ascorbique (176,12 g/mol)

- **V_a** : Volume du jus (mL)

6.3. Teneur en sucre (Brix)

Le Brix est une échelle de mesure du pourcentage de matière solide soluble. Cette échelle sert à mesurer le pourcentage de sucre dans le fruit via un réfractomètre (aus JENA, Allemagne) ainsi que l'indice de réfraction de la lumière d'une matrice. Cet indice s'observe par la déviation d'un faisceau lumineux suivant la nature du milieu dans lequel il se propage.

Un volume de jus est déposé entre les deux surfaces du prisme du réfractomètre. Le taux de sucre, exprimé en pourcentage et l'indice de réfraction sont lus sur l'échelle de graduation.

7. Etude phytochimique (Evans, 1996 ; Harbone, 1998)

Le screening phytochimique est un test qualitatif qui permet de mettre en évidence les différents groupes chimiques contenus dans un organe végétal, les résultats sont classés en :

- Réaction franchement positive : + + + +
- Réaction positive : + + +
- Réaction très faible ou douteuse : +/-
- Réaction négative : 0

7.1. Flavonoïdes

À 5 ml de chaque extrait, on ajoute quelques gouttes d'acide chlorhydrique concentré (HCL) et 0.5g de magnésium (Mg). On laisse agir 3 minutes. Une coloration orange ou rouge implique la présence des flavonoïdes.

7.2. Tanins

Un volume de 2 ml de chaque extrait, est mélangé avec 200 µl de la solution de FeCl₃ à 1%. En présence de tanins, il se développe une coloration verdâtre ou bleu - noir. La couleur vire au brun noir en présence de tanins galliques (tanins hydrolysables) et au bleu verdâtre en présence de tanins catéchiques (tanins condensés).

7.3. Alcaloïdes

A 1 ml de chaque extrait, on ajoute 5 ml d'HCL 1%, le mélange est chauffé au bain marie, puis on divise chaque extrait en deux volumes égaux. Un volume est traité par le réactif de Mayer, l'autre par le réactif de Wagner. La formation d'un précipité blanc ou brun révèle la présence des alcaloïdes. Les réactifs de Mayer et de Wagner sont préparés comme suite :

Réactif de Mayer : Dissoudre 1.358 g d'HgCl₂ dans 60ml d'eau distillée puis 5g de KI dans 10ml d'eau distillée. Mélanger les deux solutions et ajuster le volume total à 100 ml.

Réactif de Wagner : Dans 75 ml d'eau distillée, dissoudre 2g de KI et 1,27g de I₂. Le volume obtenu est ajusté à 100ml avec l'eau distillée.

7.4. Saponines

Réaction de Libermann-Burchard : À 5 ml de nos extraits, on ajoute 5 ml d'anhydride acétique ($C_4H_6O_3$) et quelques gouttes d' H_2SO_4 concentrée. Les stéroïdes donnent avec cette réaction une coloration rouge, alors que, les triterpènes donnent une coloration verte.

8. Dosage des polyphénols par colorimétrie

Les polyphénols sont estimés par la méthode de Folin-Ciocalteu décrite dès **1965** par **Singleton et Rossi** et modifiée par plusieurs auteurs (**Boizot et Charpentier., 2006**)

✓ Principe

Le réactif utilisé est le Folin-Ciocalteu, un mélange constitué d'acide phosphatungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolibdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) de couleur jaune. (**Singleton et Rossi., 1965**)

Cette méthode colorimétrique est basée sur la réduction en milieu alcalin de mélange du réactif Folin-Ciocalteu par le groupement oxydable des composés phénoliques. Elle entraîne la formation d'un complexe molybdène-tungstène de couleur bleu qui absorbe aux environs de 750-765 nm. (**Enneb et al., 2015**)

✓ Technique

Le protocole de dosage des polyphénols totaux utilise dans notre travail est celui décrit par **Debib et al. (2014)** avec quelques modifications.

Les extraits préparés ont été dilués 10 fois pour avoir une absorbance comprise entre 0.8 et 1. Ensuite 1000 μ l de réactif de Folin-ciocalteu (dilué 10 fois dans de l'eau ultra pure) sont ajoutés à 200 μ l d'extrait. On ajoute ensuite 800 μ l de Na_2CO_3 (75g.l-1). Le blanc de la réaction ne contenant pas de polyphénols est réalisé comme le point 0 μ g.ml⁻¹ de la gamme d'étalon. Les mélanges réactionnels, sont agités et incubés 5 min à 40°C.

La lecture de l'absorbance à 765 nm se fait grâce à un spectrophotomètre à UV (ultraviolet) visible, notons qu'une droite d'étalonnage est préalablement réalisée avant l'analyse avec de l'acide gallique (0, 12.5, 25, 50, 100 et 200 μ g/ml) dans les mêmes conditions. Toutes les expériences ont été répétées trois fois et les résultats ont été déterminés par l'équation de régression de la courbe d'étalonnage, et sont exprimés sous forme de moyennes en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g d'extrait).

✓ Calcul de concentration des polyphénols des extraits

La concentration des extraits est calculée par la formule suivante :

$$[\text{polyphenols}] = \frac{a \cdot f}{b}$$

A : concentration des polyphénols en $\mu\text{g/ml}$ déterminée à partir de courbe étalon.

F : facteur de dilution ($\times 10$)

B : concentration initiale des extraits.

9. Identification des composés phénoliques par CLHP

➤ Principe de la HPLC

Les composés à séparer (solutés) sont mis en solution d'abord, puis elle sera introduite dans la phase mobile liquide (éluant). Grâce à la répartition sélective des solutés entre la phase mobile et la phase stationnaire, chaque soluté est donc soumis à une force de rétention exercée par la phase stationnaire, et une force de mobilité due à la phase mobile. Suivant la nature des molécules, elles interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire dans un tube appelé colonne chromatographique.

La phase mobile, poussée par une pompe sous forte pression, parcourt le système chromatographique. Le mélange à analyser est injecté puis transporté à travers le système chromatographique.

Les composés en solution se répartissent alors suivant leur affinité entre la phase mobile et la phase stationnaire. En sortie de colonne, grâce à un détecteur approprié, les différents solutés sont représentés par des pics. L'ensemble des pics enregistrés est appelé chromatogramme (**Jean-Louis, 2001**).

Le mécanisme de la séparation chromatographique s'explique par les différences de répartition des molécules des composés d'un mélange entre deux phases non-miscibles : l'une mobile et l'autre stationnaire. Ce principe est traduit par le schéma suivant :

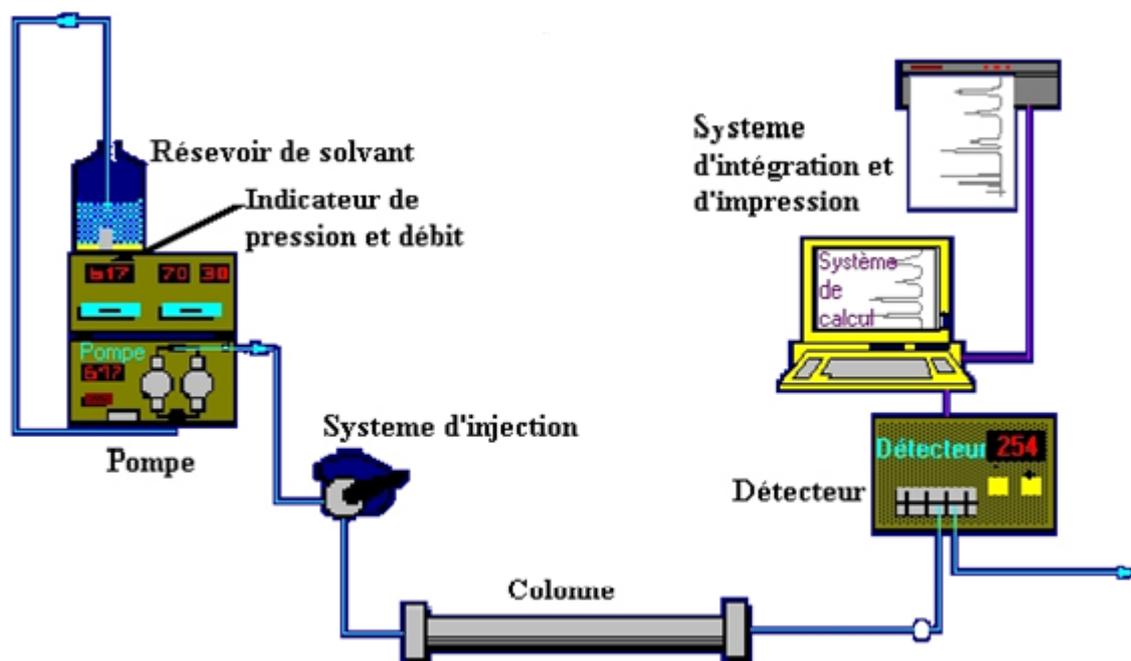


Figure 18 : Principe de fonctionnement d'une chaîne HPLC

(Jean-Louis, 2001)

10. Estimation du pouvoir antioxydant par la méthode au DPPH

✓ Principe

La molécule de 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH[•]) est un radical libre stable, dont la solution possède une coloration violette et une absorption caractéristique à 517 nm. Quand une solution de DPPH[•] est mélangée avec une substance donneuse d'atomes d'hydrogène, antioxydante, il y'a formation de la forme réduite. Ceci provoque la perte de la coloration violette en coloration jaune caractérisée par une bande d'absorption dans le visible à 517 nm (Brand-Williams, 1995).

CHAPITRE 2

Résultats et discussion

CHAPITRE 2 : Résultats et Discussion

A cause de la pandémie du COVID-19, notre étude n'a pas été achevée, nous avons donc mené directement la discussion des travaux antérieurs par rapport à notre sujet.

1. Paramètres physico-chimiques du jus de la goyave

Plusieurs études ont été focalisées sur l'étude des paramètres physico-chimiques du fruit de la goyave. Les principaux résultats sont résumés dans le tableau 4.

Tableau 4 : Paramètres physico-chimiques du jus de goyave

Paramètre	Tanwa et al. 2000	Jain et al. 2007	Soares et al. 2007	Araújo et al., 2015		Abbas et al., 2019	Pham et al., 2019
				Immature	Mature		
Brix (%)	10.2	13.3-12.7	8.4	ND.	ND	12-15.8	ND
PH	4.7	3.57-3.98	4.54	4.04	4.41	ND	3.38
Acidité (g/L)	0.72	0.46-0.38	0.44	13.7 %	7.32 %	ND	56.42 g acide citrique /100ml

ND : Non déterminée

D'après ces résultats les taux de Brix (%) (le taux de la matière sèche soluble dans le jus de fruit) varient entre 8.4 (Soares et al. 2007) et 15.8 (Abbas et al., 2019). Jain et al. (2007), ont étudié les paramètres physico-chimiques du jus de goyave pour deux variétés de goyaves *Allahabad Safeda* et *Red Flashed*, les valeurs des brix étaient respectivement de 13.3 et 12.7%. Les valeurs de PH de ces deux variétés étaient plus au moins acide 3.57 et 3.98.

Les valeurs de PH trouvées par Tanwa et al. (2000) sur des variétés Indiennes étaient plus élevées (4.7), le taux de sucre était 10.2%, et l'acidité de 0.72. D'autre part, une valeur de PH 4.54 avec une teneur en sucre plus faibles 8.4% et d'une acidité aussi faible égale à 0.44% ont été révélés dans une étude menée sur la goyave *Cortibel* récoltée au Brésil. (Soares et al., 2007). Les

différences observées pourraient être expliquée par le type de variété, l'origine et le stade de maturité.

2. Paramètres physico-chimiques de la goyave

2.1. PH

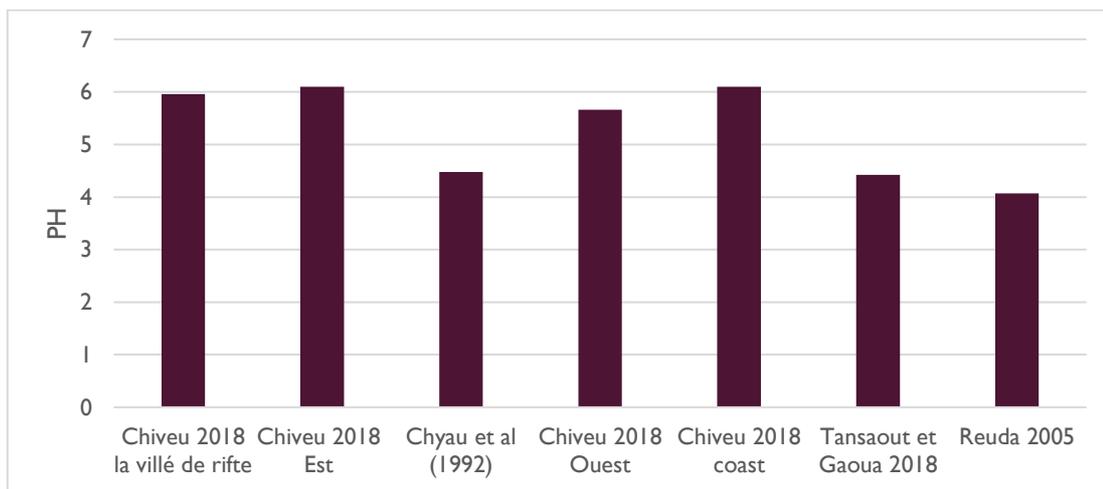


Figure 20 : PH de la goyave (*Psidium guajava*)

Selon l'étude menée par **Chiveu (2018)** (**figure 20**), sur « l'évaluation de la diversité génétique et nutritionnelle et de la tolérance à la salinité de la goyave Kenya » le PH varié d'une région à l'autre, le plus élevé était révélé dans les fruits des régions de l'EST et de Coast avec des valeurs proches de 6.10 suivie par celle de la ville de rifte de 5.96, et enfin celle de la région de l'ouest de 5.66. Selon les résultats de la même étude des différences de constituants volatils et non volatils entre les fruits mûrs et non mûrs de la goyave (*Psidium guajava* Linn.) ont été constaté. Les valeurs de PH enregistré étaient proches aux valeurs trouvées par **Reuda (2005)** et celles de **Tansaout et Gaoua, (2018)** et de **Chyau et al, (1992)**.

2.2. Degré Brix

En se basant sur l'analyse des résultats des études précédentes, on constate des divergences dans les valeurs de Brix (figure 21). D'après l'étude de **Chyau et al. (1992)**, ils ont observé un taux en sucre élevé de 20%, cette valeur est plus élevée à celles trouvée par **Chiveu (2018)**, qui ont enregistré des teneurs en sucre de 13.2 et 11.1% dans les fruits des régions Coast et Ouest respectivement. Des valeurs plus faibles ont été révélées dans les fruits de l'Est et la ville de rifte

de 9.53 et 9.13% respectivement. **Tansaout et Gaoua (2018)**, ont trouvé une valeur presque similaire à celle trouvée dans les fruits de la région de Coast 13%. En revanche **Reuda, 2005** ont rapporté une valeur plus faible 7.81.

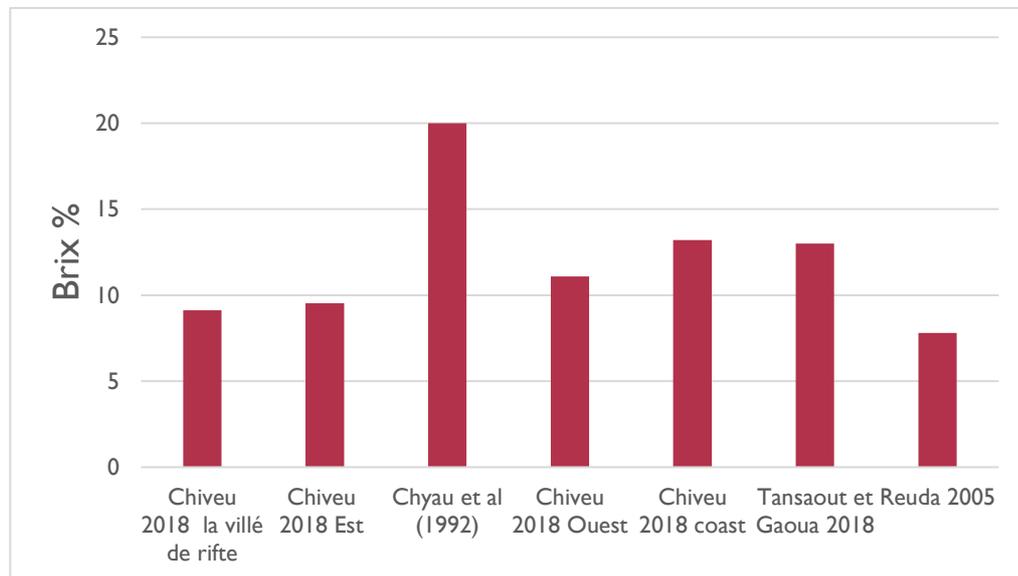


Figure 21 : Degré Brix de goyave (*psidium guajava*)

2.3. Acidité

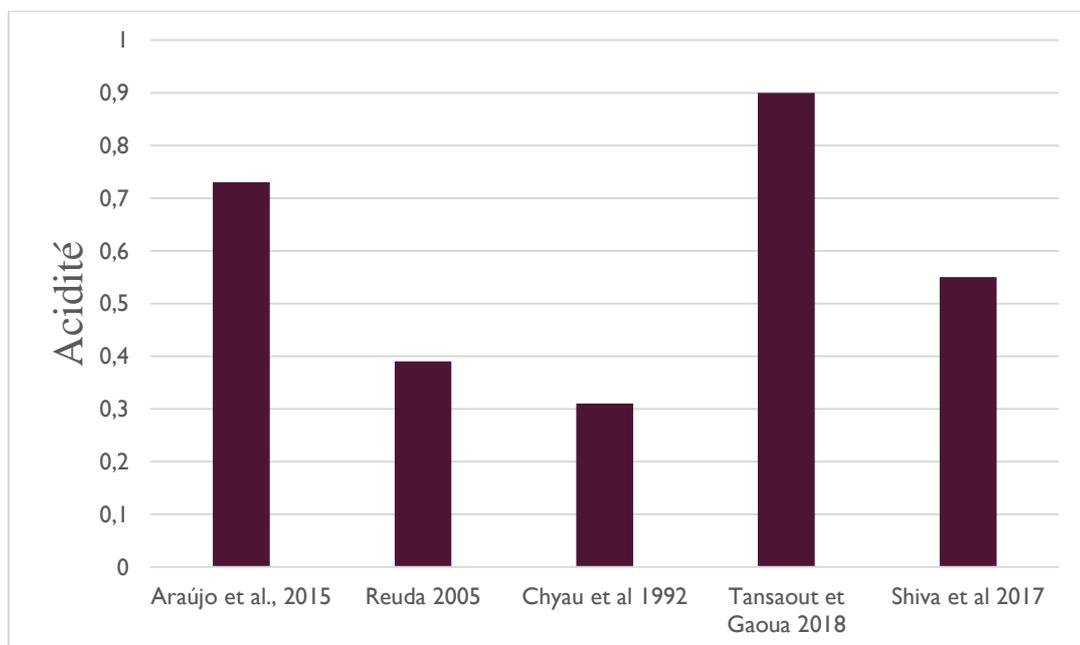


Figure 22 : L'acidité de goyave (*psidium guajava*)

D'après les résultats rapportés par cinq études figure (22), l'acidité du fruit de la goyave varie de 0.31 (Chyau et al. (1992)) à 0.9 (Tansouat et Gaoua, 2018), Cette acidité peut s'expliquer par l'effet du stockage, l'état physiologique du fruit lors de la récolte et la région de collecte.

Lee et al., (2010) ont suggéré que l'acidité de fruit est liée aux taux de l'acide ascorbique, de l'acide malique et l'acide citrique. Selon les mêmes auteurs l'acide citrique est le composant majeur de tous les acides organiques et la réduction de leur concentration pendant la maturation, associée à une concentration accrue de sucres (galactose et fructose), est liée à l'augmentation de l'acidité des fruits.

3. Screening phytochimique

Les résultats du screening phytochimique préliminaire de quatre études précédentes sur les différentes parties du fruit de la goyave sont indiqués dans le tableau 5.

Tableau 5 : Résultats des tests phytochimiques sur le jus, pulpe, peau et pépins de la goyave (*Psidium guajava*)

Les composants phénoliques	Flavonoïde	Tanins	Cardénolides	D'autre Composés phénoliques	Références bibliographiques
Jus	+	+	+	+	(Agric ,2014)
Pulpe	-	+	+	+	(Oloyede, 2005)
Peau	-	+	-	+	(Nascimento et al, 2010)
Pépin	-	+	-	+	(Pelegriini et al, 2008)

Présence : (+) absence : (-)

Les analyses phytochimiques qualitatives réalisées ont révélé la présence de flavonoïdes, des tanins et des caroténoïdes dans le Jus de fruit.

D'après (Oloyede, 2005), la pulpe de *P. guajava* est riche en variétés de métabolites secondaires. Elle renferme des tanins, des cardénolides et d'autres composés phénoliques, tous ces métabolites secondaires sont responsables de nombreuses activités biologiques et la richesse de cette partie de fruits en ces substances montre ses intérêts pharmacologiques, en particulier son activité antioxydante.

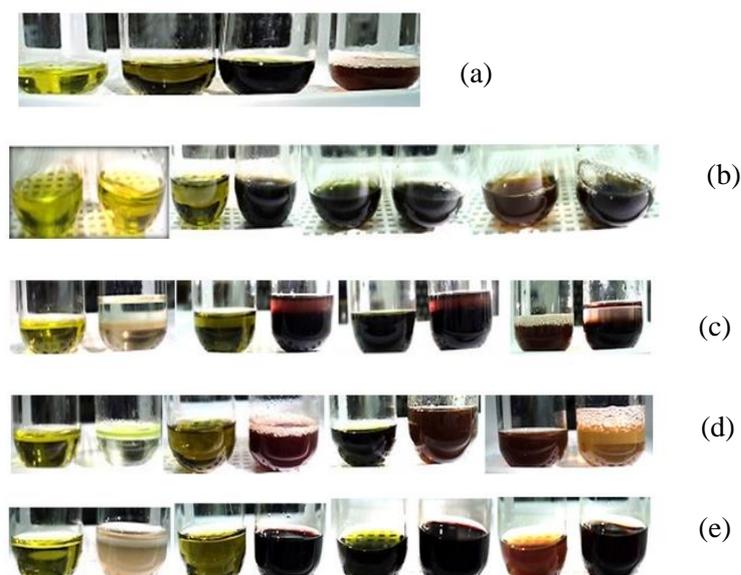


Figure 23 : (a) Existence of saponines tests ; L to R: l'extrait de l'acétone, méthanol, éther de pétrole, et l'eau distillée. (b) Existence of phénols and tannins tests; L R: l'extrait de l'acétone, méthanol, éther de pétrole, et l'eau distillée. (c) Existence of terpenoids tests; L to R: l'extrait de l'acétone, méthanol, éther de pétrole, et l'eau distillée. (d) Existence of flavonoïdes tests; L to R: l'extrait de l'acétone, méthanol, éther de pétrole, et l'eau distillée. (e) Existence of glycosides tests ; L to l'extrait de l'acétone, méthanol, éther de pétrole, et l'eau distillée. (Biswas et al.,2013)

Nascimento et al., (2010) ont affirmés que les flavonoïdes sont les principaux composants responsables de l'activité antioxydante de fruit de la goyave, la peau contient la plus faible quantité de flavonoïdes et cardénolides, en revanche, elle est riche en tanins et d'autre composés phénoliques.

Selon Pelegrini et al. (2008), Comparé à d'autres grains oléagineux, les pépins de la goyave ont une faible teneur en flavonoïdes, mais ils sont riches en tanins.

Arockia et al., 2017 ont étudié la composition des extraits de la peau de fruit *P. guajava* en utilisant quatre solvants différents ; le méthanol, l'héxane, l'eau distillée et l'acétate d'éthyle les résultats sont résumés dans le tableau 6. Les analyses phytochimiques qualitatives réalisées sur l'extrait méthanolique ont révélé la présence de flavonoïdes, des saponines, des phénols, des alcaloïdes, des tanins, des glucides et des stéroïdes. Dans l'extrait d'héxane de *P. guajava*, les résultats étaient positifs pour trois composés (flavonoïdes, phénol, anthraquinones et stéroïdes). L'extrait aqueux a montré les résultats positifs pour les trois composés les alcaloïdes, les terpénoïdes et les glycosides. Enfin dans l'extrait d'acétate d'éthyle deux composés ont été présents seulement (les alcaloïdes et les glycosides). Les auteurs ont signalé une absence totale de tous les autres composants tels que les saponines, les alcaloïdes, les terpénoïdes, les tanins, les glucides, les glycosides et les protéines.

Tableau 6 : Analyses phytochimique de différents extraits de la peau de fruits de *P. guajava*

Composés phytochimiques	Méthanol	Hexane	Eau distillée	Acétate D'éthyle
Flavonoïdes	+	+	-	-
Saponines	+	-	-	-
Phénol	+	+	-	-
Tanins	+	-	-	-
Alcaloïdes	+	-	+	+
Terpénoïdes	-	-	+	-
Les glucides	+	-	-	-
Anthraquinones	-	+	-	-
Glycosides	-	-	+	+
Stéroïdes	+	+	-	-
Protéine	-	-	-	-

Présence : (+) absence : (-)

(Arockia et al., 2017)

4. Dosage spectrophotométrique des polyphénols totaux

Selon la littérature scientifique (Khan *et al.*, 2015 ; Arockia *et al.*, 2017) la quantité en composés phénoliques totaux variée d'une partie de fruit à une autre (figure 24).

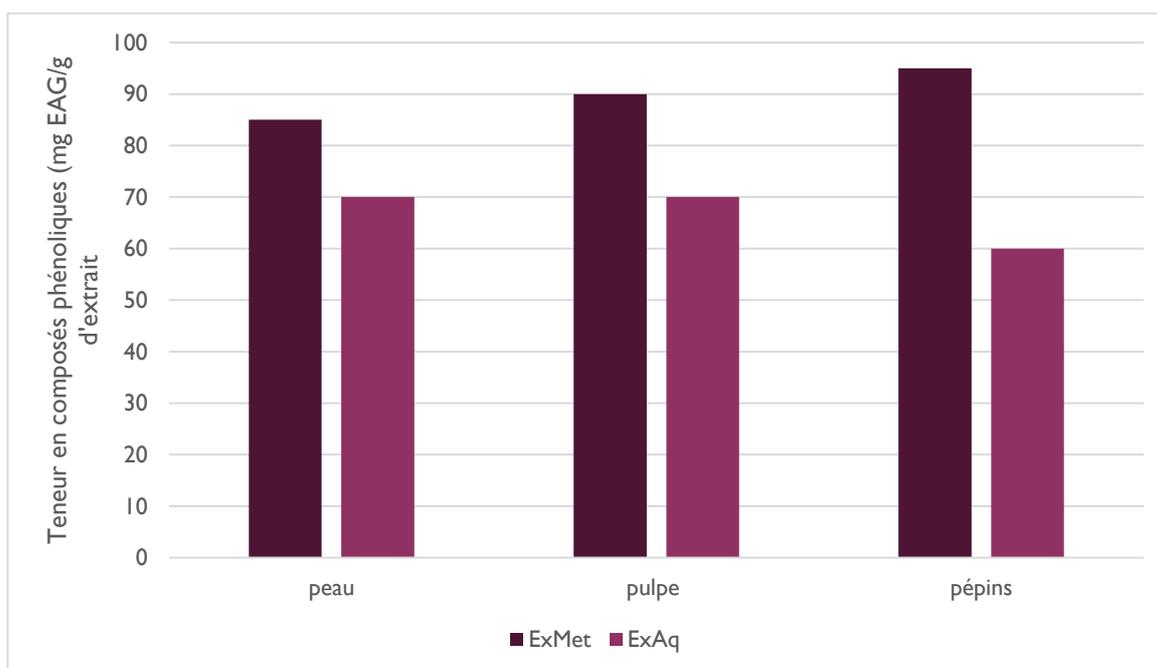


Figure 24 : Teneurs en composés phénoliques des trois parties (peau, pulpe, pépins) du fruit *P. guajava* (Khan *et al.*, 2015)

4.1. Peau

D'après Khan *et al.* (2015), les résultats du dosage des polyphénols par la méthode de Folin-Ciocalteu (Figure 14) montrent que l'extrait méthanolique constitue la fraction phénolique la mieux représentée pour les trois parties. En ce qui concerne la peau 85 μ g/mg ont été trouvés dans l'extrait méthanolique comparativement avec l'extrait aqueux qui a enregistré une valeur de 70 μ g/mg.

4.2. Pulpe

Selon la même étude Khan *et al.* (2015) la pulpe aussi était riche en composés phénoliques. Les auteurs ont enregistré une teneur plus élevée dans l'extrait méthanolique (90 μ g/mg) par rapport à l'extrait aqueux 70 μ g/mg.

4.3. Pépins

Les pépins sont la partie la plus riche en composés phénoliques 95 μ g/mg a été révélée dans l'extrait méthanolique contre 60 μ g/mg dans l'extrait aqueux (Khan *et al.*, 2015). Ces résultats sont plus élevés à ceux trouvés par You *et al.* (2011) qui ont enregistré une valeur de 9.80 mgEAG/g dans l'extrait méthanolique, suivie par l'extrait acétonique avec un taux de 9.74 mgEAG/g et l'extrait aqueux était le plus pauvre en polyphénols avec une valeur de 5.57 mgEAG/g.

4.4. Jus

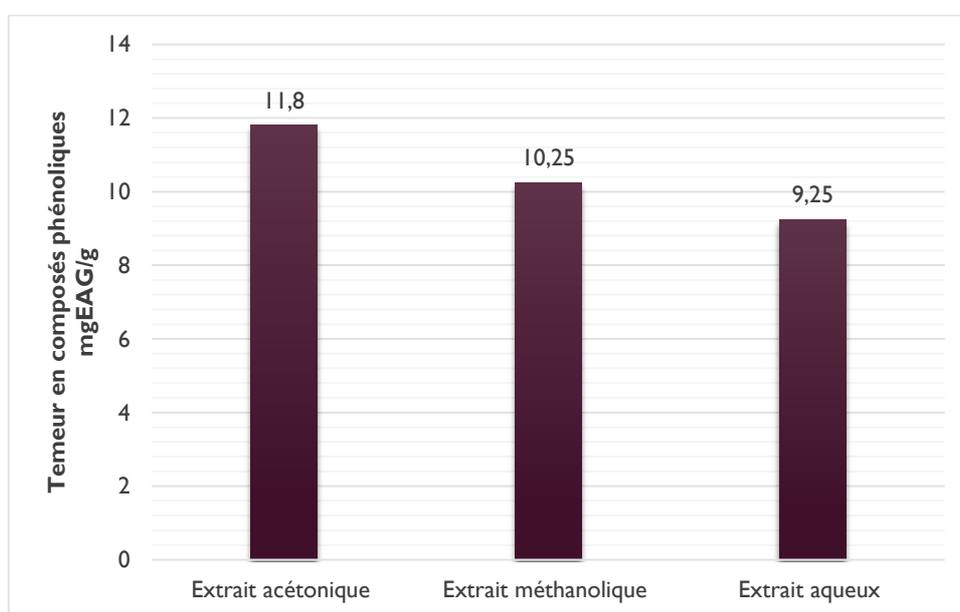


Figure 25 : Teneur en composés phénoliques de jus de la goyave extrait par différents solvants

(You *et al.*, 2011)

You *et al.* (2011), ont rapporté que la quantité des composés phénolique de l'extrait acétonique est plus élevée (11.8 mgEAG/g) par rapport aux autres extraits, où ils ont constaté des quantités faibles dans l'extrait méthanolique et l'extrait aqueux de 10.25 et 9.25 mgEAG/g respectivement. Ce qui s'explique par la solubilité relative des polyphénols présents dans la goyave dans l'acétone, le méthanol et l'eau distillée respectivement

Selon les résultats, on distingue que la teneur en polyphénols des parties (peau, pépins, jus, pulpe) dépend la polarité de solvant et du mode d'extraction.

En fait, la solubilité des polyphénols est gouvernée par le type de solvant utilisé, leur degré de polymérisation ainsi que de leur interaction avec d'autres constituants et la formation de complexes insolubles. Selon **Seidel (2005)**, l'eau et le méthanol sont deux solvants polaires qui extraient particulièrement les flavonoïdes glycosylés et les tannins. Tandis que les flavonoïdes aglycones sont extraits par les alcools ou les mélanges eau-alcool (**Marston et Hostettmann, 2006**).

Généralement et selon la littérature scientifique Le contenu polyphénolique varie qualitativement et quantitativement selon plusieurs facteurs :

- Facteurs climatiques et environnementaux : la zone géographique, sécheresse, sol, agressions et maladies...etc. (**Arockia et al., 2017**).
- Le patrimoine génétique, la période de la récolte et le stade de développement de la plante, le type de polyphénol, l'état de santé du fruit, la méthode de récolte et de stockage (**Araújo et al., 2018**).
- La méthode d'extraction et la méthode de quantification peuvent également influencer l'estimation de la teneur des phénols totaux (**Lee et al., 2003**).

Il a été prouvé que les teneurs des phénols totaux sont élevées lorsque le milieu de vie de la plante n'est pas adéquat. Dans ce cas la plante favorise la synthèse des métabolites secondaires afin de s'adapter et survivre (**Tim et Lamb, 2005**).

Toutefois, il faut noter que la faible spécificité du réactif de Folin-Ciocalteu est l'inconvénient principal du dosage colorimétrique. Le réactif est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes d'hydroxyles non seulement celles des composés phénoliques, mais également de certains sucres et de protéines etc. (**Vuorela 2005**). Ainsi, le solvant d'extraction élu des substances non phénoliques comme les sucres, les protéines et les colorants qui peuvent interférer pendant toute évaluation phénolique (**Georgé et al., 2005**).

4.5 Fruit complet

D'autre part, la quantité des polyphénols du fruit complet de la goyave est plus élevée une valeur de 5372 μ g EAG/g a été rapporté par une étude sur l'effet antioxydant et le contenu phénolique et en vitamine C des fruits exotiques mauriciens communs (**Luximon-Ramma et al., 2003**). Par contre selon **McCook-Russell et al. (2012)** le taux des polyphénols trouvé dans une variété jamaïcaine de fruit *Psidium guajava* était plus faible 1952 μ g EAG/g de fruit. Cependant, cette valeur reste plus élevée à celle trouvé par **Pham et al., 2019** dans une variété vietnamienne 1962.85 μ g EAG/100g de fruit.

D'après **Luximon-Romma et al. (2013)**, la teneur en composés phénoliques est variée selon les variétés de la goyave, la goyave blanche est plus riche en phénols de 247.3 mg GAE/100g à 344.9 mg GAE/100g par rapport à la goyave rose de 170 à 300.8 mg GAE/mg. Selon **Chiveu 2018**, la teneur en composés phénolique variée entre 108.6 et 285.8mgEAG/100g de fruit.

Dans une étude menée par **Pereira et al. (2018)**, sur le Fruit de *Psidium Cattleianum* :, la teneur en composés phénoliques est plus élevée par rapport à études précédentes qui ont enregistré des valeurs entre 5372 et 5638 mg GAE/100g.

5. Identification des composés phénoliques par HPLC.

Selon l'étude de **Blancas-Benítez et al. (2019)**, (figure 26), L'acide gallique a été le principal composé trouvé dans la goyave, et son pourcentage de détection a augmenté pendant la digestion *in vitro*. La même observation a été constatée pour les acides chlorogénique, coumarique et hydroxycinnamique dans la goyave

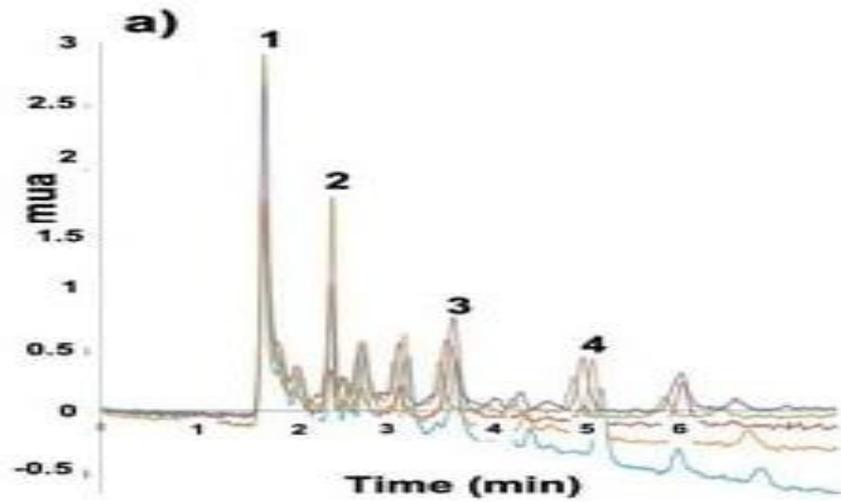


Figure 26 : Profil des composés phénoliques (HPLC-DAD) de la goyave (a)

1 : acide gallique, 2 : acide chlorogénique, 3 : acide coumarique, 4 : acide hydroxycinnamique.

(Blancas-Benítez *et al.*, 2019)

D'après **Rojas-Garbanzo *et al.* (2017)**, Divers groupes de polyphénols constituent le profil phénolique des extraits de la goyave rose (fig.27). Ces composés variaient des simples acides phénoliques tels que l'acide gallique aux oligomères tels que les proanthocyanidines aux tanins condensés. Cependant, il n'a pas été possible d'obtenir des spectres UV clairs en raison du chevauchement des pics et des faibles intensités. Par conséquent, la quantification des polyphénols individuels n'a pas été réalisée.

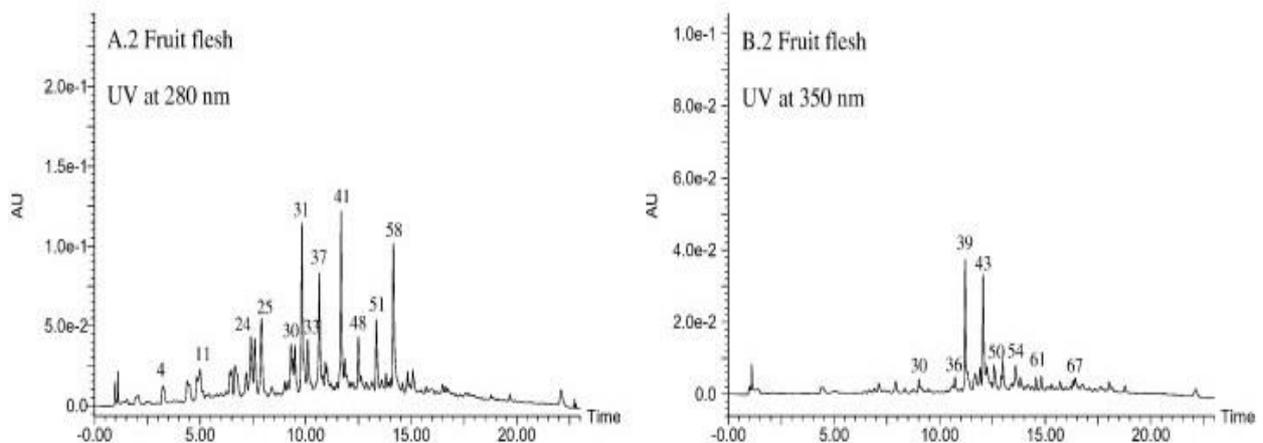


Figure 27 : Analyse HPLC-MS-DAD d'extrait de goyave

(Rojas-Garbanzo *et al.*, 2017)

Le principal composé polaire dans la peau était le composé 41, la catéchine, suivi du cinnamoyl-O-hexoside. Sur la base de la hauteur des pics, le niveau de composé 31 est le double de son niveau dans la peau. Le diméthoxycinnamoyl-O-hexoside (39) était le principal (polyphénol dans la peau, suivi de la nothofagine (43) et du glucuronide de quercétine19 (49).

Dans une autre étude récente **Kong et al., (2019)** l'analyse HPLC couplée à la spectroscopie de masse de l'extrait ethanolique du fruit de la goyave par macération a révélé quatre composés phénoliques (Figure 28) ; 5-hydroxyméthylfurfural (2,76 mg / mL), Acide kojique (0,33 mg / mL) 2,3-butanediol et l'acide acétique et 3,5-Dihydroxy-2-methyl4H-pyran-4-one.

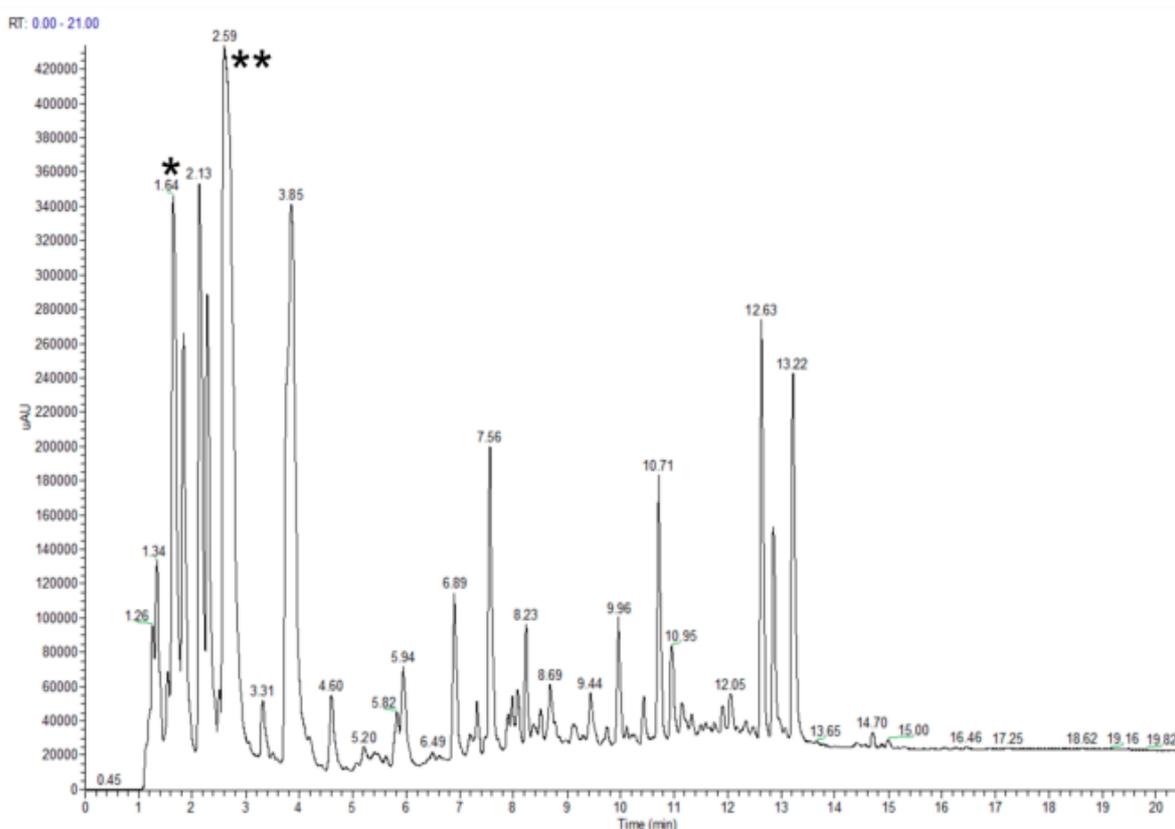


Figure 28 : Chromatogrammes de substances phénoliques de la goyave

(**Kong et al., 2019**)

Selon l'étude de Araújo *et al.* (2015), Le profil analytique des fractions méthanoliques des fruits de *P. guajava* en phénols et flavonoïdes (figure.29) a montré la présence d'acide gallique ($t_R = 12,65$ min, pic 1), de catéchine ($t_R = 16,79$ min, pic 2), d'acide chlorogénique ($t_R = 24,83$ min ; pic 3), acide caféique ($t_R = 28,05$ min; pic 4), épicatechine ($t_R = 34,96$ min; pic 5), rutine ($t_R = 40,01$ min, pic 6), quercitrine ($t_R = 44,27$ min, pic 7), isoquercitrine ($t_R = 46,85$ min, pic 8), quercétine ($t_R = 50,13$ min; pic 9), kaempférol ($t_R = 55,23$ min, pic 10) et kaempférol glycosylé ($t_R = 63,47$ min; pic 11), ainsi que d'autres composants en faible concentration.

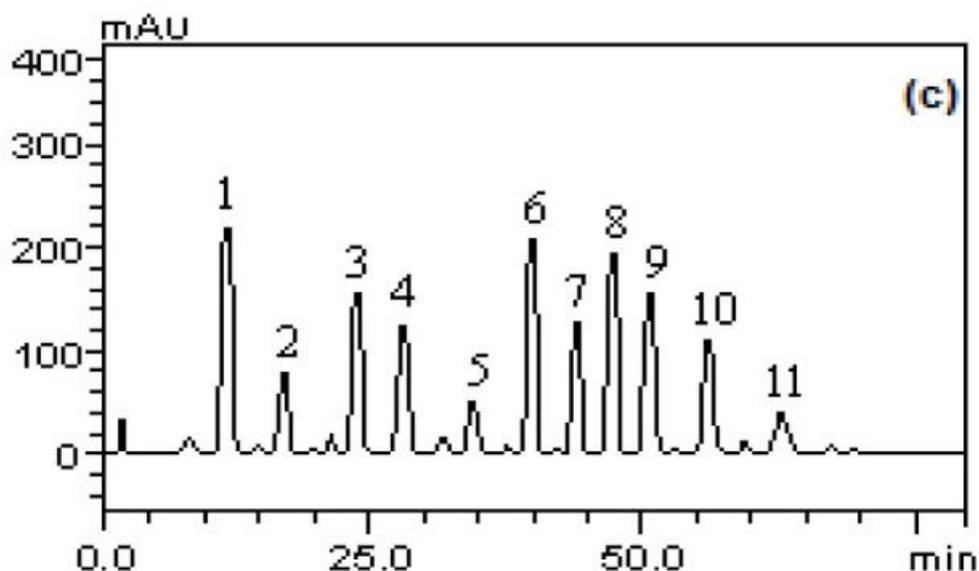


Figure 29 : Profil d'analyse des fractions méthanoliques des fruits de *P. guajava* (c). Acide gallique (pic 1), catéchine (pic 2), acide chlorogénique (pic 3), acide caféique (pic 4), épicatechine (pic 5), rutine (pic 6), quercitrine (pic 7), isoquercitrine (pic 8), quercétine (pic 9), kaempférol (pic 10) et campéférol glycosylé (pic 11).

(Araújo *et al.*, 2015)

6. Teneur en antioxydants

Les résultats des dosages de l'ensemble des antioxydants (composés phénoliques totaux, flavonoïdes, tanins, caroténoïdes, vitamine C) est représenté dans les figures suivantes :

➤ Teneur en acide ascorbique

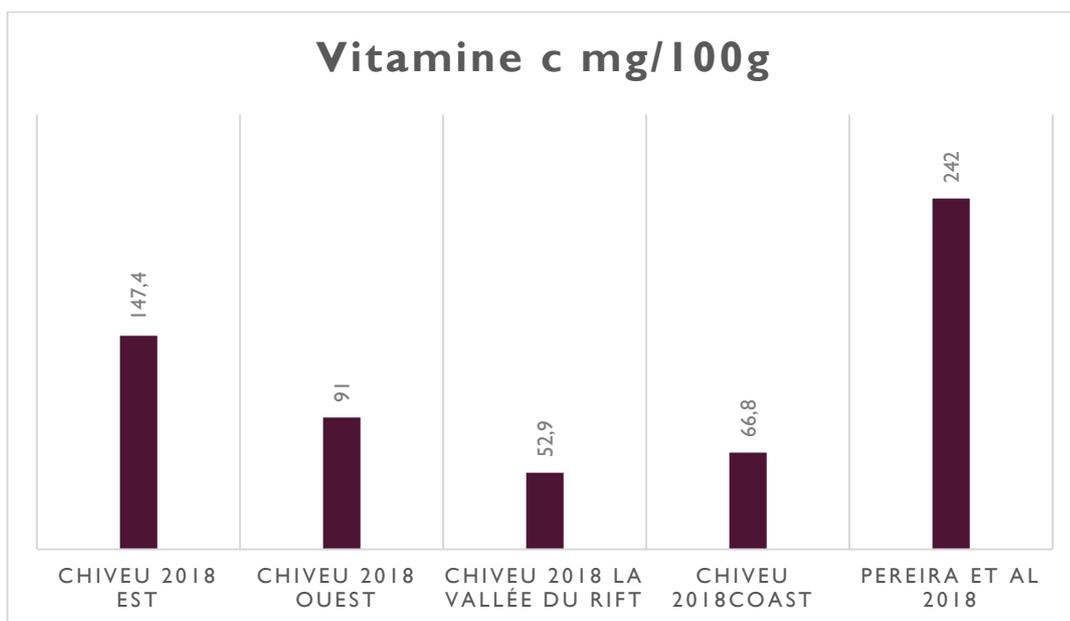


Figure 30 : Teneur en vitamine C dans le fruit de la goyave

Selon la figure (30), la teneur en acide ascorbique allant d'une variabilité élevée d'une région à d'autre, la plus élevée est de **Pereira et al. (2018)** de 242 mg/100g de fruit. Des faibles teneurs ont été enregistrées par **Chiveu 2018** dans le fruit de l'est et **Chiveu 2018** dans le fruit de l'ouest, de 147.4 mg/100g et 91.0 mg/100g respectivement (Kenya). Les teneurs des résultats de **Chiveu 2018** de la vallée du rift et Coast sont les plus faibles de 66.8 et 52.9 mg/100g respectivement.

➤ Teneur en flavonoïde

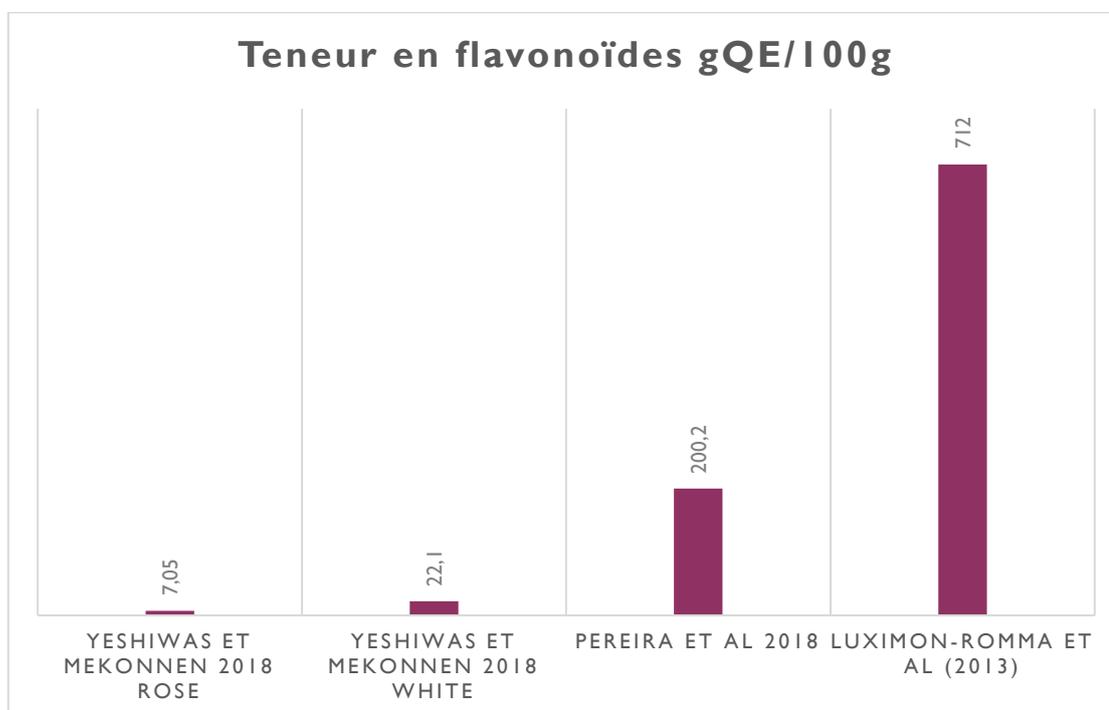


Figure 31 : Teneur en flavonoïde dans l'extrait du fruit de la goyave

D'après les résultats des études illustrées dans la figure .31, la teneur en flavonoïdes la plus élevée elle est de 712gQE/100g qui a été enregistré par **Luximon-Ramma et al. (2013)**. Des valeurs moyennes ont été enregistré par **Pereira et al. (2018)**. En revanche les teneurs les plus basses ont été enregistrées par **Yeshiwas et Mekonnen (2018)** (22.10 et 7.05 g QE/100g dans la variété blanche et la variété rose de respectivement).

➤ Test au DPPH

Le principe de ce test est basé sur la réaction de réduction du radical libre DPPH* ayant une couleur violette par les antioxydants présents dans les extraits, suivi par une décoloration en un composé jaune qui représente la capacité des extraits à piéger ces radicaux libres (**Mahmud et al., 2012**). La capacité à piéger ces derniers est proportionnelle à la concentration de la substance antioxydante (**Musa et al., 2011**).

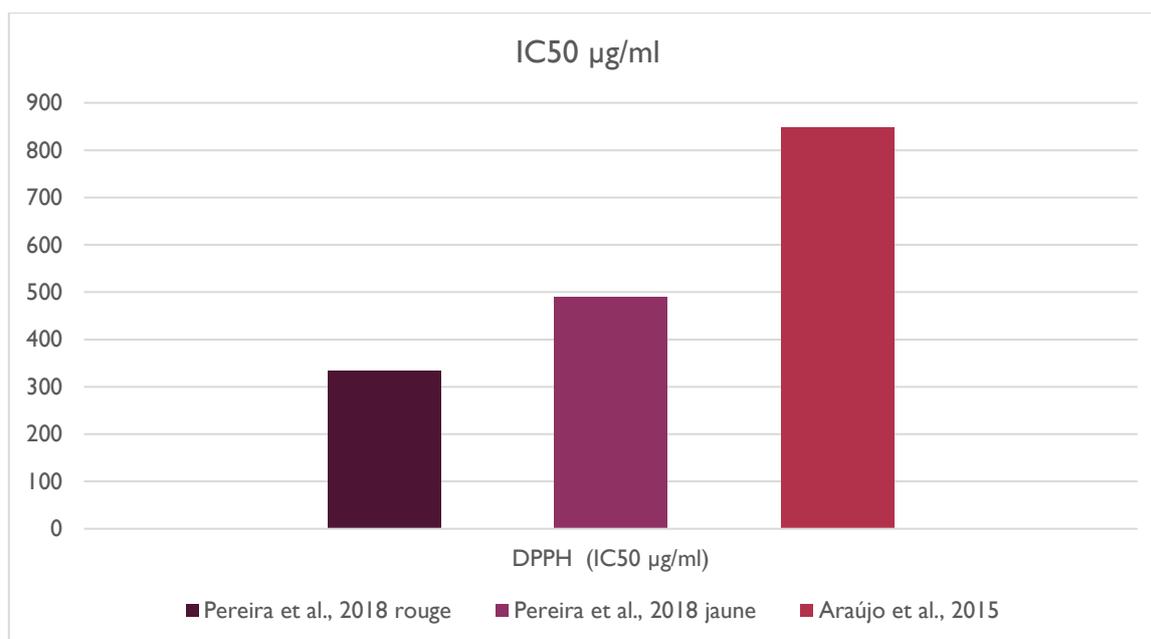


Figure 32 : IC50 du pouvoir antiradicalaire du fruit de la goyave

Selon la figure (32), **Araújo et al. (2015)** ont rapporté une valeur élevée d'IC50 (848.78 µg/ml). **Pereira et al. (2018)** ont montré que la goyave rouge est dotée d'un pouvoir antioxydant plus élevé (IC50 = 334.3 µg/ml, PR = 1/IC50 = 0.0029) par rapport à la variété jaune (IC50= 490.3 µg/ml, PR=1/IC50= 0.020).

Les travaux réalisés par **Allothman et al. (2009)**, sur la Capacité antioxydante et le contenu phénolique de certains fruits tropicaux de Malaisie, extraits avec différents solvants **ont** montré que l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de la goyave (94.6%) est plus élevée en comparaison avec celle de l'extrait d'acétone (68,6%).

Ces valeurs sont nettement supérieures à ceux trouvés par **Vasco et al (2008)** menée sur les contenu phénolique et l'activité antioxydante des principaux fruits de l'Équateur, le pourcentage de réduction du radical DPPH* était de 40%, et l'IC50 est de 900,3µg/ml.

La réaction de neutralisation des radicaux libres DPPH est proportionnelle à la quantité de composés donneurs d'électrons ou de protons, plus la capacité de don est élevée, plus la neutralisation est plus élevée. Les composés phénoliques sont caractérisés en général par une structure chimique riche en groupement hydroxylique, carboxylique et carbonyles attachés au cycle aromatique qui sont facilement attaqués par les espèces réactives, la présence de ces

groupes est directement liée au pouvoir de neutralisation des espèces réactifs d'oxygène (**van Acker et al., 1996**).

Cao et al., (1997) corrélient le nombre des groupements hydroxyle attachés aux flavonoïdes avec sa capacité antioxydante. **Gutierrez et al., (2008)** a révélé la présence de flavonoïdes avec des multiples groupements hydroxyliques (quercétine, leucocyanidine, kaempférol et guaijaverin), confirmée par l'analyse en HPLC, dans le fruit de la goyave. La concentration de ces flavonoïdes a augmenté pendant la maturation ce qui peut être lié à l'activité scavenger du radical DPPH observée au stade de la maturité.

Il faut signaler, que peu de travaux ont été publiés sur l'activité anti-radicalaire sur les différentes parties de la goyave, plus particulièrement sur la peau et le péricarpe. Ceci ne nous a pas permis d'enrichir la discussion des résultats de ces parties du fruit.

Cette étude a permis de connaître les paramètres physicochimiques, la composition phytochimique et l'activité antioxydante des différentes parties de la goyave (*Psidium guajava*). L'analyse des résultats des études antérieures a montré que les teneurs en phytonutriments ainsi que l'activité antioxydante de la goyave varient significativement d'une partie à une autre, elle est plus élevée dans la pulpe et le jus que la peau et pépins. Toutefois, De ce fait, la consommation régulière de ce fruit serait bénéfique pour prévenir le stress oxydatif.

A cause de la pandémie sanitaire COVID-19 on n'a pas pu terminer la partie pratique de notre étude, ainsi, il serait intéressant de compléter ce travail par le fractionnement, la purification et l'identification des molécules isolés des extraits de ce fruit par divers techniques chromatographiques, dont la chromatographie liquide haute performance (HPLC analytique et préparative) et des méthodes adaptées de RMN pour l'élucidation structurale, puis de s'orienter vers les composés phénoliques qui possèdent de nombreuses propriétés thérapeutiques en réalisant des tests d'activités biologiques *in vitro* et éventuellement *in vivo*.

Références bibliographiques

- Abbas, M.M., Mahreen, N., Ashfaq, M., Aziz, M.M and Gill, J.I.** 2019. EVALUATION OF DIFFERENT GUAVA STRAINS FOR YIELD AND PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERISTICS, *J Agric. Res.*, 2019, 57(3):175-180
- Alothman, M., Bhat, R and Karim, A. A.** 2009. Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. *Food Chemistry*, 115(3), 785-788.
- Amiour, D.S., Alloui-Lombarkia, O., Bouhdjila, F., Ayachi A and Hambaba L.** 2014. Étude de l'implication des composés phénoliques des extraits de trois variétés de datte dans son activité antibactérienne Study of the involvement of the phenolic compound of extracts from three varieties of date in its antibacterial activity. *Phytothérapie*, 12(2): 135–142.
- Araújo, H.M., Rodrigues, F.F.G., Costa, W.D., Nonato, C.F. A., Rodrigues, F.F. G., Boligon, A.A., Athayde, M.L and Costa, J.G. M.** 2015. Chemical profile and antioxidant capacity verification of *Psidium guajava* (Myrtaceae) fruits at different stages of maturation. *Excli Journal*, 14, 1020—1030.
- Arockia, E.J.S., Seetharaman, S., Indra, V., Lakshmi, P.S and Sheela, D.** 2017. A study on phytochemical profiling, antibacterial and anticancer activity of *Psidium guajava* L. fruit peel extracts against MCF-7 cell line. *International Journal of Zoology Studies*. 2(6): 177-181.
- Avissar, N., Whitin, J.C., and Allen P.Z.** 1989. Plasma selenium-dependent glutathione peroxidase. *J. Biol. Chem*, 2:15850-15855.
- Bengtsson, G.B and Hagen, S.F.** 2008. *Storage and handling of fruit and vegetables for optimum health-related quality*. In: Tomás-Barberán, F.A., Gil, M.I. Improving the health-promoting properties of fruit and vegetable products Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, Woodhead Publishing, 412-430.
- Biswas, B., Rogers, K., McLaughlin, F., Daniels, D and Yadav, A.** 2013. Antimicrobial Activities of Leaf Extracts of Guava (*Psidium guajava* L.) on Two Gram-Negative and Gram-Positive Bacteria. *International journal of microbiology*.

Blancas-Benítez, F.J., Montalvo-González, E., González-Aguilar, G.A and Sáyago-Ayerdi, S.G. 2019. In vitro bioaccessibility and release kinetics of phenolic compounds from guava (*Psidium guajava* L.) and soursop (*Annona muricata* L.) pulp. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 22 (1) : 1-7.

Blanco, A and Blanco, G. 2017. *Chapter 10-antioxidants*. In: Medical Biochemistry, New York, Academic Press, 205-214.

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

Brand-Williams W, Cuvelier M.E and Berset C., 1995 - Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28 (1): 25-30.

Cao, G., Sofic, E and Prior, R.L. 1997. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure activity relationships. *Free Radic Biol Med*, 22:749-60.

Chiveu, C. J. 2018. Assessment of genetic and nutritional diversity, and salinity tolerance of Kenyan guava (*Psidium guajava* L.): an underutilized naturalized fruit species (Doctoral dissertation, Georg-August-Universität Göttingen).

Chyau, C.C., Chen, S.Y., and Wu C.M. 1992. Differences of volatile and nonvolatile constituents between mature and ripe guava (*Psidium guajava* Linn.) fruits. *Journal. J. Agric. Food Chem*, 40, °5: 846–849.

Debib, A. 2014. Extraction et étude des polyphénols issus de l'huile d'olive extra vierge et des figes séches Algériennes [ressource textuelle, sauf manuscrits] : applications thérapeutiques in vitro et in vivo. Thèse de doctorat. Université de Mascara. 1-3p.

Debib, A., Tir-Touil, A., Mothana, R. A., Meddah, B. and Sonnet, P. 2014. Phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of two fruit varieties of Algerian *Ficus carica* L. *Journal of Food Biochemistry* 38(2): 207-215.

ENNEB, H., BELKADHI, A., CHEOUR, F and FERCHICHI, A. 2015. Comparaison des composés phénoliques et du pouvoir antioxydant de la plante de henné (*Lawsonia inermis* L.). *Journal of New Science*, 20.

Fathy, M., Magda, S., Fathy, M.M., Salama, F.M and Saber, R. 2016. Comparative study of the volatile oil content and antimicrobial activity of *Psidium guajava* L. and *Psidium cattleianum* Sabine leaves. *Bulletin Of Faculty of pharmacy. Cairo University*, 54(2): 219-225.

Favier, A. 2006. Stress oxydant and pathologies humaines Oxidative stress in human diseases. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 64 (6) : 90-396.

Fernandez, X., Merck, F and Kerdudo, A. 2012. Conservateurs pour cosmétiques - Antioxydants et anti-UV. *Techniques de l'ingénieur Cosmétiques TIB634DUO*, 1-23.

Friedman, M. 2004. *NUTRITION | Effects of Food Processing*. In: Wrigley, C. *Encyclopedia of Grain Science* , Australia, Academic Press, 328-340.

Furlan, C.M., Moraes, R.M., Bulbovas, P., Domingos, M., Salatino, A and Sanz, M.J. 2007. *Psidium guajava* 'Paluma' (the guava plant) as a new bio-indicator of ozone in the tropics. *Environmental Pollution*, 147(3): 691-695.

Gagné, F. 2014. *Chapter 6 - Oxidative Stress*. In: *Biochemical Ecotoxicology Principles and Methods*, Academic Press, 103-115.

Gan, R. Y., Chan, C. L., Yang, Q. Q., Li, H. B., Zhang, D., Ge, Y. Y., Gunaratne, A., Ge, J and Corke H. 2019. *Bioactive compounds and beneficial functions of sprouted grains*. In: Feng, H., Nemzer, B and DeVries, J.W. *Sprouted Grains Nutritional Value, Production and Applications*, AACC International Press, 191-246.

Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Zohreh, A.Z and Daniel J.D. 2003- Espèces réactives de l'oxygène : Comment l'oxygène peut-il devenir toxique. *L'actualité chimique*, 91-96.

Georgé, S., Brat, P., Alter, P and Amiot, M. J. 2005. Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant derived products. *J. Agric. Food Chem.*, 53: 1370-1373

Gökçe, E. H., Yapar, E. A., Tanrıverdi, S. T and Özer Ö. 2016. *Chapter 14-Nanocarriers in cosmetology*. In: Grumezescu, A.M. *Nanobiomaterials in Galenic Formulations and Cosmetics*, Romania William Andrew Publishing, 363-393.

Guillout, A. 2016. *Plantes médicinales et antioxydants*. Thèse de doctorat : En pharmacie, Faculté Des Sciences Pharmaceutiques, Université Toulouse III Paul Sabatier, 53p.

Guo, L., Qiang, T., Ma, Y., Wang, K and Du, K. 2020. Optimisation of tannin extraction from *Coriaria nepalensis* bark as a renewable resource for use in tanning, *Industrial Crops and Products*, 149, 112360

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

Gutteridge J.M, Halliwell B., 1993- Free radicals in disease processes: a complication of cause and consequence. *Free Radic. Res. Commun*, vol 19, N°3, pp.141-158.

Harborne, A. J. 1998. *Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis*. Springer science & business media.

Hartsel, J. A., Eades, J., Hickory, B and Makriyannis, A. 2016. *Chapter 53-Cannabis sativa and Hemp*. In: Gupta, R. C. *Nutraceuticals Efficacy, Safety and Toxicity*, USA, Academic Press, 735-754.

Hays, N.P and Roberts, S.B. 2003. AGING – NUTRITIONAL ASPECTS. In: Caballero, B. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition)*, USA, Academic, 81-87.

Hininger, I and Bigard, X. 2007. Chapitre 7 - Exercice, Stress Oxydatif et Apports Nutritionnels Spécifiques. In : Bigard, X., Guezennec, C.Y. *Nutrition du sportif (2e édition)*, Elsevier Masson, 126-155.

Horn, L.V., Archer, S., Thedford, K and Baltes, A. 2001. *CHAPTER 19 - Other Dietary Components and Cardiovascular Risk.* In: Boushey, C. J., Coulston, A. M., Rock, C. L and Mosen, E. *Nutrition in the Prevention and Treatment of Disease*, Elsevier , pp.291-302.

Jacques, B and André, R. 2004. *Biochimie métabolique* Ed ellipses .Paris, 217-219- 220-223-225.

Jain, N., Dhawan K., Malhotra, S and Singh, R. 2003. *Biochemistry of Fruit Ripening of Guava (Psidium guajava L.): Compositional and Enzymatic Changes.* *Journal. Plant Foods for Human Nutrition*, 58: 309–315

Jain, N., Dhawan, K., Malhotra, S.P., Siddiqui, S and Singh, R. 2001. *Compositional and enzymatic changes in guava (Psidium guajava L.) fruits during ripening.* *Journal. Acta Physiologiae Plantarum*, 23: 357–362.

Jain, P. K and Nema P. K. 2007. *Processing of Pulp of Various Cultivars of Guava (Psidiumguajava L.) for Leather Production.* *Agricultural Engineering International: the CIGR Ejournal*, IX: 9.

Jan, S and Abbas, N. 2018. *Chapter 4 - Chemistry of Himalayan Phytochemicals*, In: *Himalayan Phytochemicals Sustainable Options for Sourcing and Developing Bioactive Compounds*, India, Elsevier, 121-166.

Jimenez-Escrig, A., Rincon, M., Pulido, R., and Saura-Calixto, F. 2001. *Guava Fruit (Psidium guajava L.) as a New Source of Antioxidant Dietary Fiber* *J. Journal. Agric. Food Chem*, 49: 5489–5493.

Joseph, B and Priya, M.R. 2011- *REVIEW ON NUTRITIONAL, MEDICINAL AND PHARMACOLOGICAL PROPERTIES OF GUAVA (PSIDIUM GUAJAVA LINN.).**International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2(1), 53-69.

- Josiah C.C.** 2018. Assessment of genetic and nutritional diversity, and salinity tolerance of Kenyan guava (*Psidium guajava* L.): an underutilized naturalized fruit species. Ph. D. Tesis Georg-August-University Göttingen, Germany.
- Khadhri, A., EL Mokni, R., Almeida, C., Nogueira, M.J.M.F and Araújo, M.E.** 2014. *Chemical composition of essential oil of Psidium guajava L. growing in Tunisia*, Industrial Crops and Products, 52:29-31.
- Khan, A.A.H., Naseem and Vardhini, B.V.** 2015. Evaluation of Nutraceuticals in Fruit Extracts of *Psidium Guajava L.* *Next Generation DNA Led Technologies*, 81-89.
- König, A., Schwarzinger, A and Stadlbauer, A.** 2019. Guava (*Psidium guajava*) Fruit Extract Prepared by Supercritical CO₂ Extraction Inhibits Intestinal Glucose Resorption in a Double-Blind, Randomized Clinical Study, *Nutrients* , 11(7), 1512
- Krzyzowska, M., Tomaszewska, E., Ranoszek-Soliwoda, K., Bien, K., Orlowski, P., Celichowski, G and Grobelny, J.** 2017. *Tannic acid modification of metal nanoparticles: possibility for new antiviral applications.* In: Grumezescu, A.M., Andeonescu, E. Nanostructures for oral medicine Micro and Nano Technologies, Romania, Elsevier, 335-363.
- Lee, K.W., Kim, Y.J., Lee, H.J and Lee, C.Y.** 2003. Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Food chemistry*. 51: 7292-7295.
- Lee, S., Choi, H.K., Cho, S.K and Kim, Y.S.** 2010. Metabolic analysis of guava (*Psidium guajava*L.) fruits at different Ripening stages using different data-processing approaches. *J Chromatography B*, 878:2983-8.
- Linné, C.** 2007.*CHAPTER 3 - Biological Significance of Alkaloids.* In: Aniszewski, T. Alkaloids- Secrets of Life Alkaloid Chemistry, Biological Significance, Applications and Ecological Role, Elsevier, 141-180.
- Litwack, G.** 2018. *Chapter 20 - Vitamins and Nutrition.* In: *Human Biochemistry*, United States, Academic Press, 645-680.

Liu, J., Wang, L., Li, J., Li, C., Zhang, S., Gao, Q., Zhang, W and Li, J. 2020. Degradation mechanism of *Acacia mangium* tannin in NaOH/urea aqueous solution and application of degradation products in phenolic adhesives. *International Journal of Adhesion and Adhesives*, 98, ° 102556.

Luximon-Ramma, A., Bahorun¹¹ and Crozier A. 2003. Antioxidant actions and phenolic and vitamin C contents of common Mauritian exotic fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture J Sci Food Agric*, 83: 496–502.

Ma, Y. R., Wang, K.F., Wang, W.J., Ding, Y., Shi, T.Q., Huang, H., and Ji, X.J. 2019. Advances in the metabolic engineering of *Yarrowia lipolytica* for the production of terpenoids, *Bioresource Technology*, 281, 449-456.

Mahmud, W. C., Lee, R. S., Pillai, S and Perumal, S, I. 2012. Antioxidant Activities of Essential Oil of Psidium Guajava L. Leaves .*APCBEE Procedia*, 2: 86-91.

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

Marfak, A. 2003. Radiolyse Gamma des flavonoïdes (Etude de leur réactivité avec des radicaux issus des alcools), Thèse de doctorat, Faculté de médecine et de pharmacie, Université de Limoges, France, 6-7-10.

Marston, A and Hostettman, K. 2006. Developments in the application of counter-current chromatography to plant analysis. *Journal of Chromatography A*, 1112: 181-194

Martins, R.O., Gomes, I.C., Telles, M.A.D., Kato, L., Sousa, P.S and Chaves, A.R. 2020. Molecularly imprinted polymer as solid phase extraction phase for condensed tannin determination from Brazilian natural sources. *Journal of Chromatography A*, 1620, °460977.

Maurent, K. 2017. Synthèse de composés phénoliques de type diarylheptanoïde. Evaluation de leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires. Thèse de doctorat, Université Toulouse 3 Paul Sabatier (UT3 Paul Sabatier), pp : 21-23.

McCook-Russell, K.P., Nair, M.G., Facey, P.C and Bowen-Forbes, C.S. 2012. Nutritional and nutraceutical comparison of Jamaican *Psidium cattleianum* (strawberry guava) and *Psidium guajava* (common guava) fruits. *Food Chemistry*, 134 (2): 1069-1073.

Morais-Braga, M.F.B., Carneiro, J.N.P., Machado, A.J.T., Santos, A.T.L., Sales, D.L., Lima, L.F., Figueredo, F.G and Coutinho, H.D.M. 2016. *Psidium guajava* L., from ethnobiology to scientific evaluation: Elucidating bioactivity against pathogenic microorganisms. *Journal of Ethnopharmacology*, 194 : 1140-1152.

Müller, U., Stübl, F and Schwarzinger, B. 2018. In Vitro and In Vivo Inhibition of Intestinal Glucose Transport by Guava (*Psidium Guajava*) Extracts. *Mol Nutr Food Res*, 62(11): e1701012.

Musa, K. H., Abdullah, A., Jusoh, K and Subramaniam V. 2011. Antioxidant Activity of Pink-Flesh Guava (*Psidium guajava* L.): Effect of Extraction Techniques and Solvents. *Food Analytical Methods*, 4, ° 1, 100-107.

Nascimento, R.J.D., Araújo, C.R.D and Melo, E.D.A. 2010. ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE DES EXTRAITS DE DÉCHETS AGROINDUSTRIELS DU GUIABA (*PSIDIUM GUAJAVA* L.). *Journal brésilien de l'alimentation et de la nutrition / de l'alimentation et de la nutrition*, 21 (2).

Naseer, S., Hussain, S and Naeem, N. 2018. The phytochemistry and medicinal value of *Psidium guajava* (guava). *Clin Phytosci* 4, 32.

Nasrollahzadeh, M., Shafiei, N., Nezafat, Z and Bidgoli, N. S. S. 2020. Recent progresses in the application of lignin derived (Nano) catalysts in oxidation reactions. *Molecular Catalysis*, 489, 110942.

Nguyen, A . Goyave banque d'images. (2020) In : 123RF. Disponible sur : <
<https://fr.123rf.com/images-libres-dedroits/goyave.html?alttext=1&imgtype=1&sti=mblnmku7jqhsv4hnan%7C> > (Consulté le 14/08/2020)

Nimisha, S., Kherwar, D., Ajay, K.M., Singh, B and Usha, k. 2013. Molecular breeding to improve guava (*Psidium guajava* L.): Current status and future prospective. *Scientia Horticulturae*, 164: 578-588.

Nsemi, F.M. 2010. Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Biologie végétale. Thèse de doctorat, Université Paul Verlaine - Metz, 2010. Français. fNNT : 2010METZ011Sff. fftel-017526

Oh, W.K., Lee, C.H., Lee, M.S., Bae, E.Y., Sohn, C.B., Oh, H., Kim, B.Y and Ahna, J.S. 2005. Antidiabetic effects of extracts from *Psidium guajava*. Journal of Ethnopharmacology, 96(3): 411-415.

Pelegrini, P.B., Murad, A.M., Silva, L.P., Santos, R.C.P., Costa, F.T., Tagliari, P.D., Jr, B.C., Noronha, E.F., Miller, R.N.G and Franco, O.L. 2008. Identification of a novel storage glycine-rich peptide from guava (*Psidium guajava*) seeds with activity against Gram-negative bacteria. Peptides, 29(8) : 1271-1279.

Pereiraa, E.D.S, Vinholesa, J., Franzona, R.C., Dalmazob, G., Vizzottoa, M. and Norab L. 2018. *Psidium cattleianum* fruits: A review on its composition and bioactivity Food Chemistry 258: 95–103.

Pham, D.C., Vu, N.H., Samhaber, W and Nguyen, M.T., 2019. Physicochemical Characteristics and Aroma Analysis of Passion Fruit Juice and Guava Juice Concentrated by a Novel Evaporation Concept, Chemical Engineering Transactions, 75, 43-48

Pradas-Baena, I., Moreno-Rojas, J.M and Luque-de-Castro, M.D. 2015. *Chapter 1 - Effect of Processing on Active Compounds in Fresh-Cut Vegetables*. In: Preedy, V. Processing and Impact on Active Components in Food, UK, Academic Press, 3-10.

Prance, G.T. 2003. FRUITS OF TROPICAL CLIMATES. Fruits of Central and South America. In: Caballero, B. Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition), Academic Press, 2810-2816.

Ribeiro, M., Simões, L.C and Simões, M. 2018. *Biocides*. In: Schmidt, T.M. Reference Module in Life Sciences Encyclopedia of Microbiology (Fourth Edition), Academic Press, 478-490.

Rojas-Garbanzo, C., Zimmermann, B.F., Schulze-Kaysers, N and Schieber, A. 2017. Characterization of phenolic and other polar compounds in peel and flesh of pink guava (*Psidium guajava* L. cv. 'Criolla') by ultra-high performance liquid chromatography with diode array and mass spectrometric detection. *Food Research International*, 100 (3): 445-453.

ROLLAND, Y. 2004. Antioxydants naturels végétaux, *Burgundy Botanical Extracts*, 11, °6, 419-424.

Rueda, F. D. M. N. 2005. *Guava (Psidium guajava L.) fruit phytochemicals, antioxidant properties and overall quality as influenced by postharvest treatments* (Doctoral dissertation, University of Florida).

SalehAl-Sowayan, N. 2020. *Possible modulation of nervous tension-induced oxidative stress by vitamin E*. Saudi Journal of Biological Sciences

Santos, W. N.L., Sauthier, M.C.S., Santos,A.M.P., Santana,D.A., Azevedo, R.S.A and Caldas, J.C. 2017. Simultaneous determination of 13 phenolic bioactive compounds in guava (*Psidium guajava* L.) by HPLC-PAD with evaluation using PCA and Neural Network Analysis (NNA). *Microchemical Journal*,133 : 583-592.

Saranraj, P., Behera, S.S and Ray, R.C. 2019. *Chapter 7 - Traditional Foods from Tropical Root and Tuber Crops: Innovations and Challenges*. In: Charis, M., Galanakis. *Innovations in Traditional Foods* , Woodhead Publishing, 159-191.

Seidel, V. 2005. Initial and Bulk Extraction. In: Sarker S D, Latif Z and Gray A I. *Natural products isolation*. Humana Press (Totowa): 27-37.

Shao, Y., Wang, M., Zhang, F., Zhao, Z., Mei, X., Li, T., Wang, D., Liang, Y., Li, J., Xu, T., Zhao, Y... and Lu, B. 2020. Phenolic acid profiles of common food and estimated natural intake with different structures and forms in five regions of China. *Food Chemistry*, 321, °126675

Shiva, B., Nagaraja, A., Srivastav, M., Kumari, S., Goswami, A. K., Singh, R and Arun, M. B. 2017. Characterization of guava (*Psidium guajava*) germplasm based on leaf and fruit parameters. *Indian J Agric Sci*, 87, 634-638.

Singh, N and Abraham, J. 2016. 23 - *Gold Nanoparticles: Their Properties and Role as Therapeutic Anticancer Agents*. In: Holban, A.M., Grumezescu, A.M. *Nanoarchitectonics for Smart Delivery and Drug Targeting*, Romania. William Andrew, 647-666.

Singh, S.P. 2011. Chapitre: 10 - *Guava (Psidium guajava L.)*. In: Elhadi, M.Y. *Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits : Cocona to Mango* Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, 213-245, 246.

Singleton, V.L and Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *Journal.Am J Enol Vitic*, 16:144-158.

Soares, F. D. T., Pereira, M. O., Maio, M.A. R and Monteiro. 2007. Volatile and non-volatile chemical composition of the white guava fruit (*Psidium guajava*) at different stages of maturity, *Food Chemistry*, 100, N° 1:15-21.

Souza, T.d.S., Ferreira, M.F.d.S., Menini, L., Rodrigues, J., Souza, C.d.L., Bernardes, C.d.O and Ferreira A. 2018. Chemotype diversity of *Psidium guajava L.* *J. Phytochemistry*, 153: 129-137.

Stratil, P., Klejdus, B and Kubáň, V. 2007. Determination of phenolic compounds and their antioxidant activity in fruits and cereals. *Journal. Talanta*, 71 (4):1741-1751.

Swallah, M.S., Sun, H., Affoh, R, Hongling, Fu and Hansong, Yu. 2020. Antioxidant Potential Overviews of Secondary Metabolites (Polyphenols) in Fruits », *International Journal of Food Science*, 2020, 9081686, 8.

Tanwar, B. B., Andallu, S and Chandel. 2014. Influence of Processing on Physicochemical and Nutritional Composition of Psidium Guajava L. (Guava). Journal. *Products International Journal of Agriculture and Food Science Technology*. 5, °2:47-54.

Tensaout, F and Gaoua, A. 2018. Caractéristiques chimiques et propriétés antioxydantes de la goyave « Psidium guajava » .Mémoire . Option Génie Alimentaire. Bejaia : Université Abderrahmane Mira - BEJAIA, 57p.

Tim, T.P.C and Lamb, A.J. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *International journal of antimicrobial agents*, 26: 343-356.

Trichopoulou, A., Orfanos, P and Norat, T. 2005. Modified Mediterranean Diet and Survival: EPIC- elderly Prospective Cohort Study. *Bmj*. 330: 991.

Uğur, H., Çatak, J., Mızrak, O.F., Çebi, N and Yaman. 2020 - Determination and evaluation of *in vitro* bioaccessibility of added vitamin C in commercially available fruit-, vegetable-, and cereal-based baby foods. *Food Chemistry*, 127166.

Van-Acker, S., Van-Den-Berg, D.J., Tromp, M.N.J.L., Griffioen, D.H., Van-Bennekon, W.P and van-Der-Vijgh, W.J. 1996. Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free Radic Biol Med*, 20:331-42.

Vasco, C., Ruales, J and Kamal-Eldin, A. 2008. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. Journal. *Food Chemistry*, 111(4): 816-823.

Velasquez, M.T. 2015- Chapter 52 - Management of Hypertension in Chronic Kidney Disease. In: Kimmel, P.L., Rosenberg, M.E. *Chronic Renal Disease*, Academic Press, 634-645

Verpoorte, R. 2000. *ALKALOIDS | Liquid Chromatography*. In: Wilson, I.D. *Encyclopedia of Separation Science*, UK, Academic Press, 1949-1956.

Vijaya Anand, A., Velayuthaprabhu, S., Rengarajan, R.L., Sampathkumar, P and Radhakrishnan, R. 2020. Bioactive Compounds of Guava (*Psidium guajava* L.). In: Murthy H., Bapat V. (eds) Bioactive Compounds in Underutilized Fruits and Nuts. Reference Series in Phytochemistry. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-30182-8_37

Vranou, P., Gkoutzourelas, A., Athanadou, D., Zafiriou, E., Grammatikopoulou, M.G and Bogdanos, D.P. 2020. Let Food Be Thy Medicine: The Case of The Mediterranean Diet in Rheumatoid Arthritis. *Mediterr J Rheumatol* In press.

Vuorela, S. 2005. Analysis, isolation and bioactivities of rapeseed phenolics. Ed. University of Helsinki, Helsinki, 76 p.

Witkamp, R.F. and Norren, K.V. 2018. Let thy food be thy medicine when possible. *Eur. J. Pharm.*, 836, 102-114.

Yeshiwas, D and Mekonnen, A. 2018. Comparative study of the antioxidant and antibacterial activities of two guava (*Psidium guajava*) fruit varieties cultivated in Andasa Horticulture Site, Ethiopia. *Chemistry International*, 4(3) :154-162.

You, H., Park J.W., Yuk H.G., and Lee S.C. 2011. Antioxidant and Tyrosinase Inhibitory Activities of Different Parts of Guava (*Psidium guajava* L.) Dong. *Journal. Food Sci. Biotechnol.* 20(4): 1095-1100.

Zhao C, Li S, Zhang H, Yue F, Lu F., 2020- Structural insights into the alkali lignins involving the formation and transformation of arylglycerols and enol ethers. *International Journal of Biological Macromolecules.* 152: 411-417.