

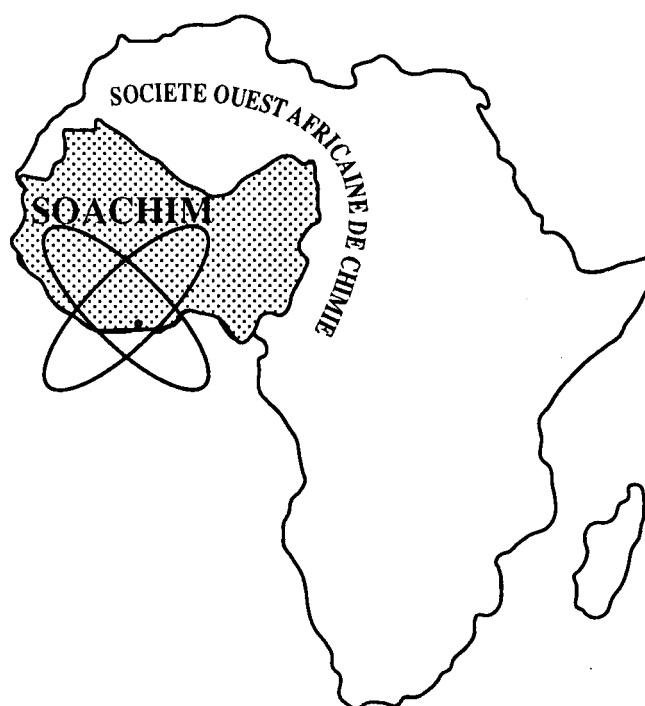
*Etude comparative de trois méthodes
d'extraction des flavonoïdes totaux à partir des
feuilles de plantes médicinales : Azadirachta
indica et Psidium guajava*

**Pacôme Serge Gouegoui Bohui, Augustin Amissa Adima,
Florence Bobelé Niamké, Jean David N'Guessan**

Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie

J. Soc. Ouest-Afr. Chim.(2018), 046 : 50 - 58

23^{ème} Année, Décembre 2018



ISSN 0796-6687

Code Chemical Abstracts : JSOCF2
Cote INIST (CNRS France) : <27680>
Site Web: <http://www.soachim.org>

Etude comparative de trois méthodes d'extraction des flavonoïdes totaux à partir des feuilles de plantes médicinales : *Azadirachta indica* et *Psidium guajava*

Pacôme Serge Gouegoui Bohui^{1*}, Augustin Amissa Adima¹, Florence Bobelé Niamké¹, Jean David N'Guessan²

¹Laboratoire des Procédés Industriels, de synthèse de l'Environnement et des Energies Nouvelles, (LAPISEN), Groupe de recherche en chimie de l'eau et substances naturelles,

BP 1313 Yamoussoukro, Côte d'Ivoire

²Laboratoire de Pharmacodynamie Biochimique, UFR Biosciences-Université Félix Houphouët-Boigny, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

(Reçu le 07/09/2018 – Accepté après corrections le 22/01/ 2019)

Résumé : L'extraction est une étape très importante dans l'isolement et la récupération des composés d'intérêt. Elle est influencée par plusieurs facteurs notamment la méthode utilisée et la présence de substances interférentes. Il s'agit de comparer trois méthodes d'extraction par l'évaluation des teneurs en flavonoïdes totaux et des activités antioxydantes des extraits des feuilles d'*Azadirachta indica* et *Psidium guajava*. Les taux d'extraction sont déterminés à partir de trois méthodes d'extraction à savoir la macération, l'infusion et la décoction. Les teneurs en flavonoïdes totaux des extraits obtenus ont été déterminées à partir d'une méthode spectrophotométrique et l'activité antioxydante a été quantifiée par la méthode du DPPH. Les meilleurs rendements d'extraction sont enregistrés par la décoction avec une moyenne de 16,3% et 19,3% respectivement pour *Azadirachta indica* et *Psidium guajava*. Cependant, l'infusion et la macération restent de bonnes méthodes d'extraction pour les deux plantes. La décoction est la meilleure méthode d'extraction des flavonoïdes totaux qui représentent 6,73 mg EQ/mL pour *Azadirachta indica* et 8,1 mg EQ/mL pour *Psidium guajava*. Concernant l'activité antioxydante, les extraits obtenus par décoction présentent l'activité antioxydante la plus importante indépendamment des plantes étudiées. Cette étude montre que l'extraction par décoction est la meilleure méthode pour extraire les flavonoïdes et obtenir la plus forte capacité antioxydante des extraits étudiés.

Mots clés : Méthode d'extraction, DPPH, Flavonoïdes, *Azadirachta indica*, *Psidium guajava*

Comparative study of three methods for extracting total flavonoids from the leaves of medicinal plants: *Azadirachta indica* and *Psidium guajava*

Abstract: Extraction is a very important step in the isolation and recovery of compounds of interest. It is influenced by several factors including the method used and the presence of interfering substances. The aim of this study is to compare three methods of extraction by assessing total flavonoid contents and antioxidant activities of leaves' extracts of *Azadirachta indica* and *Psidium guajava*. The extraction rates are determined from three extraction methods, namely maceration, infusion and decoction. The total flavonoid contents of the extracts obtained were determined using a spectrophotometric method and antioxidant activity was quantified using the DPPH method. The best extraction yields are recorded by decoction, with 16.3% for *Azadirachta indica* and 19.3% for *Psidium guajava*. However, infusion and maceration remain good extraction methods for both studied plants. Decoction therefore seems the best method for the extraction of total flavonoids (6.73 mg EQ/mL) for *Azadirachta indica* and (8.1 mg EQ/mL) for *Psidium guajava*. Concerning antioxidant activity, extracts obtained by decoction present the most important antioxidant activity independently of the studied plants. This study shows that extraction by decoction is the best method to extract flavonoids and obtain the highest antioxidant capacity of the extracts studied.

Keywords: extraction method, DPPH, Flavonoids, *Azadirachta indica*, *Psidium guajava*

* Auteur correspondant : Bohui Gouegoui Serge Pacôme : gouegoui.bohui@inphb.ci

1. Introduction

L'utilisation des plantes médicinales en thérapeutique à travers le monde est très ancienne et connaît actuellement un regain d'intérêt auprès de la population et cela malgré les progrès de la médecine moderne. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), plus de 80 % de la population mondiale a recours à la médecine dite traditionnelle pour faire face à ses problèmes de santé^[1]. Cet engouement s'explique par le fait que de nombreuses maladies sont traitées de manière satisfaisante et à moindre coût par les plantes. Ces plantes doivent leur pouvoir thérapeutique aux substances, dites actives qu'elles renferment. Pour évaluer l'activité biologique de ces plantes, il est impératif de recourir à des tests biologiques appropriés et à des méthodes de screening chimique adaptés^[2]. Dans la plupart des cas, l'activité biologique des métabolites secondaires est reconnue bien avant la détermination de leurs structures chimiques^[3]. Cependant, ces composés peuvent engendrer des effets bénéfiques, aussi bien que des effets néfastes, sur les organismes vivants. *Azadirachta indica* et *Psidium guajava* sont deux plantes médicinales largement utilisées par la population ivoirienne, voire africaine notamment dans la médecine traditionnelle. La valeur thérapeutique de ces plantes est due à ses métabolites secondaires, notamment les composés phénoliques. Les composés phénoliques (principalement flavonoïdes, acides phénoliques et tannins) constituent une richesse largement exploitée par les industries agro-alimentaire, cosmétique et pharmaceutique^[4]. L'extraction de principes actifs de ces métabolites est une étape très importante dans leur isolement, aussi bien que dans leur identification^[5]. La qualité alimentaire ou thérapeutique d'un extrait naturel est liée à l'efficacité et à la sélectivité du procédé d'extraction utilisé^[4]. Parmi les divers procédés utilisés, on compte la macération aqueuse, l'infusion et la décoction. L'extraction par décoction est un procédé utilisé traditionnellement par la population ivoirienne, soit dans la préparation de boissons comme le thé ou dans les préparations traditionnelles à base de plantes médicinales. L'objectif visé par ce travail est de comparer trois méthodes d'extraction de deux plantes couramment utilisées dans la médecine traditionnelle :

Azadirachta indica et *Psidium guajava*, par l'évaluation de leurs taux d'extraction, de leurs teneurs en flavonoïdes totaux et leur activité antioxydante.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de feuilles de trois plantes de *Azadirachta indica* et *Psidium guajava* Linn. Les feuilles ont été récoltées dans le mois de mars 2018 à Yamoussoukro (Côte d'Ivoire) et séchées à l'abri du soleil pendant dix (10) jours. Après 10 jours, elles ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique et réduites en poudre. Leur identification botanique a été confirmée par M. N'GUESSAN Amani, taxonomiste au laboratoire de botanique du département Agriculture et Ressources Animales de l'Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny de Yamoussoukro (INP-HB).

2.2. Extraction

Les extraits obtenus à partir de poudres ont été préparés selon les procédés classiques de préparation d'extraits utilisés en milieu villageois que sont l'infusion, la décoction et la macération. Cela a permis d'obtenir des extraits aqueux.

2.2.1. Décoction

Une prise d'essai de 10 g de poudre de chaque plante a été introduite dans un ballon contenant 100 mL d'eau distillée. L'ensemble a été maintenu en ébullition pendant 30 minutes. Après refroidissement et filtration, le filtrat a été concentré à l'évaporateur rotatif sous vide à 50°C. L'extrait a été ensuite mis à l'étuve à 46°C pendant 24 heures. Les essais ont été réalisés en triple. Les poudres obtenues ont été pesées puis conservées dans un flacon stérile hermétiquement fermé.

2.2.2. Infusion

Une prise d'essai de 10 g de poudre de chaque plante a été introduite dans un ballon contenant 100 mL d'eau distillée bouillante. L'ensemble a été maintenu pendant 30 minutes jusqu'au refroidissement. Après filtration, le filtrat a été concentré à l'évaporateur rotatif sous vide à 50°C. L'extrait a été ensuite mis à l'étuve à 46°C pendant 24 heures. Les essais ont été réalisés en triple. Les poudres obtenues ont été pesées puis conservées dans un flacon stérile hermétiquement fermé.

2.2.3. Macération aqueuse

Une prise d'essai de 10 g de poudre de chaque plante a été introduite dans un ballon contenant 100 mL d'eau distillée. L'ensemble a été maintenu sous agitation magnétique pendant 24 heures à la température ambiante. Après filtration, le filtrat a été concentré à l'évaporateur rotatif sous vide à 50°C. L'extrait a été ensuite mis à l'étuve à 46°C pendant 24 heures. Les essais ont été réalisés en triple. Les poudres obtenues ont été pesées puis conservées dans un flacon stérile hermétiquement fermé.

2.3. Détermination du rendement d'extraction

Le poids de l'extrait sec est déterminé par la différence entre le poids du ballon plein (après évaporation) et le poids du ballon vide (avant le transfert du filtrat à évaporer)^[6].

Rendement (%) = ((Masse d'extrait sec) *100) / (Masse de la matière végétale).

2.4. Détection des composés phénoliques et des flavonoïdes

Le but de ces tests est la mise en évidence des composés phénoliques et flavonoïdes présents dans les six solutions aqueuses obtenues (après l'évaporation et avant l'étuvage). Le protocole de chaque test est comme suit :

2.4.1. Détection des composés phénoliques (Réaction au FeCl₃)

2 mL de chaque solution dans un tube à essai et ajouter quelques gouttes de FeCl₃ à 10 %. La présence des composés phénoliques dans les extraits a été indiquée par l'apparition de la couleur vert-noirâtre.

2.4.2. Mise en évidence des flavonoïdes

La mise en évidence des flavonoïdes a été effectuée selon le protocole décrit par Békro et al.^[7] en y apportant quelques modifications. 2 mL de chaque phase aqueuse obtenue après chaque méthode d'extraction, ont été placés dans un tube à essai contenant de l'alcool chlorhydrique (4 mL éthanol + 1mL HCl concentré). Après ajout de 2 ou 3 copeaux de magnésium et l'addition de 3 gouttes d'alcool isoamylique, l'intensification d'une

coloration rose-orange ou violacée a indiqué la présence de flavonoïdes.

2.5. Préparation des solutions

Les extraits secs ont été pesés et dissous dans de l'eau distillée afin d'avoir des solutions aqueuses d'une concentration de 1 mg/mL pour tous les échantillons.

2.6. Dosage spectrophotométrique des flavonoïdes totaux

La méthode de Marinova *et al.*^[8] a été utilisée pour le dosage des flavonoïdes totaux. Dans une fiole de 25 mL, 0,75 mL de nitrite de sodium (NaNO₂) à 5% (m/v) a été ajouté à 2,5 mL d'extrait. Le mélange a été additionné de 0,75 mL de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 10% (m/v), puis incubé pendant 6 minutes à l'obscurité. Après l'incubation, 5 mL de soude (NaOH, 1N) ont été ajoutés puis le volume a été complété à 25 mL. Le mélange a été agité vigoureusement avant d'être dosé au spectrophotomètre Jasco V-530 (JASCO, Japon). La lecture a été faite à 510 nm. Les essais ont été réalisés en triple. La teneur en flavonoïdes a été exprimée en milligramme par litre d'extrait équivalent quercétine (mg EQ /mL).

2.7. Evaluation de l'activité antioxydante par DPPH

2.7.1. Principe du test de DPPH

La méthode de Blois^[9] a été utilisée avec quelques modifications pour la détermination du potentiel antioxydant. Cette méthode consiste à mesurer l'activité antiradicalaire par la technique de piégeage du radical au DPPH (2,2'-Diphényl-1-picrylhydrazyl). Le DPPH, (C₁₈H₁₂N₅O₆; PM= 394,33), est un radical libre stable soluble dans le méthanol (ou éthanol). D'une couleur violette intense, il présente un maximum d'absorbance à 517 nm. Lorsqu'une molécule antioxydante réduit le radical DPPH, la couleur violette disparaît rapidement pour donner une couleur jaune pâle.

2.7.2. Réduction du radical libre DPPH par dosage spectrophotométrie

L'activité antioxydante des extraits *in vitro* a été testée selon la méthode de Blois^[9] a été utilisée avec quelques modifications. Le test est effectué selon les étapes suivantes :

➤ **Préparation des extraits et de l'acide ascorbique**

Les extraits aqueux secs et l'acide ascorbique (antioxydant de référence) dissous dans le méthanol à une concentration de 1 mg/mL ont été dilués à différentes concentrations croissantes (0,025-0,05-0,1-0,2-0,3 mg/mL).

➤ **Préparation de la solution de DPPH**

Le DPPH a été solubilisé dans le méthanol absolu pour avoir une solution d'une concentration de $6,34 \cdot 10^{-5}$ M (0,0025g DPPH dans 100 mL méthanol). La solution obtenue a été conservée à l'abri de la lumière.

➤ **Détermination du potentiel antioxydant**

La détermination de pouvoir antioxydant est basée sur la réaction entre l'oxydant et l'antioxydant. Le spectrophotomètre UV-Visible de marque Jasco V-530 (JASCO, Japon) a été calibré à l'aide d'un blanc constitué de méthanol pur à une longueur d'onde de 517 nm. 1950 µL de la solution du DPPH, a été ajoutée à 50 µL de chaque extrait et de l'acide ascorbique préparé dans les mêmes conditions des extraits à tester. Après homogénéisation, le mélange a été incubé à la température ambiante (25°C) dans le noir, à l'abri de la lumière. Après 30 minutes d'incubation, l'absorbance des extraits testés a été lue à 517 nm contre celle d'un blanc qui ne contient que la solution méthanolique de DPPH. L'activité antiradicalaire des extraits testés correspondant au pourcentage d'inhibition (PI) du radical DPPH est calculé selon l'équation suivante :

$$PI (\%) = (A_0(\text{Absorbance du blanc}) - A(\text{Absorbance de l'extrait}) * 100) / (A_0(\text{Absorbance du blanc}))$$

Ou A_0 est l'absorbance du témoin négatif ; ce dernier contient du DPPH et du méthanol sans extrait. La concentration d'inhibition IC_{50} (mg/mL) qui

correspond à la concentration de l'extrait des feuilles où l'antioxydant de référence responsable de 50% d'inhibition des radicaux DPPH, permet d'évaluer le pouvoir antioxydant de l'extrait analysé.

2.8. Analyse statistique

La représentation graphique des données a été réalisée grâce au logiciel Graph Pad Prism 5.0 et Microsoft office Excel 2016. La valeur moyenne est accompagnée de l'erreur standard sur la moyenne (Moyenne ± SEM). La différence entre deux valeurs est considérée comme significative lorsque $P < 0,05$. L'analyse statistique des résultats a été réalisée en utilisant l'analyse des variances (ANOVA). Lorsqu'une différence significative est observée, des tests de comparaison multiple de Tukey et de Dunnetts ont été effectués.

3. Résultats et discussion

3.1. Tests phytochimiques

Les tests phytochimiques permettent de mettre en évidence l'existence des composés phénoliques et flavonoïdes dans la matière végétale broyée des feuilles de *Azadirachta indica* et *Psidium guajava*. Deux tests préliminaires ont été réalisés: il s'agit de la réaction au $FeCl_3$ et la réaction à la cyanidine. Les résultats de ces deux tests sont représentés dans le tableau I.

Les résultats obtenus nous indiquent clairement la présence des composés phénoliques et des flavonoïdes dans les extraits des deux plantes quel que soit le mode d'extraction. Cela est caractérisé par une réponse positive au test de chlorure ferrique ($FeCl_3$) et au test à la cyanidine respectivement pour les composés phénoliques et les flavonoïdes. Les composés phénoliques se sont confirmés par l'apparition d'une coloration vert-noirâtre et les flavonoïdes par une coloration orange. Ce résultat est en accord respectivement avec celui de Mondal et al.^[10] sur *Azadirachta indica* et celui de Biswas et al.^[11] sur *Psidium guajava*.

Tableau I : Mise en évidence des composés phénoliques et flavonoïdes

Extraits	Mode d'extraction	Flavonoïdes	Polyphénols
<i>Azadirachta indica</i>	Macération	+	+
	Infusion	+	+
	Décoction	+	+
<i>Psidium guajava</i>	Macération	+	+
	Infusion	+	+
	Décoction	+	+

(+) : Présent ; (-) : Absent

3.2. Etude comparative des techniques d'extraction des flavonoïdes

Dans cette étude, nous avons utilisé trois méthodes d'extraction : la macération en milieu aqueux, l'infusion et la décoction. Au total, nous avons obtenu six extraits secs avec lesquels les différents tests ont été effectués. L'étude comparative des ces trois méthodes d'extraction a porté sur : Le rendement d'extraction, le dosage quantitatif des flavonoïdes totaux et l'évaluation de l'activité antioxydante de ces extraits.

3.2.1. Extraction des plantes

A partir des deux plantes sélectionnées, six extraits ont été obtenus. Le tableau II indique les rendements obtenus pour chaque extrait de plante.

Tableau II : Rendements d'extraction des extraits obtenus à partir des feuilles de *Azadirachta indica* et *Psidium guajava* à différents modes d'extraction

Plantes	Rendement d'extraction (%)		
	Par décoction	Par infusion	Par macération
<i>Azadirachta indica</i>	16,30 ± 0,17 ^a	14,30 ± 0,23 ^b	15,10 ± 0,15 ^b
<i>Psidium guajava</i>	19,30 ± 0,35 ^a	15,90 ± 0,28 ^b	15,50 ± 0,28 ^c

Les résultats des rendements sont exprimés en moyenne ±SD, n=3 pour chaque extrait.

Les rendements d'extraction des deux plantes étudiées par les trois méthodes d'extraction sont présentés dans la figure 2. Il ressort de cette figure que :

- Pour *Azadirachta indica*: le meilleur rendement d'extraction des trois méthodes utilisées, est la décoction avec un taux d'extraction moyen de 16,30 %, suivi de la macération avec 15,10% et de l'infusion avec 14,30%. Statistiquement, la décoction ne diffère pas significativement de la macération, l'infusion quant à elle, ne diffère pas significativement de la macération. Cependant, la méthode d'extraction par décoction diffère significativement de l'extraction par macération.

Cette différence entre la macération et les deux autres méthodes d'extraction pourrait être due au temps d'extraction, qui est long dans le cas de la macération (24 heures) par rapport aux autres méthodes. Ce résultat concorde avec celui de Mahmoudi Souhila et al.^[5] sur l'étude d'Artichaut et similaire à celui de Konkou et al.^[12], lors de l'étude de l'identification des groupes de constituants chimiques présentant un intérêt pharmacologique, ils ont testé trois modes d'extraction à savoir la décoction, l'infusion et la macération. Ils ont trouvé que la méthode d'extraction par décoction du point de vue

qualitative, est aussi efficace que les autres méthodes d'extraction (macération et infusion).

- Concernant *Psidium guajava*, le meilleur rendement d'extraction des trois méthodes utilisées, est la décoction avec une moyenne de 19,3 % suivi de l'infusion et de la macération avec en moyenne 15,9% et 15,50% respectivement. Statistiquement, il y a une différence significativement entre la méthode d'extraction par décoction et les deux autres méthodes notamment de l'infusion et la macération (P<0,05). Toutes fois l'infusion et la macération restent une bonne méthode d'extraction et enregistrent les mêmes rendements car elles ne diffèrent significativement (P>0,05). Le résultat trouvé par Lehout et al.^[14] sur l'étude de *Artemisia herba* diffère de la nôtre, il a plutôt trouvé que c'est l'infusion qui enregistre le rendement le plus élevé suivi de la décoction et la macération.

3.2.2. Dosage des flavonoïdes totaux et calcul des rendements en flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes des extraits a été obtenue à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec la quercétine comme étalon (Figure 1). Elle est exprimée en mg d'équivalent de quercétine par mL d'extrait.

Les résultats du dosage des teneurs en flavonoïdes et les calculs des rendements en flavonoïdes sont indiqués dans le tableau III.

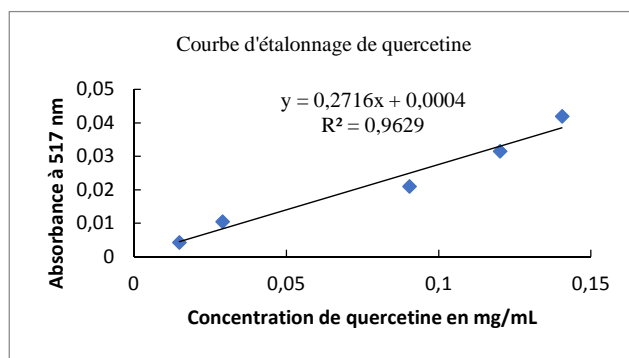


Figure 1 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes

Tableau III : Teneur en flavonoïdes dans différentes parties de la fleur d'artichaut extraits par décoction et par macération (mg EQ/mL).

Plantes	Teneur en flavonoïdes (mg EQ / mL)		
	Par décoction	Par infusion	Par macération
<i>Azadirachta indica</i>	6,73 ± 0,02 ^a	6,34 ± 0,02 ^b	6,67 ± 0,04 ^a
<i>Psidium guajava</i>	8,10 ± 0,02 ^a	7,62 ± 0,02 ^b	7,80 ± 0,01 ^c

Les résultats des teneurs en flavonoïdes sont exprimés en moyenne ±SD, n=3 pour chaque concentration.

-Ce résultat pourrait être dû au temps d'extraction. En effet, le temps est très long dans le cas de la macération (24 heures) par rapport à la décoction (30 min) et pourrait entraîner la dégradation de certaines substances naturelles comme les flavonoïdes. Ce résultat diffère de celui trouvé par Mahmoudi Souhila et al.^[5] sur l'étude d'Artichaut. Ils ont montré que la macération serait préférable pour extraire les flavonoïdes par rapport à la décoction. Cependant, la décoction et la macération semblent être préférables pour extraire les flavonoïdes par rapport à l'infusion. Cela est matérialisé par la différence significative observée des deux méthodes d'extraction (la décoction et la macération) avec l'extraction par infusion ($P < 0,05$).

- Pour *Psidium guajava*, les résultats de la teneur en flavonoïdes totaux du décocté, de l'infusé et du macérat obtenu par les trois modes d'extraction montrent que la décoction est préférable pour extraire les flavonoïdes à savoir une moyenne de 8,10 mg EQ/mL contre 7,90 mg EQ/mL en moyenne pour l'infusion suivie de la macération avec une moyenne de 7,60 mg EQ/mL. Statistiquement la différence entre les teneurs en flavonoïdes totaux en fonction des différentes méthodes d'extraction est hautement significative ($P < 0,01$). Cette différence pourrait s'expliquer par le temps d'extraction, qui est long dans le cas de la macération (24 heures) par rapport aux autres méthodes (30 min).

En effet, selon Rhazi et al.,^[15] la prolongation du temps d'extraction peut diminuer le rendement de l'extrait et pourrait entraîner la dégradation de certaines substances naturelles comme les polyphénols et les flavonoïdes. Ce résultat diffère de celui de Mahmoudi Souhila et al.^[5] sur l'étude d'Artichaut qui ont trouvé que la macération serait préférable pour extraire les flavonoïdes par rapport à la décoction.

4. Réduction du radical libre 2,2-Diphényl-1 picrylhydrazyl (DPPH) par dosage spectrophotométrique

La détermination du pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction de la concentration en acide ascorbique (substance de référence) et des extraits testés a été effectuée à partir des courbes illustrées par la figure 2. La valeur de l'IC₅₀ trouvée pour l'acide ascorbique est égale à 0,25 mg/mL. Les résultats de la réduction du radical DPPH par tous les extraits sont illustrés par la figure 3. D'après les résultats, la décoction présente l'activité antioxydante la plus importante indépendamment des plantes étudiées. Cela justifierait l'intérêt de cette technique d'extraction par les tradipraticiens lors de l'utilisation de ces plantes pour se soigner, car les extraits obtenus sont sources d'activités antioxydantes.

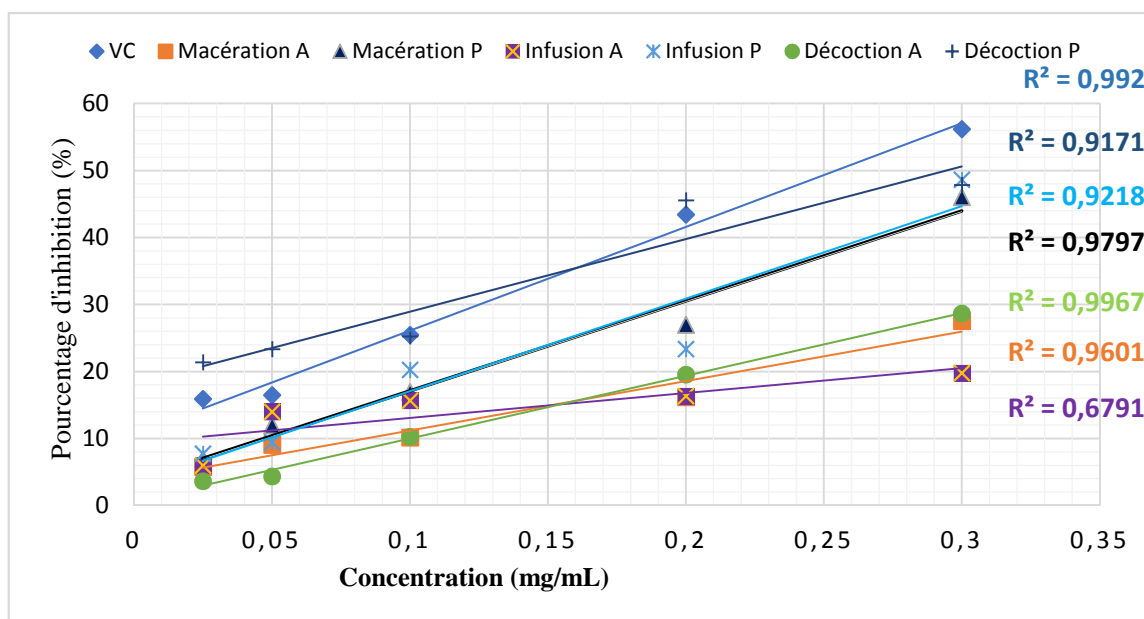


Figure 2 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration en acide ascorbique et des extraits étudiés

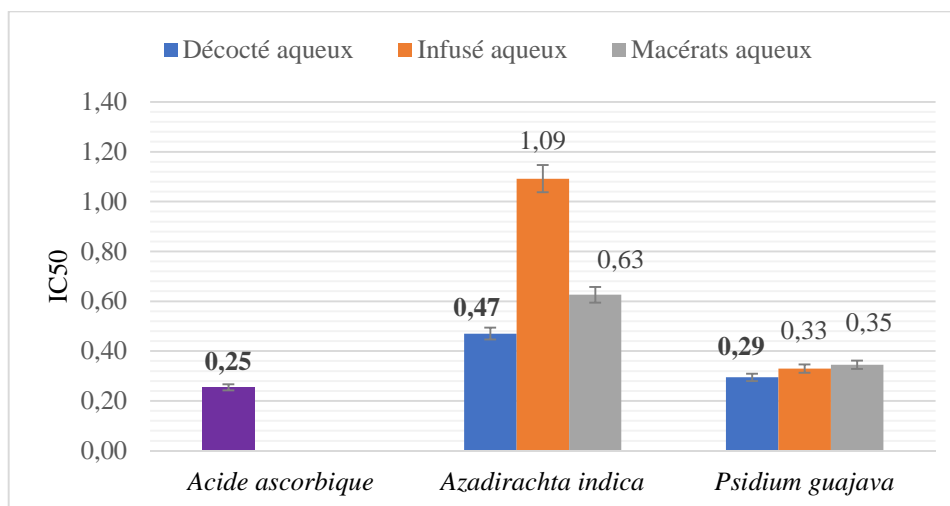


Figure 3 : Histogrammes représentant les valeurs d'IC₅₀ des extraits avec l'acide ascorbique

5. Variations de l'activité antioxydante et teneur en flavonoïdes totaux à différents modes d'extraction chez *Azadirachta indica* et *Psidium guajava*

Les variations de l'activité antioxydante et de la teneur en flavonoïdes totaux dans les extraits aqueux

des feuilles de *Azadirachta indica* et de *Psidium guajava* sont illustrées par les figures 4 et 5. Il ressort à travers l'observation des figures 4 et 5 que l'extraction par décoction est la meilleure méthode pour extraire les flavonoïdes et obtenir la plus forte capacité antioxydante des extraits étudiés.

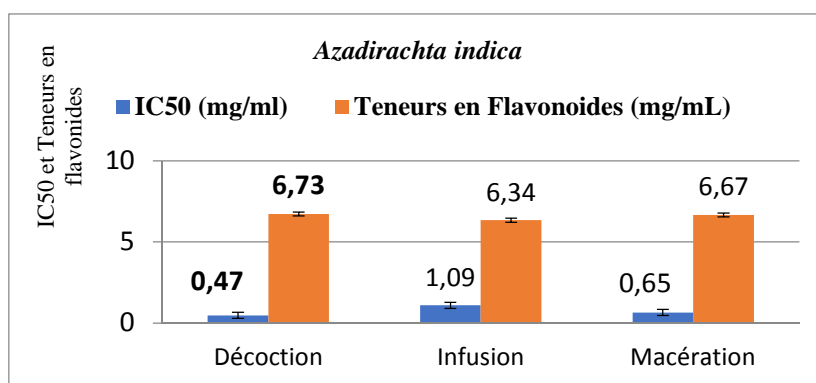


Figure 4 : Histogrammes montrant l'activité antioxydante et la teneur en flavonoïdes dans l'extrait aqueux des feuilles de *Azadirachta indica* à différents modes d'extraction

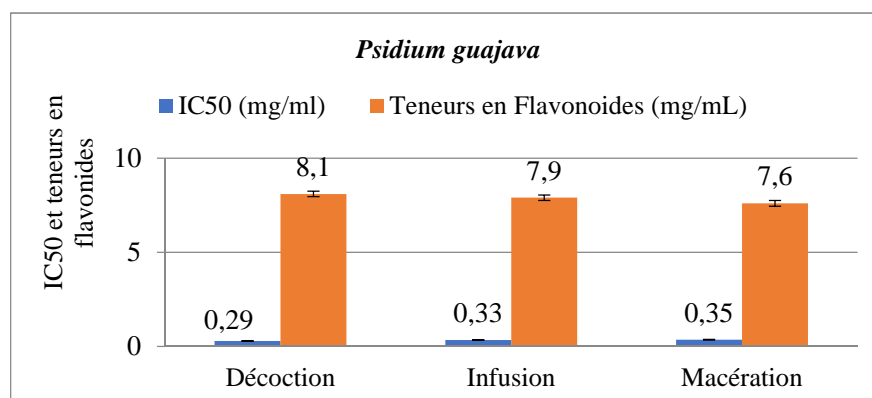


Figure 5 : Histogrammes montrant l'activité antioxydante et la teneur en flavonoïdes dans l'extrait aqueux des feuilles de *Psidium guajava* à différents modes d'extraction

6. Corrélation entre la teneur en flavonoïdes et l'activité antioxydante de ces plantes

Les figure 6 et figure 7 montrent qu'il existe une bonne corrélation linéaire entre les teneurs en flavonoïdes et les activités antioxydantes des extraits issus des différents modes d'extraction chez les deux plantes étudiées à savoir *Azadirachta indica* ($R^2=0,9784$) et *Psidium guajava* ($R^2=0,7984$). Cela laisse suggérer que les flavonoïdes sont des contributeurs majeurs dans l'activité antioxydante.

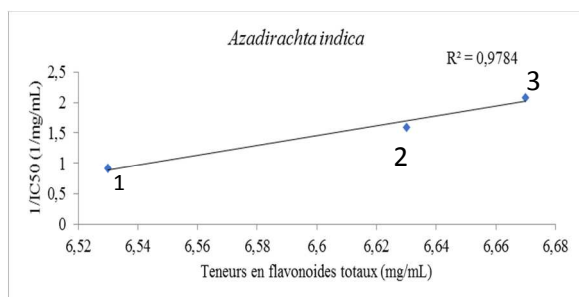


Figure 6 : Corrélation entre l'activité antioxydante chez *Azadirachta indica* et le teneur en flavonoïdes (1 : Macération, 2 : Infusion, 3 : Décoction)

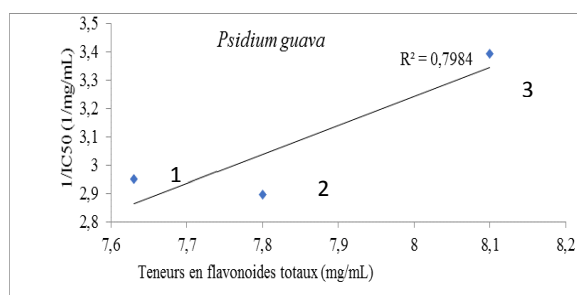


Figure 7 : Corrélation entre l'activité antioxydante chez *Psidium guajava* et le teneur en flavonoïdes. (1 : Macération 2 : Infusion, 3 : Décoction)

7. Conclusion

Le présent travail avait pour but de faire une étude comparative de trois techniques d'extraction des flavonoïdes contenus dans deux plantes médicinales, *Azadirachta indica* et *Psidium guajava*. Il s'agit, en l'occurrence, de l'extraction par macération aqueuse à température ambiante pendant 24 heures, l'extraction par infusion, pendant 30 min, et l'extraction par décoction, pendant 30 min. La comparaison porte sur le rendement d'extraction en flavonoïdes et l'évaluation de l'activité antioxydante.

Du point de vue phytochimique, ces deux plantes médicinales sont riches en composés phénoliques et en flavonoïdes, comme en témoigne l'apparition de

coloration vert-noirâtre et orange, par addition de $FeCl_3$ et de cyanidine, respectivement.

Les résultats de l'étude comparative montrent que le rendement d'extraction de ces composés le plus élevé a été obtenu par la décoction chez les deux plantes, suivi par la macération et l'infusion chez *Azadirachta indica*, puis de l'infusion et la macération chez *Psidium guajava*.

Au niveau de l'activité anti radicalaire, elle diffère en fonction de l'extrait. Ainsi, l'extraction par décoction est en accord avec son meilleur rendement d'extraction.

Cette étude montre que de la méthode d'extraction par décoction est la meilleure méthode d'extraction rapport aux deux autres méthodes pour extraire les flavonoïdes et obtenir la plus forte capacité antioxydante des extraits aqueux obtenus chez les deux plantes. Néanmoins, ce résultat, obtenu pour *Azadirachta indica* et *Psidium guajava*, reste à confirmer pour les autres plantes médicinales.

Bibliographies

- [1] OMS. Fact sheet on traditional medicine. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs134/en/> (2008). Consulté le 15 juin 2015 à 09 heures.
- [2] Tyihák E., Móricz ÁM., G.Ott P., Biodetection and Determination of Biological Activity of Natural Compounds in Thin Layer Chromatography in Phytochemistry. CRC Press (2007).
- [3].Sofowera A., Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Karthala, Economie et Développement. Paris (2010):384.
- [4].Nkhili E., Polyphénols de l'alimentation : extraction, interactions avec les ions du fer et du cuivre, oxydation et pouvoir antioxydant. Université Cadi Ayyad - Marrakech, (2009).
- [5].Mahmoudi S., Khali M., Mahmoudi N., Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*cynara scolymus* l.). Nature & technologie. b- sciences agronomiques et biologiques (2013); N° 09 35.
- [6]. Mohammedi Z., Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Tlemcen: Université Abou Bakr Belkaïd, (2005).
- [7].Békro YA., Boua BB., Bi FHT., Ehile EE., Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthiana* (Baill.) Herend. Et Zarucchi (Caesalpinaceae). Sciences et Nature (2007);4:217.
- [8]. MARINOVA D., RIBAROVA F., ATANASSOVA M., Total phenolics in bulgarian Fruits and vegetables. Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy (2005);40:255.
- [9].Blois MS., Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature 26 1(958):1199.

[10]. Mondal D., Mondal T., A Review on efficacy of *Azadirachta indica* A. Juss based biopesticides: An Indian perspective. *Res. J. Recent Sci* (2012);1:94.

[11]. Biswas B., Rogers K., McLaughlin F., Daniels D., Yadav A., Antimicrobial Activities of Leaf Extracts of Guava (*Psidium guajava* L.) on Two Gram-Negative and Gram-Positive Bacteria. *International Journal of Microbiology* 2013;(2013):7

[12]. Konkon NG., Simaga D., Adjoungova A., Etude phytochimique de *Mitragyna inermis* (Willd.) O. Ktze (Rubiaceae), plante à feuille antidiabétique. *Pharm Méd Trad Afr* (2006);14:73.