



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

N° d'ordre :

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

N° de série :

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي

Université Echahid Hamma Lakhdar EL-OUED

كلية علوم الطبيعة والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

THEME

**Contribution à l'étude de quelques activités biologiques
de *Vitis vinifera* cultivée dans la région d'El Oued**

Présenté par :

- SOLTANI Imane
- KHEZZANE Dalal
- HOUITI Kaouthar

Devant le jury composé de:

Présidente :	SALEMI Said	MAA	Université Echahid Hamma Lakhdar D'El-Oued
Examinatrice :	ZEGHIB Khaoula	MCB	Université Echahid Hamma Lakhdar D'El-Oued
Promotrice :	BOUKHARI Dalal	MAA	Université Echahid Hamma Lakhdar D'El-Oued



Dédicace

Je dédie ce modeste travail...

À la chose la plus précieuse que j'ai, à ceux qui m'enseignent les principes de
la science et de la connaissance

Cher Père Khalifa

Ma chère mère Naima

A leurs yeux, ma joie et leur joie dans ma vie, mes frères Madyan et Abd
alhalim et Mohammed Alkotb

A mes soeurs Tharwa et son mari, Paktia et son fiancé

A la compagne de mon chemin, mon soutien, et mon cher époux Ammar

Et aux dons les plus précieux du Miséricordieux, ma fille Ferdows et mon
petit Yaman

Et tous mes amis au travail et ceux qui ont contribué jusqu'à m'aider

A tous ma famille de près ou loin

A toutes mes amies

A tous ceux qui me connaissent

DALAL





Dédicace

À nom de dieu le tout puissant, je dédie ce modeste travail :

À mes chers parents qui m'ont éclairé le chemin de la vie par leur grand soutien et leurs encouragements, par leurs dévouements exemplaires et les énormes sacrifices qu'ils m'ont consentis durant Mes études et qui ont toujours aimé me voire réussir.

mon père: Soltani Mouldi.

Ma mère : Hammana Nacira.

À mes frères : Ali.

À mes très aimables soeurs: Hadjar, Houda.

J'offre également mes sentiments d'amour et d'appréciation les plus sincères à Mon mari : Djedidi Yakoub. Pour ses encouragements et son soutien continu pour terminer mes études et son sacrifice constant, et à mes enfants Amir et Adam, l'âme de mon cœur.

Mes adorables amis en mémoire et tous mes amis SNV

Que ce travail soit le témoignage sincère et affectueux de ma profonde.

Je dédie ce modeste travail...

IMANE





Dédicace

À MON TRES CHER PERE El habib. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour vous.

Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi. Qu'Allah, le tout miséricordieux, te préserve, t'accorde santé et bonheur.

À MA TRES CHERE MERE Nacira. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte.

Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

À MON MARI, mon compagnon et mon soutien après Dieu, Mahmoud.

À MES CHERS FRERES Rostom, Mohammed, Khalifa et Abdelhak.

À MON ADORABLE SŒUR Maria qui a été toujours à mes cotés surtout au moment difficiles.

À MON ADORABLE FILLE Oummama.

À MES CHERE AMIES qui ont partagées avec moi les moments les plus beaux et les plus inoubliables.

À toutes mes enseignants.

À tous ceux qui me sont chers et que j'ai omis de citer.

KAOUTHA



Remerciements

Tout d'abord , nous remercions « ﷻ » qui nous a aidé a avoir la patience, le courage, la force et la volonté pour réaliser ce modeste travail, atteindre notre but et réaliser ainsi notre beau rêve.

Au terme de ce travail, il nous est agréable d'exprimer notre profonde reconnaissance et notre gratitude aux personnes qui ont contribué à faciliter notre tâche et la mener à terme. Par ailleurs je tiens à

remercier:

Notre encadreur BOUKHARI Dalal, maitre de conférences au Département de Biologie, Université Echahid Hamma Lakhder d'El-Oued, Notre promoteur, qui nous a encadrées tout au long de ce travail en nous faisant bénéficier de ses connaissances scientifiques et de ses conseils. Nous lui exprimons notre profonde gratitude pour l'aide qu'il nous a fournie afin de réaliser ce travail. Merci de la confiance que vous nous avez accordée, de votre soutien, et de votre humanité, espérant avoir été à la hauteur.

Un grand merci au aux membres du jury, SALEMI Said et ZEGHIB Khaoula d'avoir accepté de juger ce travail.

Nous tenons à remercier particulièrement Melle GOUBI Sana ingénieur du laboratoire de la faculté des sciences de la nature et de la vie . Merci également, Laboratoire El-Medjed d'Analyses Médicales, sous la supervision du Docteur Hamza Zaoui, et son équipe médicale de nous avoir aidé.

Résumé

ملخص

Abstract

Résumé

Les vignes cultivées sont toutes du genre *Vitis* qui est composé d'environ quatre-vingts espèces de l'ordre des Rhamnales, appartenant à la famille des Vitacées. L'objectif visé par notre étude est la contribution à l'étude phytochimique et l'évaluation de quelques activités biologiques d'un extrait hydrométhanolique des feuilles de la vigne cultivée dans les oasis (région Ormas wilaya d'EL oued).

Cette plante subi une extraction par macération méthanol/eau (70/30) pour obtenir l'extrait hydrométhanolique brut, Le rendement étaient égal 17.17 %.

Le screening phytochimique mis en évidence la présence des : flavonoïdes, des tanins catéchiques, des alcaloïdes, polyphenols, quinones, sucre réducteurs. Le dosage quantitatif a montré une concentration de polyphénols de 56.574 ± 0.17 μg EAG/mg MS, la concentration des flavonoïdes totaux de l'ordre de 10.10 ± 1.16 $\mu\text{gEQ/mg}$ MS, la concentration des tanins condensés de l'extrait de l'ordre de 53.41 ± 1.95 $\mu\text{gEAG/mgMS}$. Notre extrait n'a pas un effet inhibiteur sur la croissance de *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae*, mais il a un effet inhibiteur faible sur les deux autres souches *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. L'activité antioxydant de notre extrait a été évaluée par test DPPH donne une Valeur d' IC50 de 0.6273 mg/ml.

Mots-clés : vigne, étude phytochimique, l'extrait hydrométhanoliques, activité antibactérienne, activité antioxydant.

المخلص

جميع الكروم المزروعة هي من جنس *Vitis* الذي يتكون من حوالي ثمانين نوعاً من رتبة Rhamnales ، تنتمي إلى عائلة Vitaceae. الهدف من دراستنا المساهمة في الدراسة الكيميائية النباتية للمستخلص الهيدروميثانولي لأوراق نبات *Vitis vinifera* المزروع في الواحات (منطقة ورماس ولاية الوادي).

خضعت هذه النبتة لعملية استخلاص بالميثانول / الماء (30/70) للحصول على المستخلص الخام الميثانول، كان مردود الاستخلاص 17.17%.

كشف الفحص الكيميائي النباتي عن وجود: مركبات الفلافونويد ، ومضادات الأكسدة ، والعفص ، والقلويدات ، والبوليفينول ، والكينون ، وتقليل السكر. أظهر الفحص الكمي تركيز بوليفينول 0.17 ± 56.574 ميكروغرام / ملغ EAG / ملغ MS ، تركيز إجمالي الفلافونويد حوالي 10.10 ± 1.16 ميكروغرام / ملغ MS، تركيز التانينات المكثفة من مستخلص حوالي 53.41 ± 1.95 ميكروغرام / ملغ EAG / ملغ MS ليس لمستخلصنا تأثير مثبت على نمو *Pseudomonas aeruginosa* و *Klebsiella pneumoniae* ، لكن له تأثير مثبت ضعيف على السلالتين الأخريين من *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus*. تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصنا عن طريق اختبار DPPH بإعطاء قيمة IC50 ب 0.6273 ملغ/مل.

الكلمات المفتاحية: كرمة، دراسة كيميائية نباتية، مستخلص هيدروميثانول ، ، نشاط مضاد للجراثيم ، نشاط مضاد للأكسدة.

Abstract:

The cultivated vines are all of the genus *Vitis* which is composed of about eighty species of the order Rhamnales, belonging to the Vitaceae family. The objective of our study is the contribution to the phytochemical study and the evaluation of some biological activities of a hydro methanolic extract of the leaves of the vine cultivated in the oases (Ormas region of El oued wilaya).

This plant underwent an extraction by methanol / water maceration (70/30) to obtain the crude hydromethanolic extract, the yield was equal to 17.17%.

phytochemical screening revealed the presence of: flavonoids, catechic tannins, alkaloids, polyphenols, quinones, reducing sugar. The quantitative assay showed a concentration of polyphenols of 56.574 ± 0.17 $\mu\text{g EAG/mg DM}$, the concentration of total flavonoids of around 10.10 ± 1.16 $\mu\text{gEQ/mg DM}$, the concentration of condensed tannins from the extract of around of 53.41 ± 1.95 $\mu\text{gEAG/mgMS}$.our extract does not have an inhibitory effect on the growth of *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae*, but it has a weak inhibitory effect on the other two strains of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The antioxidant activity of our extract was evaluated by DPPH test giving an IC_{50} value of 0.6273 mg/ml.

Key words: vine, phytochemical study, hydromethanolic extract, antibacterial activity, antioxidant activity.

Liste des figures

N°	Titres	Page
01	Classification phylogénétique des principales espèces de <i>Vitis</i>	07
02	Morphologie du cep de vigne	08
03	Racines de la vigne	09
04	Morphologie et anatomie d'un rameau de vigne	09
05	Feuilles de la vigne	10
06	Grappe de vigne	11
07	Représentation graphique du cycle végétatif, reproducteur et d'aoûtement de la vigne.	12
08	Structure du noyau phénol	14
09	Structure des acides hydroxybenzoïques et hydroxycinnamiques.	15
10	Les différentes classes des flavonoïdes	17
11	Structure d'un tanin condensé	18
12	Déséquilibre Antioxydant /Oxydant	23
13	les antioxydants enzymatiques et non enzymatiques	28
14	Schéma illustrant la démarche expérimentale suivie dans cette étude	38
15	Situation géographique de La zone d'étude	40
16	Localisation de la commune d'Ourmas dans la wilaya d'El Oued	41
17	différentes étapes d'obtention de la poudre des feuilles de <i>Vitis vinifera</i>	46
18	Schéma représentative des étapes d'extraction des composés phénoliques	48
19	Structure de la quercétine	51
20	Protocole d'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait	56

	végétal	
21	Réaction du test DPPH (2.2 Diphenyl 1 picryl hydrazyl)	57
22	courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux	64
23	Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des flavonoïdes totaux (FVT)	65
24	Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des tanins condensés(TC).	66
25	Les zones d'inhibition d' <i>Escherichia coli</i> par <i>Vitis vinifera</i> en fonction de concentration de l'extrait en comparaison avec l'antibiotique témoin	68
26	Les zones d'inhibition de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> par <i>Vitis vinifera</i> en fonction de la concentration de l'extrait en comparaison avec l'antibiotique témoin	69
27	Les zones d'inhibition de <i>Klebsiella pneumoniae</i> par <i>Vitis vinifera</i> en fonction de concentration de l'extrait en comparaison avec l'antibiotique témoin	70
28	Les zones d'inhibition de <i>Staphylococcus aureus</i> par <i>Vitis vinifera</i> en fonction de concentration de l'extrait en comparaison avec l'antibiotique témoin	71
29	Les zones d'inhibition de l'extrait de la plante étudiée en comparaison entre les différentes espèces bactériennes	71
30	Pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction des concentrations d'acide ascorbique	73
31	Pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction des concentrations de l'extrait des feuilles de <i>Vitis vinifera</i>	74
32	Les valeurs des concentrations inhibitrices IC50 de l'extrait étudié et d'acide ascorbique en mg/ml.	74

Liste des photos

N°	Titres	Page
01	Matériel végétal utilisé: feuilles séchées de <i>Vitis vinifera</i>	42
02	Les quatre souches bactériennes utilisées	43
03	Milieu de culture (gélose Mueller Hinton).	45
04	Boîte de pétrie contenant gélose Muller Hinton.	54
05	L'aspect de l'extrait brut des feuilles de la plante étudiée.	60

Liste des tableaux

N°	Titres	Page
01	Position taxonomique de la vigne	06
02	Liste de quelques espèces réactives	24
03	les différents tests pour la mesure de la capacité antioxydante globale	30
04	Caractères de la plante étudiée.	42
05	Classification et caractéristiques des souches bactériennes utilisées.	43
06	Les caractères organoleptiques de nos extraits.	60
07	Résultats des tests phytochimiques de l'extrait de la plante étudiée	62
08	Résultat de l'activité antibactérienne de l'extrait sur les bactéries <i>Escherichia coli</i> .	67
09	Résultat de l'activité antibactérienne de l'extrait sur les bactéries <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	68
10	Résultat de l'activité antibactérienne de l'extrait sur les bactéries <i>Klebsiella pneumoniae</i> .	69
11	Résultat de l'activité antibactérienne de l'extrait sur les bactéries <i>Staphylococcus aureus</i> .	70

LISTE DES ABREVIATIONS

% : pourcent.

°C : Degré Celsius.

µg : microgramme

µl : microlitre.

Ac: Absorbance du control

Ae: Absorbance mesuré de l'extrait.

AlCl₃: Trichlorure d'aluminium.

ATCC : American Type Culture Collection.

C₁₅H₁₀O₇: Quercétine d'hydrate.

cm : centimètre.

DI : Diamètre d'inhibition

DMSO : Diméthyle sulfoxyde.

DPPH : diphénylpicryl-hydrate.

DPPH: 1,1-diphényle-2-picrylhydrazyl

GSH: Glutathion réduit

GPx: Glutathion peroxydase

GSSG: Glutathion-disulfure

NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit

RLs: Radicaux libres

ROS: Espèces réactives oxygénées

UV : Ultra-viole

FeCl₃: Chlorure Ferrique .

FVT: Flavonoïdes totaux.

µg EQ/mg MS : Microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme de matière sèche.

G : gentamicine.

GN : Gélose nutritive.

H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène

H₂SO₄ : Acide Sulfurique.

H₃PMo₁₂O₄₀ : Phosphomolibdique .

H₃PW₁₂O₄₀ : Acide Phosphotungstique.

HCl : Chlorure d'hydrogène.

IC : Concentration d'inhibition.

KLP : Klipseilla pneumoniae .

km² : Kilomètre carré

lb : Libra.

mg: milligramme.

ml : millilitre.

mm : millimètre.

MS: matière sèche.

NA : Non activité.

E. coli : Escherichia coli.

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium.

NaOH : Hydroxyde de sodium.

NCCLS : National Comite for Clinical Laboratory Standards.

NH₄OH : Hydroxyde d'ammonium.

nm : nanomètre.

min : minute.

OH : Groupement hydroxyle.

P : Poids

PPT : Polyphénols totaux.

PS : Pseudomonas aeruginosa.

R : Rendement.

SA : Staphylococcus aureus.

TC : Tanins condensé.

UV-Vis : Ultra-Violet-Visible.

V/V : Volume/Volume.

µg EAG/ mg MS : Microgramme d'équivalent d'acide gallique par milligramme de matière sèche.

SOMMAIRE

Dédicaces
Remerciement
Résumé
Liste des figures
Liste des photos
Liste des tableaux
Introduction

Partie I : Synthèse Bibliographique

Chapitre 01

Vigne et Métabolites Secondaires

I.1. Définition	5
I.2. Historique.....	5
I.4. Classification botanique du vigne	6
I.5. Description Botanique du vigne.....	6
I.5.1 Système racinaire de la vigne.....	7
I.5.2. Tiger	8
I.5.3. Rameaux.....	8
I.5.4. Feuilles	9
I.5.5. Bourgeons	9
I.5.6. Fleurs.....	10
I.5.7. Fruit	10
I.6. Cycles de développement de la vigne	10
I.6.1. cycle végétatif	11
I.6.2. cycle reproducteur.....	11
I.6.3. Aoûtement	12
I.7. Vigne en Algérie	12
II. Metabolite secondaire (M2).....	12
II.1. Définition des métabolites secondaires.....	12
II.2. Fonction	13

II.3. Classification	13
II.3.1. Les composés phénoliques.....	13
II.3.1.1. Polyphénols.....	13
II.3.1.2. Classification des composés phénoliques	14
III.3.1.2. Les flavonoïdes.....	15
II.3.1.2.1. Structure.....	15
III.3.1.2.2. Classification	15
II.3.1.3. Tanins.....	16
II.3.1.3.1. Classification	16
II.3.2. Propriétés biologiques des composés phénoliques	17
II.3.2. Terpénoïdes.....	19
II.3.3. Alcaloïdes	19

Chapitre 02 Quelques activités biologiques

I. Activité anti oxydante	22
I.1. Stress oxydant	22
I.2. Radical libre	23
I.3. Antioxydants	25
I.3.1. Définition	25
I.3.2. Classification des antioxydants	25
I.3.2.1. Systèmes antioxydants enzymatiques (endogène)	25
I.3.2.1.1. Superoxyde dismutase.....	25
I.3.2.1.2. Catalase	26
I.3.2.1.3. Glutathion peroxydase	26
I.3.2.1. Systèmes antioxydants non enzymatiques (exogène)	26
I.3.2.1.1. Système glutathion	26
I.3.2.1.2. Acide urique	27
I.3.2.1.3. Autres anti-oxydants	26
I.3.3. Mécanismes d'action des antioxydants	288
I.3.4. Méthodes utilisées pour l'activité antioxydante.....	29
I. 3.5. Effet des antioxydants sur la santé humaine	31
I.3.6. Utilisation des antioxydant.....	31
II. Activité antibactériennes.....	31
II.1. Généralités	31
II.2. Rappel sur les bactéries.....	32
II.3. Infections bactériennes	32

II.4. Caractéristiques des souches bactériennes utilisées.....	33
II.5. Antibiotiques.....	34
II.5.1. Définition	34
II.5.2. Résistance des antibiotiques	34

Partie II Expérimentale

Chapitre 1 Matériel et Méthode

I. Matériel	39
I.1. Zone d'étude.....	38
I.1.1. Localisation géographique de la région d'étude	39
I.2. Matériel végétal.....	40
I.3. Souches bactériennes	40
I.4. Antibiotique témoin.....	41
I.5. Matériels techniques d'étude au laboratoire	41
I.6. Milieu de culture.....	43
II. Méthodes.....	خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.
II.1. Récolte, séchage et broyage.....	43
II.2. Extraction des composés phénoliques	44
II.2.1. Préparation de l'extrait.....	44
II.2.2. Rendement d'extraction.....	46
II.3. Analyse qualitative de l'extrait (screening phytochimique)	47
II.4. Analyse quantitatives	48
II.4.1. Dosage des polyphénols totaux (PPT)	48
II.4.2. Dosage des flavonoïdes totaux (FVT)	49
II.4.3. Dosage des tanins condensés (TC)	50
II.5. Activités biologiques	51
II.5.1. Activité antibactérienne	51
II.5.2. Activité antioxydante.....	53
II.6. Analyse Statistiques.....	55

Chapitre 2 Résultat et discussion

III.1. Rendement d'extraction des composés phénoliques	57
III.3. Analyse quantitative	60
III.3.1. Dosage des polyphénols totaux	60
III.3.2. Dosage des flavonoïdes totaux (FVT).....	61
III.3.3. Dosage des tanins condensés (TC)	61
III.4. Activité biologique	63

III.4.1. Activité antibactérienne.....	63
III.4.2. Activité antioxydante.....	69
Conclusion.....	73
Liste bibliographies	59
Annexes	75

Introduction

. Introduction

Depuis de nombreux siècles, les Hommes exploitent les plantes pour se nourrir, mais également pour se soigner. En effet, l'emploi des plantes médicinales est un savoir-faire très ancestral. Cette discipline s'appelle la phytothérapie, qui signifie soigner par les plantes, c'est une médecine basée sur l'utilisation des propriétés pharmacologiques des molécules contenues dans les plantes. La vigne est l'une des plus anciennes cultures d'Afrique du Nord et surtout de l'Algérie. Dans ce pays, on compte 97 000 hectares de vignes plantées, représentant 12 % des plantations totales. En superficie, c'est la quatrième culture pérenne et le deuxième poste d'exportation (**Gurib-Fakim A., 2006**).

La vigne fait partie d'une des plus anciennes plantes cultivées sur terre. La médecine antique et la pharmacie en ont tiré profit depuis des millénaires. Au fil du temps cette plante n'a cessé de révéler de nombreuses vertus. La recherche biomédicale s'intéresse beaucoup aux substances contenues dans la vigne et dans ses produits (**Compant S, Clément C, Sessitsch A., 2010**).

L'étude de la chimie et de l'activité antibactérienne des plantes du vingtième est toujours d'une brûlante actualité malgré son ancienneté, cela tient principalement au fait que le règne végétal représente une source importante d'une immense variété de molécules bioactives qui sont utilisées dans l'industrie alimentaire, la cosmétologie et la pharmacie... (**Compant S, Clément C, Sessitsch A., 2010**).

Les métabolites secondaires dont font partie les composés phénoliques contiennent des substances très recherchées par les industries des cosmétiques, de la pharmacie et de la phytothérapie (**Gurib-Fakim A., 2006**). Les composés phénoliques comprennent notamment, les acides phénoliques, coumarines, les lignines, les stilbènes et les flavonoïdes. Ces composés sont largement connus pour leur potentiel antioxydant, mais également pour leur pouvoir antimicrobien qui couvre un large éventail de pathogènes qui touchent la santé humaine et celle du végétal.

L'objectif visé par notre étude, consiste à l'étude biologique d'un extrait hydrométhanolique des composés actifs à partir des feuilles de la vigne sur de la région de El Oued. Ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante et l'activité antibactérienne de cet extrait. Cette étude a été divisée en deux parties, dans la première partie nous présentons une synthèse bibliographique concernant la vigne et le métabolite secondaire, et généralité sur les activités biologiques, et la deuxième partie est expérimentale qui regroupe deux chapitres : chapitre pour matériel et méthodes et chapitre pour résultats et discussion, enfin une conclusion.

Partie I .

Synthèse Bibliographique

Chapitre 01.

Vigne et

Métabolites Secondaires

I.1. Définition

La vigne est un arbre fruitier appartenant aux Vitaceae qui eux même appartiennent aux lianes représentant d'une grande famille. Les lianes sont des plantes vivaces appartenant aux angiospermes dicotylédones de la famille des Rhamnaceae et Vitaceae. Ce sont des arbustes grimpants, comme les vignes, dont les tiges sont généralement multipétalées mais parfois herbacées avec des vrilles sur la face opposée des feuilles. La famille des raisins compte 19 genres et des milliers d'espèces qui ont été trouvées particulièrement en Amérique, en Asie, en Afrique et en Océanie (Galet., 2000).

I.2. Historique

L'histoire de la Vigne accompagne depuis longtemps celle de l'Homme. Les premières traces de ceps de vigne, découvertes dans l'actuelle Géorgie, datent de plus de 7000 ans. A partir de la Géorgie, la culture de la Vigne se serait répandue dans tous les pays tempérés depuis l'Inde jusqu'à l'Occident Européen. Les premières fresques représentant des procédés de vinification ont été retrouvées en Egypte dans des lieux de sépulture datant de 3000 ans avant JC. La Grèce, en partie grâce à ses contacts avec l'Egypte, adopta la culture de la Vigne, la vinification et le commerce du vin (vers —2000 - avant JC). Les Grecs, au cours de leurs nombreux voyages, implantèrent la Vigne dans tout le bassin méditerranéen et louèrent les bienfaits du vin sous le culte du dieu Dionysos. Quelques siècles plus tard, les Romains poursuivirent le développement de la viticulture, en honorant Bacchus, dieu de la Vigne et du vin. L'expansion de l'Empire Romain permit de répandre la culture de la Vigne en Sicile et dans l'Italie du Sud, puis dans les régions méditerranéennes d'Espagne et de France, jusqu'à atteindre les rivages de l'Atlantique. Ce n'est qu'en 600 avant JC que la Vigne apparaît en Gaule celtique, où les Gaulois améliorent les procédés de vinification. La viticulture s'est ensuite épanouie sous le règne des Mérovingiens et des Carolingiens qui firent une grande consommation de vin. C'est entre l'Empire Romain et le Moyenâge que naissent en France les plus «célèbres vignobles : le Bordelais au 1er siècle, la Bourgogne au 11ème siècle, le Rhin et la Moselle au IVème siècle, la Vallée de la Loire et l'Alsace au IXème siècle. Au Moyen Age, le vignoble et les vins entrent dans une phase d'essor grâce au christianisme. L'ancienne France monarchique fixe définitivement l'entretien des vignobles comme culture traditionnelle. A partir du XIIème siècle, - la consommation de vin se généralise. Les vignobles continuent de s'étendre dans toute la France, puis progressivement à la Germanie et aux pays du Danube. A la fin du XIXème siècle, la Vigne disparaît presque totalement des vignobles français et européens. Ce désastre fut causé par l'importation accidentelle, en

provenance d'Amérique du Nord, d'un minuscule puceron, *Phylloxera vastatrix*, qui se nourrit des racines de la Vigne. Finalement, la réimplantation de ces vignobles fut possible grâce au greffage de l'espèce *Vitis vinifera* sur des porte-greffes américains de l'espèce *Vitis labrusca* naturellement résistants à l'insecte.

I.3. Taxonomie

La vigne, plante Angiosperme dicotylédone, est une liane de la famille des Vitacées, ordre des Rhamnales. Elle est originaire des zones septentrionales tempérées d'Amérique, d'Asie et d'Europe. La famille botanique a une large et très complexe diversité génétique, répartie en trois groupes principaux écogéographiques : Occidentalis, Pontica et Orientalis (Chadefaud et Emberger, 1960 cités par Bordieuc, 2010). Selon Galet (2001) elle comprend 19 genres et 62 espèces.

Selon Mahboub (2017) la vigne cultivée appartient à la classification suivante (tableau 01)

Tableau 01. Position taxonomique de la vigne (Mahboub., 2017).

Régne	Plante
Embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
sous classe	Archichlamydées
ordre	Rhamnales
famille	Vitacées
genre	Vitis
espèce	<i>Vitis vinifera</i>

I.4. Description Botanique de la vigne

La vigne, comme toute plante, développe un système racinaire qui colonise le sol et le sous-sol tout au long de sa vie et un système aérien, formé d'un tronc qui se divise en bras portant des bois de taille qui peuvent être longs ou courts. Ces bois appelés sarments portent des yeux, ou ensembles de bourgeons qui donneront naissance à des rameaux feuillés, fructifères ou non (Reynier., 2007).

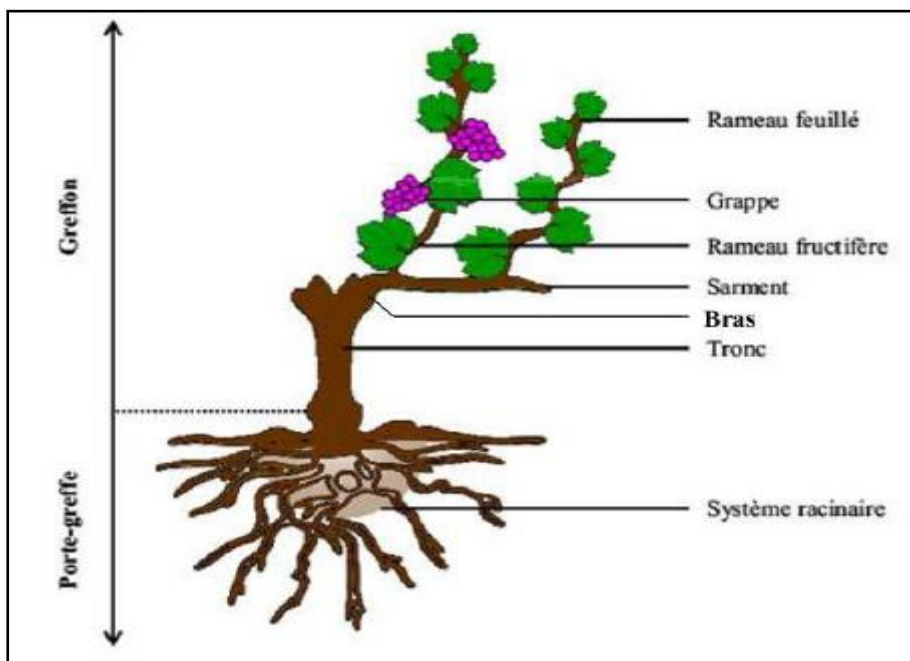


Figure 02. Morphologie du cep de vigne (Petit., 2008).

I.4.1 Système racinaire de la vigne

Selon Galet (1993), la racine a une forme cylindrique, avec un aspect plus ou moins sinueux et une couleur d'abord blanchâtre, devenant ensuite jaune brune. L'extrémité terminale comporte un cône obtus appelé la coiffe.

Reynier (2007) avance que les racines d'un plant en pépinière naissent latéralement sur la portion de tige utilisée comme bouture, il n'y a pas de pivot mais plusieurs racines adventives donnant naissance à des racines secondaires se terminant par des radicelles.

Par contre, lorsqu'on dégage avec précaution les racines d'un pied adulte, on constate que la majorité d'entre elle se déploie latéralement à partir de l'axe de ce pied et qu'un nombre moindre se développe verticalement. Les racines ont colonisé préférentiellement les couches peu profondes du sol comprises entre 20 et 50cm. Leur trajet est sinueux et leur répartition n'est pas régulière. Le développement du système racinaire passe par trois phases :

- **Phase de colonisation** qui correspond à l'expansion des racines depuis la plantation jusqu'à la rencontre, latéralement et en profondeur, de freins à leur expansion. Elle dure 7 à 10 ans. Quand la souche devient adulte, des radicelles apparaissent chaque année sur la charpente racinaire.
- **Phase de vieillissement** quand, au bout de plusieurs années, le dépérissement des radicelles et des racines devient plus important, sous l'effet d'une réduction de l'activité biologique générale de la souche et des freins au fonctionnement des racines tel que la compacité des sols.



Figure 03. Racines de la vigne (KHEBBAB *et al.*, 2021).

I.4.2. Tige

A l'état spontané, la vigne développe des tiges sarmenteuses qui peuvent s'accrocher, grâce à leurs vrilles, à des supports très divers, lui permettant ainsi d'étaler son feuillage et de capter les rayons solaires. Le tronc de la vigne reste grêle le plus souvent, flexible, pouvant s'élever jusqu'à 20 à 30 mètres de hauteur. Il n'est pas un fût droit, comme celui des arbres fruitiers, il est toujours flexueux, recouvert par l'accumulation de vieilles écorces, renouvelées chaque année, il se ramifie en plusieurs branches ou bras qui portent les tiges de l'année appelées rameaux tant qu'elles demeurent herbacées et sarments après l'aoûtement (Galet., 1993).

I.4.3. Rameaux

Dans les vignes, tout au long du tronc, existe des points particuliers appelés les noeuds. A partir de ces derniers poussent des petites branches où les feuilles, des vrilles et des petites grappes de fleurs sont insérées (Figure 4) (Bouard., 1970).

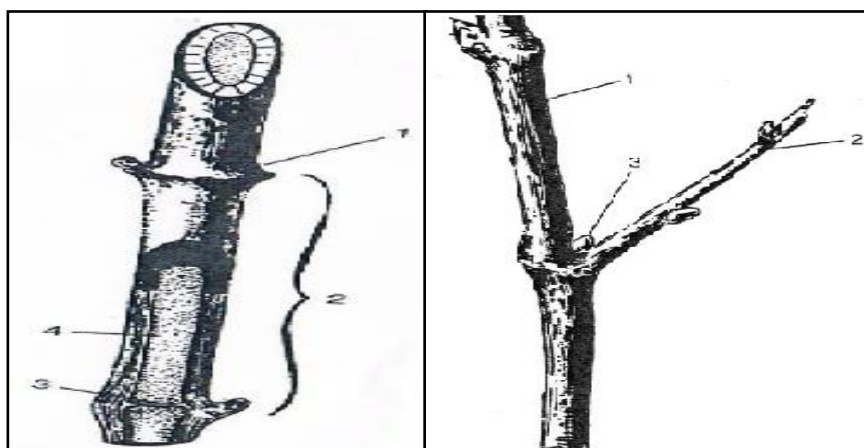


Figure 04. Morphologie et anatomie d'un rameau de vigne (Hidalgo., 2008).

1 rameau principal, 2 entre coeur, 1 noeud, 2 entre noeud (mérithalle)
3 bourgeon latent, 4 prompt bourgeon 3 diaphragme, 4 moelle.

I.4.4. Feuilles

Les feuilles de la vigne sont attachées aux branches par le pétiole. Plus commun la feuille est ronde ou orbiculaire, mais elle peut aussi être en forme de coeur, en forme réniforme et cunéiforme. La feuille se compose d'une queue ou d'un pétiole et d'une partie élargie et étalée appelée lames qui est charrue par veines à ordres différents (Hidalgo., 2010).



Figure 05. Feuilles de la vigne (Khebbab KHEBBAB *et al.*, 2021).

I.4.5. Bourgeons

Les bourgeons sont des branches de feuilles vertes embryonnaires miniatures essentiellement. Chaque bourgeon est composé d'un petit arbre très court, équipé d'ébauches de lame et de méristème (Figure 6) (Ribereau *et al.*, 1971).

Tous les bourgeons de la vigne sont composés d'écaillés externes brunes plus ou moins foncés et de riches bourgeons blancs à l'intérieur (Figure 7) (Hidalgo., 2010).

Plusieurs types de bourgeons sont observés sur les branches en croissance:

- **Bourgeon supérieur terminal.**
- **Bourgeons potentiels.**
- **Le bourgeon de la couronne.**
- **Les bourgeons du vieux bois.**

I.4.6. Fleurs

Les fleurs sont le lieu de pollinisation et de fertilisation à la fin du printemps. Elles sont très petites, allant de 2 à 7 mm et l'hermaphrodite se compose de cinq parties (**Mahboub., 2017**) :

- 1- Le calice se compose de 5 sépales immatures, fusionnés ensemble. D'habitude le calice est vert, mais il peut être rose ou marron.
- 2- La corolle se compose de 5 pétales alternant avec des sépales. Les pétales sont soudés, cela donne à la fleur de la vigne, la forme d'un capuchon.
- 3- Les fleurs des étamines se composent de 5 étamines opposées aux pétales. Leurs filets sont longs et portent l'anthère avec deux cellules.
- 4- Le disque est composé de 5 nectaires jaunes.
- 5- Le pistil est composé d'un ovaire et de deux carpelles, chaque carpelle contient 2 oeufs. Chacune de ces innombrables fleurs produira un raisin (**Mahboub., 2017**).

I.4.7. Fruit

La fleur fécondée produira de petits pépins de raisin avec des baies, qui pousseront rapidement. Ils sont formés par la membrane externe, l'épiderme, la pulpe qui remplit presque tout le grain, les graines et les prolongements de courts pétioles (appelés brosses) à travers lesquels la sève s'écoule dans tout le grain (**Hidalgo., 2010**).



Figure 06. Grappe de vigne (**KHEBBAB et al., 2021**).

I.5. Cycles de développement de la vigne

Le processus de développement de la vigne est intercalé de deux périodes : une période de végétation active et une période de repos hivernal. Un cycle annuel est l'accumulation du cycle végétatif et du cycle reproducteur (**Lebon., 2005**). La croissance annuelle de la vigne démarre au printemps après la germination (**Attia., 2007**). Afin de permettre à la végétation

de repartir la deuxième année, les vignes doivent réaliser l'étape de stockage du matériel de réserve dans les tissus des racines, du tronc, des bras et des branches, ce processus est appelé phénomène d'aoûtement circulaire ou bien accumulation de réserves (Galet., 1993).

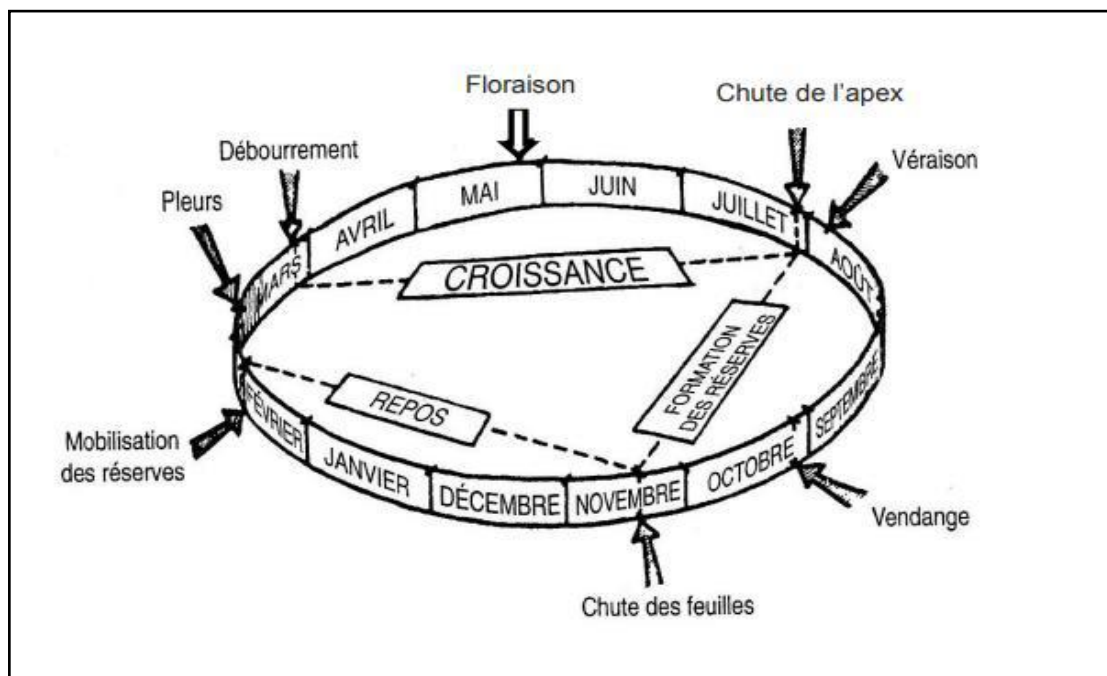


Figure 07. Représentation graphique du cycle végétatif, reproducteur et d'aoûtement de la vigne (Hidalgo., 2008).

I.5.1. Cycle végétatif

Chaque saison, les vignes forment leur végétation herbacée. Cette dernière est composée de rameaux et de la croissance des feuilles, des racines et des tiges : c'est alors le cycle de la plante, portant les pleurs, avant que les bourgeons de la plante éclatent ou partent à la fois, les branches et les feuilles. La croissance s'arrête en automne en commençant par la chute des feuilles ou défeuillaison, cela marque la fin de la vie active. En cette étape, le ralentissement de la vigne est déclenché, car il n'y a plus de performances extérieures visibles, c'est le repos hivernal (Gomez., 2007).

I.5.2. Cycle reproducteur

Le développement des organes reproducteur commence dès l'année précédente. Les inflorescences dans les bourgeons latents débutent et sont poursuivies avec la différenciation des fleurs au printemps ; puis la floraison, la nouaison, la croissance et la maturation des baies de raisin (Reynier., 2007).

I.5.3. Aoûtement

Il s'agit du cycle d'accumulation de réserves qui s'accompagne de changements de morphologie, d'anatomie et de biochimie des branches. Après le stationnement, au fur et à mesure que la plante grandit, la structure anatomique des branches change, les tissus vivants ont des réserves abondantes (en particulier en amidon), il y aura changement de ramification et de couleur (verte, vire au brun) (**Hidalgo., 2008**).

I.6. Vigne en Algérie

Sous le règne des empires phénicien et romain, nous avons trouvé les premières traces de la culture du raisin algérien dans l'Antiquité. En 1830, dans la régence d'Alger, seules de petites parcelles de vignes étaient disséminées sur tout le territoire, avec une superficie totale évaluée à environ 2000 hectares (**Galet., 2000**).

Pendant la période coloniale (1830-1962), la viticulture était pratiquée dans la plupart des régions d'Algérie et dominait dans l'Ouest (Mostaganem, Oran, Aïn Témouchent et Tlemcen). Les plaines fertiles de la Mitidja et d'Annaba conviennent à toutes les cultures. Ce sont déjà les principaux centres agricoles de l'Algérie (**Verrière et Olivier., 1957**).

Après l'indépendance en 1962, l'Algérie a hérité d'une colonie de vignobles viticoles d'une superficie de plus de 350000 hectares (maximum en 1936, près de 400000 hectares), avec un rendement de 16 à 18 millions m³ (**Birebent., 2013**). Les vignes ont été déracinées à grande échelle et le rendement a diminué (**Tayeb., 1990**). Le vignoble algérien est passé à 75000 hectares en 2017, il ne se classe actuellement au 22^{ème} rang mondial (**Ovi., 2018**).

II. Metabolite secondaire (M2)

Une des particularités des végétaux est de former de nombreux composés dont le rôle au niveau de la plante n'est pas encore parfaitement élucidé (**Merghem., 2009**). Le fait que beaucoup de ces composés ne se rencontrent chez toutes les espèces montre qu'ils n'entrent pas dans le métabolisme général : ce sont des métabolites secondaires, qui n'exercent aucune fonction directe aux niveaux des activités fondamentales de l'organisme végétal (croissance, développement, reproduction...) mais peuvent jouer différents rôles pour la survie du végétal lui-même, rôle de défense ou de résistance (**Merghem., 2009**).

II.1. Définition des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des petites molécules organiques qui sont produites par un organisme à un moment particulier de son cycle de vie (souvent à la fin de croissance). La

synthèse de ces molécules n'est pas indispensable à la croissance. Ces molécules sont très diverses et ont chacune des rôles différents. Il est donc difficile de les classer mais également de faire la différence entre le métabolisme dit "primaire" et "secondaire" (Keller N *et al.*, 2005).

II.2. Fonction

Où cela ces substances, issues de métabolites primaires, interviennent dans la structure des plantes mais également ont un rôle écologique, par exemple dans les mécanismes de:

- Défense contre d'autres plantes qui rivalisent pour la lumière, l'eau et élément nutritifs (ex; allélopathie).
- Composés du signal attire pollinisateur et les animaux disperser les graines (disséminateur).
- Signaux pour communication entre plantes et micro-organismes symbiotique(Rhizobium fixe Nou moisissures du mycorhize).
- Une protection contre les rayons UV ou autres stress physique.
- sélectionné de fonctions physiologique (Wink., 2010) .

II.3. Classification

Ces métabolismes sont classés en trois grandes classes : -

- Les composés aromatiques ou polyphénols (acides phénoliques, flavonoïdes, tanins) et les quinones.
- Les terpénoïdes et leurs dérivés.
- Les alcaloïdes (Merghem., 2009).

II.3.1. Les composés phénoliques

II.3.1.1. Polyphénols

Les composés phénoliques constituent la troisième grande famille de métabolites secondaires, caractérisés par la présence d'un groupement phénol, composé chimique constitué d'un cycle aromatique benzénique et d'une fonction hydroxyle. Les composés phénoliques, présents dans le règne végétal dès les Ptéridophytes (premières plantes vasculaires), jouent des rôles essentiels pour la survie des végétaux en milieu terrestre en intervenant notamment dans leur défense contre des stress biotiques et abiotiques et dans leur reproduction. La distinction des différents groupes de composés phénoliques est fondée sur leur structure, chaque groupe pouvant contenir de quelques dizaines à plusieurs milliers de molécules différentes. Les composés phénoliques comprennent notamment les acides

phénoliques, les coumarines, les lignines, les lignanes, les stilbènes et les flavonoïdes. Ces derniers ont une importance majeure chez la Vigne, car ils contribuent à la qualité organoleptique de la baie de raisin et des produits dérivés, jus de raisin... . Ainsi, alors que les acides phénoliques, les coumarines et les lignines ne seront que rapidement abordés, cette introduction détaillera les composés phénoliques majoritairement accumulés dans la baie de raisin au cours de son développement, les flavonoïdes (**Jérémy P., 2011**).

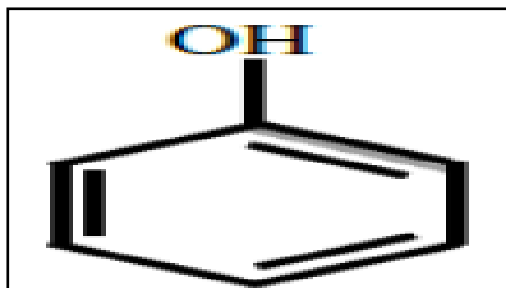


Figure 08. Structure du noyau phénol (**Achat., 2014**).

II.3.1.2. Classification des composés phénoliques

Les composés phénoliques peuvent être classés en fonction de la longueur de la chaîne aliphatique liée au noyau benzénique en:

- les dérivés en C6-C1.
- les dérivés en C6-C3 ou phenylpropanoïdes.
- les composés en C6-C3-C6 sont les plus importants.

Les tanins, composés provenant de la polymérisation de ces dérivés aromatiques feront l'objet de partie séparée (**Merghem., 2009**) (**Annex 01, figure 01**).

❖ Les phénols simples

Les phénols simples sont décrits comme des composés ayant au moins un groupe hydroxyle attaché à un cycle aromatique en tant que squelette de base. Dans la classe des phénols simples on distingue le catéchol, le résorcinol et le phloroglucinol (**Daniel., 2006**).

Les phénols simples (Catéchol, phloroglucinol) (**Annex 01, Figure 2**) sont plutôt rares dans la nature à l'exception de l'hydroquinone qui existe dans plusieurs familles (Ericaceae, Rosaceae), le plus souvent à l'état de glucoside du diphenol (arbutoside) ou de son monométhyléther (**Bruneton., 2009**).

❖ Les acides phénols

Les acides phénoliques appartiennent à deux groupes, les acides hydroxybenzoïques (formule de base de type C6-C1) et les acides hydroxycinnamiques (de structure de base (C6-C3) dérive de celle de l'acide cinnamique) (Sarni-Manchado et Cheynier., 2006) (Figure9).

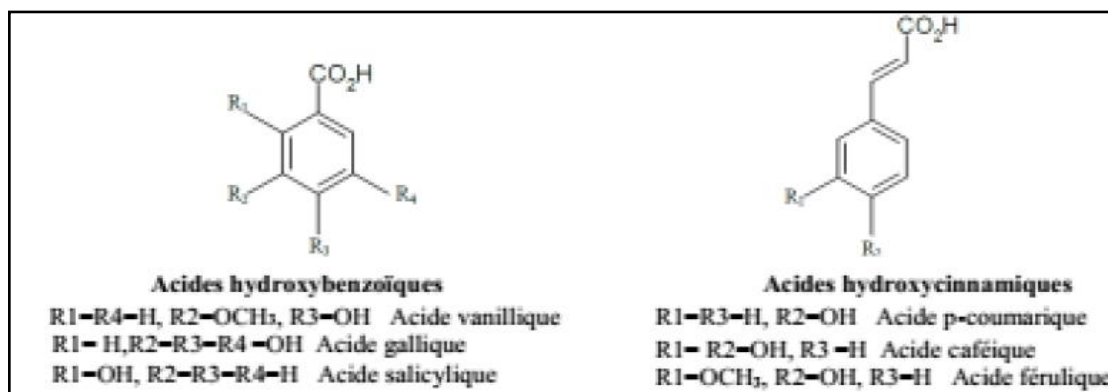


Figure 09. Structure des acides hydroxybenzoïques et hydroxycinnamiques

(Macheix *et al.*, 2005).

II.3.1.2. Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde (de flavus, «jaune» en latin) désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux .

Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous forme libre (aglycone) ou sous forme de glycosides. On les trouve, d'une manière générale, dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organe : racine, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits. Les flavonoïdes se trouvent également dans plusieurs plantes médicinales (Yezza et Bouchama., 2014).

II.3.1.2.1. Structure

La structure d'un flavonoïde s'organise toujours autour d'un squelette 1,3-diphénylpropane C6-C3-C6. Les deux cycles benzéniques sont nommés cycle A et cycle B. Le chaînon propyle C3 peut être complété par une fonction éther formant ainsi un cycle central, appelé cycle C (Harborne J.B., Williams Ch.A., 2000) (Annex 01, figure 03)

III.3.1.2.2. Classification

Les flavonoïdes peuvent être divisés en différentes classes, qui sont déterminées par l'état d'oxydation de l'unité de liaison (C), et la position du noyau benzénique (B) (Bruneton, 1993

; Narayana *et al.*, 2001), tandis que les composés de la même classe sont déterminés par le point d'hydroxylation, ou d'autre substitution du noyau A ou B (OH, OCH₃ et/ou glycosyl) (Verpoorte *et alfermann.*, 2000 ; Havsteen., 2002).

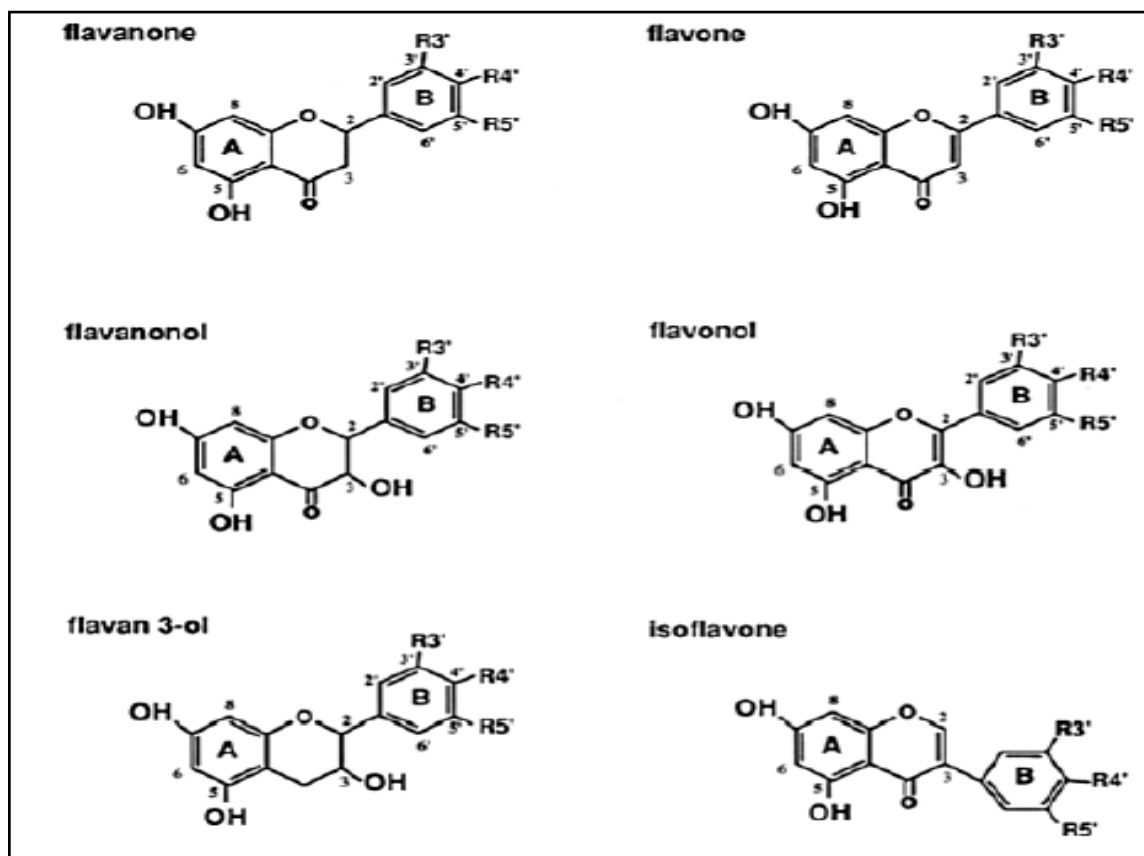


Figure 10. Les différentes classes des flavonoïdes (Gamet-Payrastré., 1999).

II.3.1.3. Tanins

Le mot Tanin est un terme provenant d'une pratique ancienne qui utilisait des extraits de plantes pour tanner les peaux d'animaux (Hopkins., 2003). Les tanins naturels sont des molécules polyphénoliques hydrosolubles, de masse moléculaire comprise entre 500 et 300 et, qui outre les réactions habituelles des phénols, provoquent la précipitation des protéines (ou autres polymères) (Merghem., 2009).

II.3.1.3.1. Classification

On distingue 2 classes structurales distinctes qui pouvant être présentes simultanément chez les végétaux:

- **Tanins hydrolysables** : sont abondants chez les dicotylédones et certains arbres en sont des sources industrielles : tanins de chêne, de châtaignier, tanin de Chine ou de Turquie

extraits respectivement d'un arbuste de genre *Rhus* ou de *Quercus tinctoria* (Macheix *et al.*, 2005).

Ils sont des hétéro-polymères dont l'hydrolyse chimique ou enzymatique libère outre la molécule de glucose, de l'acide gallique (cas de gallotanins) ou ses formes dimériques : acide m-digallique, acide ellagique (cas des ellagitanins) (Merghem., 2009).

Une forme simple de tanins hydrolysables est le penta-galloyglucose qui est à l'origine de la plupart des formes complexes, et la castalagine chez le châtaignier ou le chêne (Annex 01. figure 04).

- **Tanins condensés (tanins vrais ou tannoïdes):** Résultent de la condensation de molécules élémentaires de types flavane 3 ol (catéchines) ou flavane 3-4 diols (leucoanthocyanidines). Les liaisons formées sont de type carbone-carbone ce qui rend ces molécules difficilement hydrolysables. Les tanins condensés sont également appelés proanthocyanidines ; en effet leur oxydation en milieu alcool-acide à chaud entraîne la formation de pigments anthocyaniques tels que cyanidine et delphinidine (Merghem., 2009).

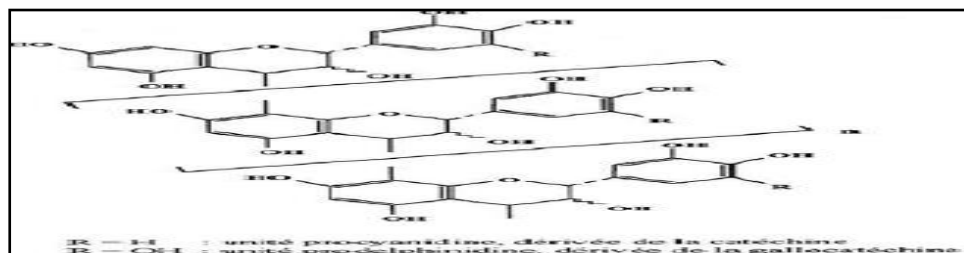


Figure 11. Structure d'un tanin condensé (Macheix *et al.*, 2005).

II.3.2. Propriétés biologiques des composés phénoliques

❖ Propriété antioxydante

Les antioxydants d'origine alimentaire contribuent vraisemblablement à la défense de l'organisme contre le stress oxydant et ses conséquences. A ce titre, les polyphénols, particulièrement abondants dans une alimentation riche en produits végétaux, pourraient jouer un rôle protecteur important (Achat., 2014).

La capacité antiradicalaire de ces métabolites secondaires, plus particulièrement les flavonoïdes fait sujet de nombreuses études récentes dans le domaine des thérapies antioxydantes, pour compenser l'insuffisance des moyens naturels de protection dans certains désordres comme le vieillissement cellulaire, le cancer... (Madi., 2010).

Les flavonoïdes peuvent empêcher les dommages oxydatifs soit par capture des radicaux hydroxyles, superoxydes, alkoxydes et peroxydes (Zeghouane., 2014) ; soit par chélation des métaux (le fer et le cuivre) ; soit l'inhibition des enzymes responsables de la génération des radicaux libres (Van Acker *et al.*, 1996).

Les acides phénols possédant les activités antioxydante et antiradicalaire sont l'acide caféique, l'acide gallique et l'acide chlorogénique (Bossokpi., 2002).

Concernant le pouvoir antioxydant des tanins, cette propriété est très remarquable due à leurs noyaux phénols et la présence des groupes di- ou trihydroxyles sur le cycle B et les groupes méta 5, 7 dihydroxyles sur le cycle A. Les tanins catéchiques du thé vert : gallate d'épicatéchine, gallate d'épigallocatechine et l'épicatéchine sont des puissants extracteurs des radicaux libres, ils inhibent les ions Cu^{+2} qui catalysent l'oxydation des lipoprotéines dans les macrophages *in vitro* (Zeghouane., 2014).

Les composés phénoliques exercent une activité antioxydante via plusieurs mécanismes :

- Le piégeage direct des espèces réactives de l'oxygène (ERO).
- L'inhibition des enzymes génératrices d'ERO.
- La chélation des ions de métaux de transitions, responsables de la production des ERO.
- L'induction de la biosynthèse d'enzymes antioxydantes (Achat., 2014).

❖ **Activité antibactérienne**

En présence de bactéries, les composés phénoliques sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis de ces organismes. Le mécanisme de toxicité est peut être lié à l'inhibition des enzymes, l'inactivation des adhésines ou le blocage des protéines de transport et de la paroi cellulaire (Cowan, 1999). Selon Harikrishna *et al.* (2004) les flavonoïdes sont actifs sur les bactéries à Gram positif et à Gram négatif.

L'activité anti-bactérienne intense (*Salmonelles*, *Bacillus cereus*) de gallotanins a été mise en évidence par Tian *et al.* (2009). Rauha *et al.* (2000) rapportent également une activité antibactérienne envers *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* pour la quercitine et la naringénine.

Parmi les acides phénoliques, l'acide caféique, l'acide gallique et l'acide protocatechique ne présentent qu'une légère activité antibactérienne envers *Pseudomonas aeruginosa* (Rauha *et al.*, 2000).

II.3.2. Terpénoïdes

Les terpènes sont une famille de composés chimiques responsables en partie du caractère fruité des baies et représentant la plus large classe de métabolites secondaires chez les plantes (Dudareva et al., 2006).

Selon le nombre d'unités isopréniques qui les constituent, on distingue (Annex 01, figure 06) :

- Les monoterpènes (C10), Les sesquiterpènes (C15), Les diterpènes (C20), Les triterpènes (C30), Les tetraterpènes (C40), Les polyterpènes (C4000) (Merghem., 2009).

Au niveau de la composition aromatique du fruit, les monoterpènes et les sesquiterpènes apparaissent comme les plus importants de cette famille avec approximativement 1000 monoterpènes et plus de 7000 sesquiterpènes possibles (Bohlmann et al., 1998). Chez la Vigne, environ 70 monoterpènes ont été identifiés. Parmi les monoterpènes dits libres, les composés les plus fréquemment retrouvés sont le citronellol, le 3,6-diméthyl-1,5-octadien-1,7-diol, le linalool, le géraniol, le nérol et l' α -terpineol (Rapp., 1998; Mateo and Jiménez, 2000). Mais d'autres monoterpènes importants sont présents chez la Vigne avec notamment les formes éthers (oxyde de rose ou de nérol) et les formes polyhydroxylées, qui sont des produits de l'oxygénation des monoterpènes libres (Williams et al., 1980; Luan et al., 2004). En plus des formes libres de monoterpènes, il existe par ailleurs dans la baie de raisin des formes glycosylées présentes en plus grande quantité que les formes libres (Williams et al., 1982; Voirin et al., 1990; Dimitriadis and Williams, 1987; Gunata et al., 1985) et qui constituent des précurseurs d'arômes.

Le caractère aromatique de certains cépages (Gewurztraminer, Muscats) est principalement dû au mélange terpénique les composant (Ribéreau-Gayon et al., 1998). Par leur implication dans l'arôme des fruits, les terpènes interviennent dans les processus d'attraction d'insectes pollinisateurs, mais leur rôle ne semble pas se cantonner à ce processus. En effet, ces molécules jouent aussi un rôle dans la défense de la plante et principalement en réponse à des stress biotiques (ex : défense contre les herbivores) (Arimura et al., 2004). De manière intéressante, il semblerait que les baies ayant été moins exposées au soleil posséderaient une teneur en monoterpènes plus faibles, altérant ainsi leur arôme (Reynolds and Wardle., 1997).

II.3.3. Alcaloïdes

Les alcaloïdes constituent un des trois grands groupes de métabolites secondaires. Il en existe environ 12000 répertoriés à ce jour, toutes espèces confondues (**Croteau et al., 2000**). Ce sont des produits d'origine végétale souvent basiques (goût amer) et plutôt hydrophiles. Les alcaloïdes sont des hétérocycles possédant au moins un atome d'azote. Les alcaloïdes sont généralement classifiés selon la voie de biosynthèse dont ils sont issus. Selon cette nomenclature, il existe trois principaux types d'alcaloïdes : les « vrais » alcaloïdes, les protoalcaloïdes et les pseudoalcaloïdes. Les vrais alcaloïdes dérivent des acides aminés et partagent un hétérocyclique contenant un atome d'azote. Les précurseurs de cette famille sont principalement l'ornithine, la lysine, la phénylalanine, la tyrosine, le tryptophane et l'histidine. Les protoalcaloïdes sont des composés dont l'atome d'azote provenant des acides aminés n'est pas intégré dans l'hétérocycle. Ils dérivent principalement du tryptophane et de la tyrosine. Les pseudoalcaloïdes sont quant à eux des molécules dont le squelette carboné ne dérive pas d'acides aminés mais de précurseurs ou de dérivés d'acides aminés. Ils peuvent également dériver de précurseurs non reliés aux acides aminés (**Aniszewski., 2007**). Le rôle des alcaloïdes reste obscur. Néanmoins, ils sont habituellement catalogués comme faisant partie des défenses chimiques constitutives de la plante, bien que plusieurs études aient indiqué que certains alcaloïdes pourraient aussi être impliqués dans des réponses de défense induites (**Croteau et al., 2000**).

Chapitre 02.

**Quelques activités
biologiques**

I. Activité anti oxydante

Les antioxydants sont des substances naturellement présentes dans l'organisme, capables de protéger d'influences néfastes, notamment des réactions d'oxydation également appelées stress oxydant. Les antioxydants, qui constituent un système de défense *in vivo*, se composent de plusieurs lignes de protection (PELI *et al.*, 2003). La principale d'entre elles consiste à inhiber la formation des radicaux libres et dérivés réactifs de l'oxygène (ROS) isolant les ions métalliques et en détruisant l'anion superoxyde et l'oxygène singulier, réduisant le peroxyde d'hydrogène et les hydroperoxydes dans chaque cellule de l'organisme (PELI *et al.*, 2003) .

De nos jours , la propriété anti oxydante a attiré l'attention de nombreux laboratoires et chercheurs dans le cadre de la recherche d' antioxydants naturels utilisés dans les industries alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques d'une part et d'autre part pour valoriser l'effet préventif de ces métabolites contre les différentes pathologies liées au stress oxydatif (Guinebert *et al.*, 2005).

I.1. Stress oxydant

Le stress oxydant est communément défini comme un déséquilibre entre les systèmes oxydants et les capacités anti-oxydantes d'un organisme, d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire (Delattre *et al.*, 2005; Morel *et al.* , 1998). Le terme général de stress oxydatif est utilisé pour décrire une situation de dommages causés par les radicaux libres (Lecerf., 2009).

Le stress oxydant est une cause majeure de plusieurs maladies, notamment le cancer, la cataracte, la sclérose latérale amyotrophique, l'insuffisance respiratoire aiguë, l'œdème pulmonaire et le vieillissement accéléré. C'est également l'une des causes de maladies multifactorielles telles que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires, localisées dans des tissus et des types cellulaires spécifiques, impliquant différents types de radicaux et des agents pathogènes spécifiques (Favier., 2006).

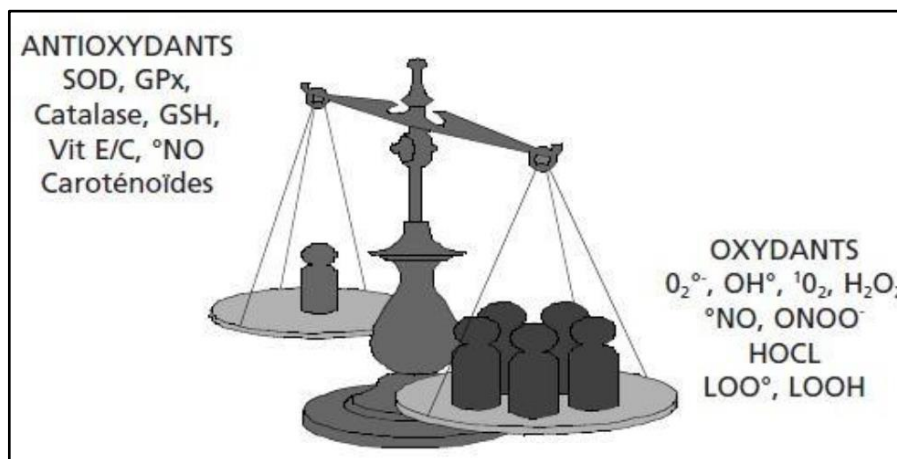


Figure 12. Déséquilibre Antioxydant /Oxydant (Meriem *et al.*, 2014).

I.2. Radical libre

1. Définition

Un radical libre est une espèce chimique, atome ou molécule, contenant un électron non apparié (Garait., 2006). Les radicaux libres sont très instables et réagissent rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir de la stabilité (Pelli *et al.*, 2003).

La production de radicaux libres peut-être endogène. En effet la formation de radicaux libres dans l'organisme est constante et nécessaire à la vie, mais les excès dépendent des facteurs extérieurs tels que le stress, la fatigue et les exercices (Saidi., 2019)

2. Sources des radicaux libres

Les radicaux libres formés dans le corps sont en raison de nombreux facteurs environnementaux et biologiques. Les facteurs environnementaux comprennent l'exposition aux rayons ultraviolets (UV), rayons X et rayons gamma, des radiations, le tabagisme, la pollution, l'ozone, et certains médicaments, produits chimiques ou pesticides. Les ROS produites biologiquement sont le résultat des réactions métaboliques où les espèces d'oxygène sont des intermédiaires donneurs d'électrons/accepteurs (Wang *et al.*, 2011).

La production des RLs est un processus naturel qui peut se produire avec ou sans l'aide des enzymes La plupart des ROS sont générées dans les cellules par la chaîne respiratoire mitochondriale. Les voies enzymatiques, tels que les systèmes NADPH oxydase, xanthine

oxydase, cyclooxygénases, lipoxygénases , monoxygénase et cytochrome P450 sont les potentielles sources extra-mitochondriales des ROS (Al-Gubory *et al.*, 2010).

3. Différents type des radicaux libres

Dans les cellules On peut distinguer les radicaux libres

a. Radicaux primaires (radical)

Tels l'anion superoxyde $2O^{\bullet -}$ et le radical hydroxyle OH^{\bullet} , ou de l'azote tel le monoxyde d'azote NO^{\bullet} , ils dérivent directement de l' O_2 par une réaction de réduction qui jouent un rôle particulier en physiologie (Favier., 2003) .

b. Radicaux libres secondaires (non radicalaire)

Tels peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le peroxydinitrite ($ONOO^-$) qui génèrent à la réaction des radicaux libre primaires sur des composés biochimiques cellulaires (Tableau 02) (Lacolley *et al.*, 2007) .

NB : (Le symbole \bullet indique la présence d'un électron célibataire)

Tableau 02. Liste de quelques espèces réactives (Omar *et al.*, 2018).

Espèces Réactives d'Oxygène (radicaux primaires)	Espèces non radicalaires (radicaux Secondaires)
$O_2^{\bullet -}$ Superoxyde	H_2O_2 Peroxyde d'hydrogène
OH^{\bullet} Hydroxyle	$ROOH$ Peroxide organique
ROO^{\bullet} Peroxyle	$ONOO^-$ Peroxydinitrite
RO^{\bullet} Alkoxyde	O_2NOO^- Peroxydinitrate
NO^{\bullet} Oxyde nitrique	NO_2Cl Chlorure de nitrile
NOO^{\bullet} Dioxyde de nitrogène	HNO_2 Acide nitreux
NO_3^{\bullet} Nitrate	ClO_2 Dioxyde de chlore
CO_3^{\bullet} Carbone	

I.3. Antioxydants

I.3.1. Définition

Les antioxydants peuvent être définis comme toute substance qui, présente à faible concentration par rapport au substrat oxydable, est capable de ralentir ou d'inhiber l'oxydation de ce substrat. Cette définition fonctionnelle s'applique à un grand nombre de substances, comprenant des enzymes aux propriétés catalytiques spécifiques, mais aussi de petites molécules hydrosolubles ou liposolubles. Cette grande variété physico-chimique autorise la présence d'antioxydants dans tous les compartiments de l'organisme, qu'ils soient intracellulaires, membranaires ou extracellulaires (Safa *et al.*, 2020).

I.3.2. Classification des antioxydants

Les mécanismes de défense anti-oxydante du corps humain peuvent être divisés en deux catégories différentes (Pelli *et al.*, 2003):

Les systèmes de régulation se composent d'enzymes antioxydantes tels que les superoxydes dismutases, la catalase et la glutathion peroxydase, et les antioxydants non enzymatiques tels que la transferrine, l'albumine, la vitamine C, la vitamine E, le glutathion e (Baillie *et al.*, 2007).

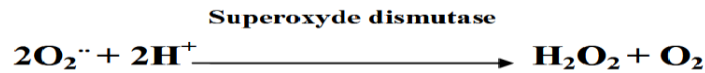
I.3.2.1. Systèmes antioxydants enzymatiques (endogène)

Les enzymes existent à l'état endogène et permettent de protéger les cellules contre les radicaux libres produits de manière physiologique au cours du métabolisme cellulaire normal (Jacob *et al.*, 2006).

Parmi les principaux antioxydants enzymatiques, on cite la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), et la glutathion peroxydase (GPx) (Pelletier *et al.*, 2004).

I.3.2.1.1. Superoxyde dismutase

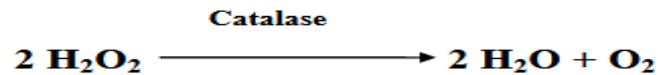
Comme l'indique son nom, la superoxyde dismutase (SOD) accélère la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène, Il existe plusieurs isoenzymes de SOD ; SOD ferreux (Fe-SOD), SOD à cuivre (Cu-SOD) et SOD à manganèse (Mn-SOD) qui diffèrent selon la localisation chromosomique du gène, leur contenu métallique, leur structure quaternaire et leur localisation cellulaire (Zelko *et al.*, 2002).



selon la localisation chromosomique du gène, leur contenu métallique, leur structure quaternaire et leur localisation cellulaire (**Meriem *et al.*, 2014**).

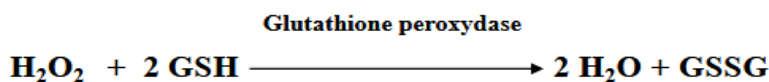
I.3.2.1.2. La catalase

C'est une enzyme antioxydante commune présente presque dans tous les tissus vivants qui utilisent l'oxygène, essentiellement dans les peroxysomes. L'enzyme utilise le fer ou le manganèse comme cofacteur et catalyse la dégradation ou la réduction du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en eau et en oxygène moléculaire permettant l'élimination de celui-ci (**Ighodaro *et al.*, 2017**).



I.3.2.1.3. Glutathion peroxydase

La glutathion peroxydase (GPx) est une enzyme intracellulaire importante qui décompose les peroxydes d'hydrogène (H₂O₂) en eau ; et les peroxydes lipidiques à leurs alcools correspondants principalement dans les mitochondries et parfois dans le cytosol .Cette enzyme joue un rôle plus crucial dans l'inhibition du processus de peroxydation lipidique et protège donc les cellules du stress oxydatif (**Safa *et al.*,2020**).



I.3.2.2. Systèmes antioxydants non enzymatiques (exogène)

Les systèmes antioxydants non enzymatiques sont des nutriments naturellement apportés par l'alimentation (exogène) ou par des composés endogènes (**Safa *et al.*, 2020**).

I.3.2.2.1. Système glutathion

Le glutathion, un chélateur hydrophilique direct retrouvé dans pratiquement tous les compartiments cellulaires, constitue un cofacteur pour la GPx et permet de régénérer les vitamines C et E dans leur forme active (**Ronald *et al.*, 2011**) .

Le glutathion peut chélater les ions cuivreux et ainsi limiter les réactions de type Fenton. En tant qu'antioxydant, le glutathion peut donc intervenir par deux types de mécanismes : la

capture d'espèces radicalaires et la participation à l'activité d'enzymes anti-oxydants (**Ronald et al., 2011**).

I.3.2.2.2. Acide urique

L'acide urique comme produit final du métabolisme des purines, augmente dans le plasma lors d'efforts physique intenses (**Baillie et al., 2007**). Il a été proposé comme un des meilleurs antioxydants du plasma in vivo, où il pourrait contribuer à 35-60% de la capacité antioxydante totale (**Finaud et al., 2006**) (**Johnson et al., 2009**). L'acide urique peut être oxydé en différents produits, puis est régénère par la vitamine C (**Vasconcelos et al., 2007**).

I.3.2.2.3. Autres anti-oxydants

Les protéines chélatrices de métaux de transitions comme l'haptoglobine, la ferritine, l'albumine et la céruloplasmine agissent en diminuant la disponibilité d'agents pro-oxydants, comme les ions Fe^{2+}/Fe^{3+} ou Cu^{2+}/Cu^{+} permettant par ce biais de prévenir la production des radicaux libres par la réaction de Fenton (**Martínez., 1995**).

D'autres antioxydants sont de nature non enzymatique et doivent être obtenus à partir de l'alimentation puisqu'ils ne peuvent être synthétisés par l'être humain, telles que les vitamines E (tocophérol), C (acide ascorbique), Q (ubiquinone), ou les caroténoïdes agissent en piégeant les radicaux et en neutralisant l'électron non apparié, les transformant ainsi en molécules stables (**Koechlin., 2002**)(**Pincemail et al., 2002**). La vitamine piégeuse devient à son tour un radical qui sera détruit ou régénéré par un autre système. A titre d'exemple, la vitamine E est régénérée par la vitamine C, elle-même régénérée par les ascorbates réductases (**Meriem et al., 2014**). En ajoutent quelques oligo-éléments (sélénium, cuivre et zinc) qui sont les cofacteurs de divers enzymes à activité antioxydante (**Cillard et al., 2002**).

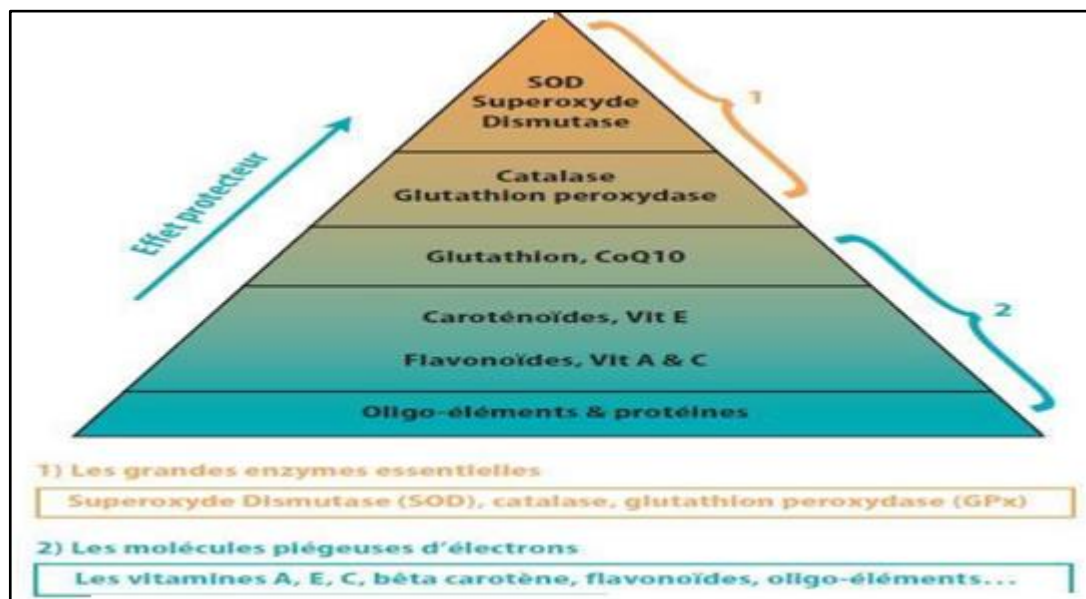


Figure 13. les antioxydants enzymatiques et non enzymatiques (Ikram *et al.*, 2017)

I.3.3. Mécanismes d'action des antioxydants

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulier, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition (FAVIER., 2006).

D'une manière générale, un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant lui-même plus rapidement que celui-ci. Un tel effet résulte d'une structure de donneurs d'atome d'hydrogène ou d'électrons souvent aromatiques cas de dérivés du phénol. En plus leurs radicaux intermédiaires sont relativement stables du fait de la délocalisation par résonance et par manque de positions appropriées pour être attaqué par l'oxygène moléculaire (Omar *et al.*, 2018). Les antioxydants sont en fait des agents de prévention, ils bloquent l'initiation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène, ou des agents de terminaison capables de dévier ou de piéger les radicaux libres, ils agissent en formant des produits finis non radicalaires (FAVIER, 2006).

D'autres en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puisse réagir avec un nouvel acide gras. Tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singulet pour la transformer en chaleur (Omar *et al.*, 2018).

I.3.4. Méthodes utilisées pour l'activité antioxydante

L'activité antioxydante définit la capacité d'un organisme de se protéger contre les radicaux libres, la détermination de l'activité antioxydante et l'une des méthodes pour évaluer la qualité biologique et nutritionnelle d'un aliment, nous avons besoin ainsi des méthodes commodes pour la quantification rapide et simple de la capacité antioxydante. Les méthodes les plus utilisées généralement pour déterminer la capacité antioxydante sont divisées en deux groupes importants: des analyses basées sur une réaction de transfert d'atome d'hydrogène, où l'antioxydant et le substrat sont en concurrence pour fixer des radicaux libres tel que l'essai du DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl), il est connu comme un radical libre stable, mais est sensible à la lumière, à l'oxygène, au pH et au type de solvant utilisé, ce test permet de mettre en évidence le pouvoir antiradicalaire d'un antioxydant pur ou d'un extrait antioxydant (**Brand- Williams *et al.*, 1995**). ABTS (acide 2,2-azobis-3-éthylbenzthiazoline-6-sulfonique), le radical cationique ABTS* est généré par l'incubation de l'ABTS avec une peroxydase (méthmyoglobine) et du H₂O₂ (**Miller *et al.*, 1997**)

Deuxièmement les analyses basées sur une réaction de transfert d'électron, surveillée par un changement de couleur quand l'oxydant est réduit tel que la mesure en fluorescence de la phycoérythrine (dans le dosage ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) , et aussi le FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma). Il existe de nombreuses façons d'utiliser les AO, certaines d'entre elles sont mentionnées dans le tableau suivant selon (**Sharma, Bhat ,2009**).

Tableau 03. les différents tests pour la mesure de la capacité antioxydante globale (Ikram *et al.*, 2017) .

Méthode	Nom	Générateur de radicaux	Standard Mesure/Calcul
TEAC	Total équivalent antioxydant capacité	ABTS + horseradisch peroxydase +peroxyd d'hydrogène formation du radical (ABTS•+)	Décoloration du radical ABTS•-: $\lambda=734$ nm Unité : équivalent Trolox
FRAP	Ferric reducing ability of plasma	Réduction du Fe (III) (TPTZ) ₂ Cl ₃	Changement d'absorbance à $\lambda=593$ nm Unité : FRAP par rapport à une solution de Fe (II)
DPPH	2,2-diphénylpicrylhydr azyl	DPPH	Diminution de l'absorbance $\lambda=515$ nm Unité : équivalent Trolox
TRAP	Total radical trapping parameter	2,2-azobis (2-amidinopropane) dichlorohydrate (APPH) radicaux peroxydes de nature hydrophile	Diminution de la fluorescence de la β -phycoérythrine ($\lambda=495$ nm et $\lambda=575$ nm). Unité : équivalent Trolox

I. 3.5. Effet des antioxydants sur la santé humaine

Lors de la photosynthèse, les plantes fabriquent des substances anti oxydantes pour se protéger des effets délétères des radiations solaires. Par conséquent, des vitamines (C, E, caroténoïdes) et des enzymes (catalases, peroxydases) sont synthétisés .De plus, Ces plantes élaborent des flavonoïdes qui préviennent l'oxydation. Ces substances jouent deux rôles au niveau de la plante : celui d'un filtre solaire et celui d'un antioxydant vis à vis des radicaux libres produits par les radiations (**Wolff., 1968 ; Turrens et al., 1985**).

Tous ces antioxydants sont directement assimilables par notre organisme quand on consomme des végétaux ou des produits dérivés de ceux-ci. Il existe une forte corrélation entre la consommation de légumes et de fruits et une moindre incidence des maladies cardiovasculaires et les cancers. Les antioxydants végétaux ont des propriétés protectrices en matière de vaisseaux sanguins, leurs vertus antvieillissement et leurs (**Wolff., 1968; Turrens et al., 1985**).

I.3.6. Utilisation des antioxydant

- Dans l'industrie chimique : pour éviter le durcissement du caoutchouc ou en métallurgie pour protéger les métaux de l'oxydation .
- Dans l'industrie agro-alimentaire : pour éviter le rancissement des corps gras
- Dans l'industrie teinturerie : pour éviter l'oxydation des colorants au soufre ou des colorants de cuve lors de la teinture (**K. Bouhadjra 2011**).

II. Activité antibactériennes

II.1. Généralités

Le monde bactérien est très vaste et les bactéries peuplent notre environnement. Elles assurent à la surface du globe, sur le sol et dans les eaux d'innombrables fonctions; elles exercent des actions bénéfiques (ex bactéries fertilisantes du sol), mais d'autres peuvent provoquer des infections chez les plantes, les animaux et également chez l'homme (**Zine el abidine., 2011**).

Il est connu que le traitement des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. Mais, la consommation à grande échelle de ces « médicaments » a entraîné la sélection de souches multi-résistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers de nouveaux substituts, surtout les végétaux qui ont toujours constitué une source d'inspiration

dans les recherches médicales (**Ali-Shtayeh et al., 1998**). Les extraits végétaux ont un large spectre d'activité (**Zine el abidine., 2011**).

Leur action antibactérienne a largement été démontrée. Il en ressort que les bactéries Gram – sont moins sensibles que les bactéries Gram + car leur membrane externe contient des lipopolysaccharides (LPS), qui créent une barrière contre les macromolécules et les composés hydrophobes (**Desunay.,2011**) .

II.2. Rappel sur les bactéries

Les bactéries sont des organismes vivants unicellulaires procaryotes, dont la structure cellulaire ne comporte pas de noyau. Les bactéries sont ubiquitaires et sont présentes dans tous les types d'écosystèmes mais également dans les êtres vivants (**Desunay.,2011**).elles sont divisées en bactéries proprement dites (Bacteria) et bactéries primitives (Archaea). Toutes les bactéries rencontrées en pathologie appartiennent aux Bacteria. Les bactéries ont généralement un diamètre inférieur à 1µm. Leur forme peut être sphérique (cocci), en bâtonnet (bacilles), incurvée (vibrions) ou spiralée (spirochètes) (**Nauciel et al., 2005**). Les détails de leur structure ne sont visibles qu'en microscopie électronique (**Desunay.,2011**). La très grande majorité des bactéries sont inoffensives ou bénéfiques pour l'organisme. Il existe cependant des espèces pathogènes à l'origine de beaucoup de maladies infectieuses (le choléra, la syphilis, la peste, l'anthrax, la tuberculose) (**Desunay.,2011**).

II.3. Infections bactériennes

Le monde bactérien, comprend plusieurs milliers d'espèces mais, seulement près d'une centaine est pathogène pour l'homme et l'animal. Une bactérie pathogène est susceptible d'induire, lorsqu'elle infecte un hôte, une maladie se traduisant par des signes anormaux, l'un des plus constants étant la fièvre (**Zine el abidine., 2011**). Mais il faut distinguer, les pathogènes authentiques qui déclenchent régulièrement une maladie chez des individus aux défenses immunitaires normales, des pathogènes dits opportunistes qui, dans la grande majorité des cas, ne sont à l'origine d'infections que chez des sujets aux défenses immunitaires altérées (**Zine el abidine., 2011**).

Les infections bactériennes sont causées par différents micro-organismes de Gram + et Gram- , et sont la cause des maladies les plus fatales et des épidémies les plus répandues (**Palici., 2016**). la pénétration d'une bactérie pathogène dans un organisme (**Marc et al., 2001**).

Elle peut être :

- Locale, lorsqu'elle se manifeste uniquement au niveau où les germes ont pénétré.
- Générale, lorsqu'un germe franchit les barrières opposées par l'organisme à son entrée (peau, muqueuses) ou au niveau des ganglions, il pénètre dans le sang et se dissémine par celui-ci dans tout l'organisme (Marc *et al.*, 2001).
- Focale : c'est l'infection en foyer dans les tissus ou organes où les germes sont apportés par la circulation sanguine (Marc *et al.*, 2001).

II.4. Caractéristiques des souches bactériennes utilisées

A. *Escherichia coli*

Escherichia coli est un bacille à gram négatif, de forme non sporulée, de type anaérobie facultative, généralement mobile grâce aux flagelles, sa longueur varie de 2 à 6 μm , alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5 μm . Les bactéries appartenant à l'espèce *E. coli* constituent la majeure partie de la flore microbienne aérobie du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux. Certaines souches sont virulentes, capables de déclencher spécifiquement chez l'homme ou chez certaines (Mourad., 2011).

B. *Staphylococcus aureus*

Les espèces *Staphylococcus aureus* sont des cocci à Gram positif, de forme sphérique, avec un diamètre de 0.8 à 1 μm . Elles sont regroupées en diplocoques ou en petits amas (grappe de raisin). Ce type de bactéries sont immobiles, asporulés, habituellement sans capsule. De nombreuses souches de *Staphylococcus aureus* produisent un pigment jaune doré représenté est la cause de méningite, ostéomyélite et la diarrhée (Mourad., 2011). La bactérie se cultive facilement sur les milieux usuels et aussi sur des milieux riches en Na Cl. Elle doit son nom d'espèce à l'aspect pigmenté de ses colonies. Elle possède une coagulase (enzyme provoquant la coagulation du plasma), ce qui la distingue de la plupart des autres espèces de staphylocoques, elle peut produire de nombreuses toxines (Nauciel *et al.*, 2005).

C. *Pseudomonas aeruginosa*

Les espèces *Pseudomonas aeruginosa* sont des bacilles à Gram négatif, ces bactéries fines sont de 1.5 à 3 μm de long et 0.5 à 0.8 μm de large. Il peut être cultivé facilement sur tous les milieux aérobie (température de 37°C ou 30°C) (Mourad., 2011). Elles sont mobiles grâce à une ciliature de type polaire monotriche, ce type de bactéries possède un aspect de "vol

moucheron" *P. aeruginosa* ne forme ni spores ni sphéroplastés. Elle est responsable de 10 % de l'ensemble des infections nosocomiales, occupant le 3^{ème} rang après *E. coli* et *S. aureus*, mais le 1^{er} rang pour les infections pulmonaires basses et le 3^{ème} rang pour les infections urinaires . (Mourad., 2011), il est aussi particulièrement résistant aux antibiotiques et même aux antiseptiques (Zine el abidine., 2011).

D. Klebsiella Pneumoniae

Klebsiella pneumoniae est une entéro-bactérie appartenant au genre *Klebsiella*. Il s'agit d'un bacille à Gram négatif toujours immobile et très souvent capsulé poussant sur milieu ordinaire en atmosphère aéro-anérobie, oxydase négative, fermentant le glucose et le lactose en produisant du gaz, produisant de l'indole et une uréase et fermentant l'acétone (réaction de Voges-Proskauer), réduisant les nitrates en nitrites (Bagley., 1978).

II.5. Antibiotiques

II.5.1. Définition

Les antibiotiques antibactériens sont des molécules qui inhibent sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries sans exercer habituellement d'effets toxiques pour les organismes supérieurs (Perronne., 1999). Les antibiotiques au sens strict, sont des produits élaborés par des microorganismes, mais on inclut généralement parmi eux des dérivés semi-synthétiques et les produits entièrement synthétiques (Bergogne *et al* ., 1995)..

Aux concentrations thérapeutiques, certains antibiotiques ont un effet bactériostatique, d'autre un effet bactéricide. Pour un antibiotique donné, cet effet ne s'exerce que vis-à-vis de certaines espèces bactériennes, ce qui définit son spectre d'activité (Page *et al.*, 1999)

Les antibiotiques comptent parmi les découvertes thérapeutiques majeures du vingtième siècle et ont fondamentalement modifié l'évolution de nombreuses maladies, réduisant la mortalité et la morbidité. D'autre part les antibiotiques font partie des médicaments les plus prescrits en partie à cause de l'excellente innocuité de nombre d'entre eux (Perronne., 1999).

II.5.2. Résistance des antibiotiques

La résistance bactérienne se définit comme la capacité de continuer à croître ou à survivre en présence de l'antibiotique. Les conditions d'activité d'un antibiotique sont de posséder une cible spécifique, de demeurer sous forme active, d'accéder à la cible et d'interagir efficacement avec elle en la désactivant (Diallo., 2013).

Il existe de nombreux mécanismes aboutissant à l'expression de la résistance et suivant son caractère inné ou acquis : la résistance naturelle et la résistance (**Diallo., 2013**).

La résistance naturelle est programmée sur le génome et constante à l'intérieur du taxon ; elle constitue un critère d'identification stable d'une espèce. Les résistances acquises sont quant à elles consécutives à des modifications de l'équipement génétique (**Diallo., 2013**).

Partie II.
Expérimentale

Chapitre 1.

Matériel et Méthode

Notre travail de recherche a été réalisé au niveau du laboratoire pédagogique qui fait partie de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université Echahid Hamma Lakhdar d'El Oued et l'activité antibactérienne a été réalisée au niveau de laboratoire EL_Medjed.

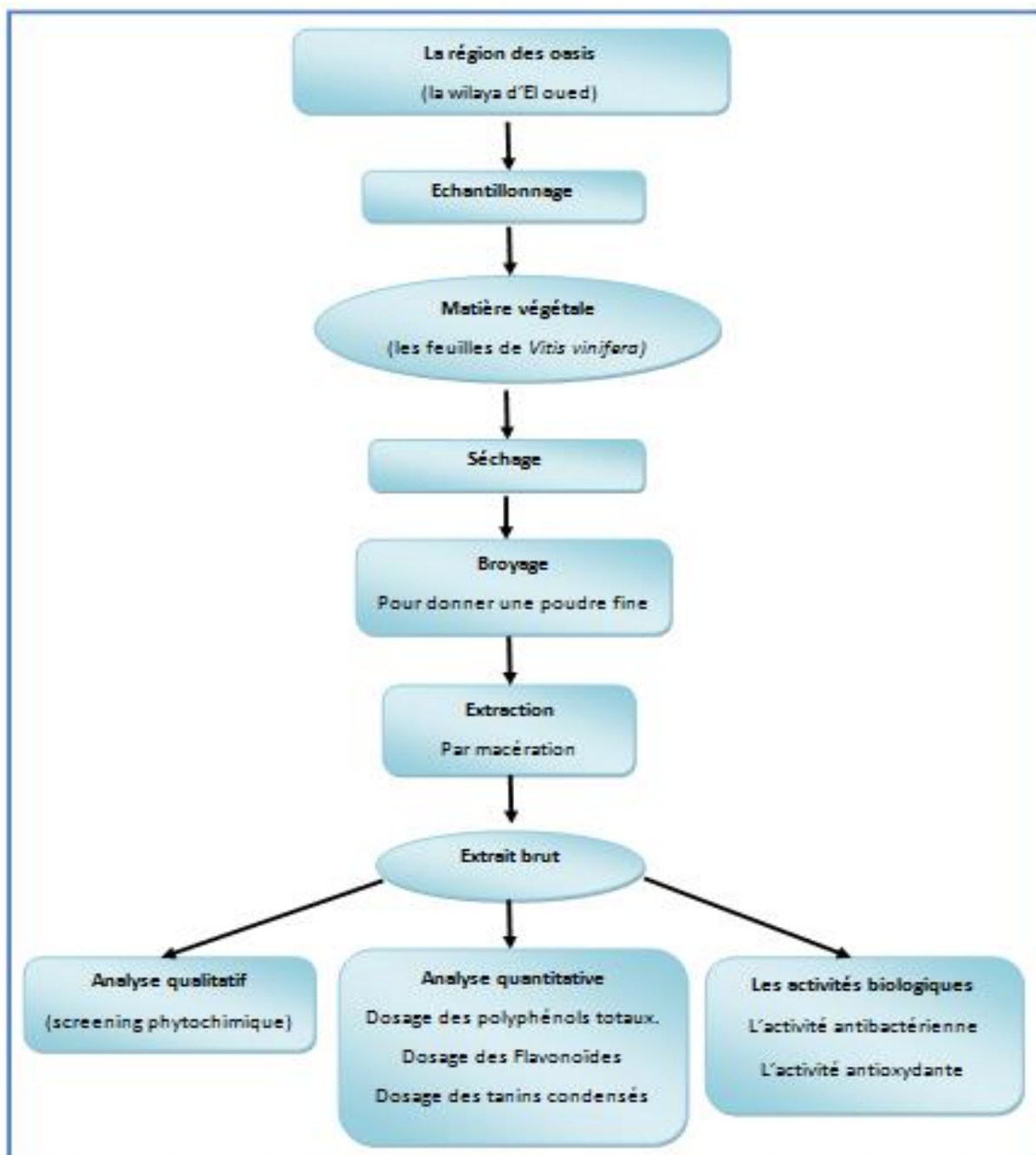


Figure 14. Schéma illustrant la démarche expérimentale suivie dans cette étude.

I. Matériel

I.1. Zone d'étude

I.1.1. Localisation géographique de la région d'étude

La wilaya d'El-Oued, aussi appelée Souf, est située au sud-est de l'Algérie. Elle s'étend sur une superficie de 44.586,80 km². Sa population est estimée à 925 000 habitants en 2020.

La wilaya d'El Oued est à vocation fortement agro-pastorale (Phoeniciculture, céréaliculture et oléiculture palmier dattier) (ANIREF., 2020).

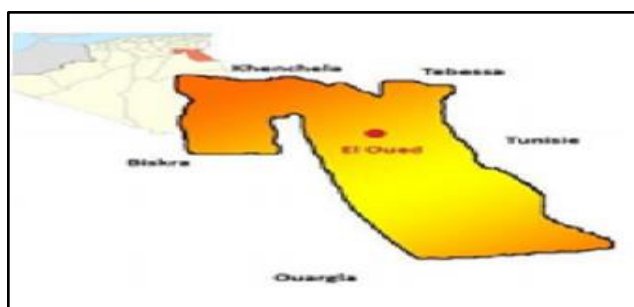


Figure 15. Situation géographique de La zone d'étude (ANIREF,2020).

Notre étude a été réalisée plus précisément dans la commune d' Ourmas de la wilaya d'El Oued en Algérie.

Ourmas est situé à l'ouest de la wilaya. Elle s'étend sur une superficie de 443 km². La population est estimée à 5900 habitants. La commune d'Ourmas est composée de trois localités : Hadhoudi, Louguiret et Ourmas. (ANIRE., 2020)

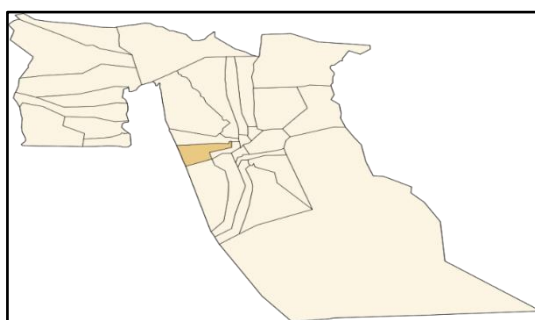


Figure 16. Localisation de la commune d'Ourmas dans wilaya d'El Oued (ANIRE., 2020).

I.1.2. Climat de la région

Le climat d'El Oued est subtropical désertique, avec des hivers doux et des étés très chauds et ensoleillés. Les précipitations ne dépassent pas 100 millimètres par an et la température moyenne est de 21.5°C (Dubost D., 2002).

I.2. Matériel végétal

Le matériel végétal sur lequel on a travaillé est les feuilles de *Vitis vinifera* qui ont été récoltées à partir d'un arbre de la région d' El Oued (la commune d' Ourmas) en 02 Décembre 2022 (**photo 01**). Nous avons sélectionné des feuilles vertes, fraîches, saines et exemptes des maladies. Une fois récoltées les feuilles ont été séchées et broyées pour être réduites en poudre.



Photo 01. Matériel végétal utilisé : feuilles séchées de *Vitis vinifera*.

La poudre obtenue est conservée dans un récipient en verre et stocké à l'abri de la lumière et de l'humidité.

Les caractéristiques de la plante étudiée sont présentées dans le tableau 04 :

Tableau 04. Caractères de la plante étudiée.

Nom	L'âge	Couleur de baies	Gout de baies	Présence ou absence des pépins
Dattier	15 ans	Verte	Sucré	Présents

I.3. Souches bactériennes

Les souches utilisées pour déceler l'activité antibactérienne de l' extrait des feuilles de la plante étudiée font partie de quatre genres des bactéries (Tableau 05). Ces souches obtenues du Institut de Pasteur en Algérie, et sont conservées dans le réfrigérateur dans des tubes à visser contenant milieu nutritive jusqu'à l'utilisation.

Tableau 05. Classification et caractéristiques des souches bactériennes utilisées (**Benabid, 2009 ; Sekhri-Arafa, 2011; Stewart *et al.*, 2015**).

Domaine	Bactérie	Bactérie	Bactérie	Bactérie
Embranchement	Proteobacteria	Prokaryota	Proteobacteria	Bacillota
Classe	Gammaproteobacteria	Gammaproteobacteria	Gammaproteobacteria	Bacilli
Ordre	Enterobacterales	Pseudomonales	Enterobacterales	Caryophanales
Famille	Enterobacteriaceae	Pseudomonaceae	Enterobacteriaceae	<i>Staphylococcaceae</i>
Genre	<i>Escherichia</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Staphylococcus</i>
Espèce	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Origine	ATCC 25922	ATCC 27853	ATCC 13883	ATCC 25932
Gram	-	-	-	+

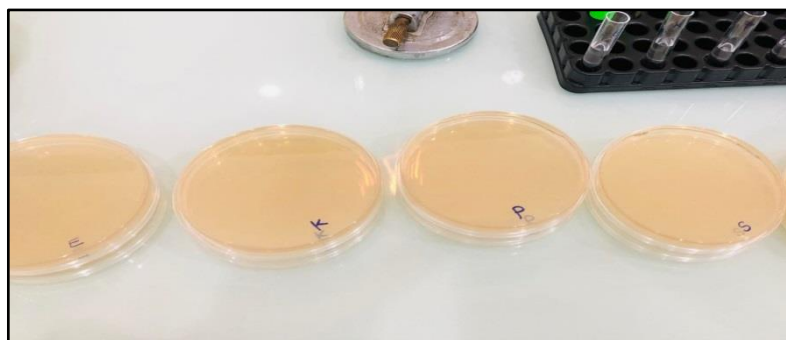


Photo 02. Les quatre souches bactériennes utilisées.

1.4. Antibiotique témoin

Pour évaluer l'activité antibactérienne on utilise l'antibiotique gentamicine (50 µg/disque) pour faire le contrôle positif.

La gentamicine (G) est choisie grâce à sa disponibilité et son spectre d'action très important. .

1.5. Matériels techniques d'étude au laboratoire

A- Produits chimiques et réactifs utilisés

- ✓ Trichlorure d'aluminium (AlCl₃) 2%.
- ✓ Folin-Ciocalteu.
- ✓ Magnésium
- ✓ acide gallique.
- ✓ Vanilline (99.5%).
- ✓ Diméthyle sulfoxyde (DMSO).
- ✓ Méthanol.
- ✓ Eau oxygéné.

- ✓ Chlorure d'hydrogène (HCl).
- ✓ Carbonate de sodium (7.5%) (Na_2CO_3).
- ✓ Chlorure Ferrique 1% et 2% (FeCl_3).
- ✓ Quercétine d'hydrate 97% ($\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$).
- ✓ Acide sulfurique (H_2SO_4) Concentré.
- ✓ Liqueur de fehling.
- ✓ Eau distillée.
- ✓ Réactif de Drajendrof.
- ✓ Chloroforme (CHCl_3).
- ✓ hydroxyde de sodium (NaOH).
- ✓ Ethanol.
- ✓ Hydroxyde d'ammonium (NH_4OH) .
- ✓ Eau physiologique stérile à 0.9%.
- ✓ Diphénylpicryl-hydrayl (DPPH).
- ✓ Acide ascorbique.

B- Verreries et petits matériel

- ✓ Erlenmeyer.
- ✓ Entonnoir.
- ✓ Pipette pasteur
- ✓ Bécher de 500 ml et 1000 ml.
- ✓ Tubes à essai
- ✓ Micropipette 100 μl .
- ✓ Flacons en verre de 250 ml.
- ✓ Boites Pétri.
- ✓ Ecouillons
- ✓ Seringue de 5 ml.
- ✓ Pinces.
- ✓ Disque de papier wattman.
- ✓ Spatule.
- ✓ Anse de platine.
- ✓ Pied à coulisse.
- ✓ Stylo et carnet.

C- Appareillages

- ✓ Spectrophotomètre (UV-1240 SHIMADZU).
- ✓ Evaporateur rotatif (Rotavapor BUCHI Heating bath R-210).
- ✓ Micropipette ajustable.
- ✓ Etuve (Mommert, Beschickung-Loadig Model 100-800).
- ✓ Balance analytique (Shangai Sunrise Instrument precision 0.1 mg).
- ✓ Autoclave de type Pbinternational.
- ✓ Bec benzène.
- ✓ Appareil photo du téléphone (SAMSUNG).

1.6. Milieu de culture

❖ milieu de culture type hinton

On utilise gélose Mueller Hinton (photo 03) pour l'étude de la sensibilité des souches bactériennes aux différents concentrations d'extraits hydro-méthanoliques.



Photo 03. Milieu de culture (gélose Mueller Hinton).

❖ Milieu gélose nutritive (GN)

I. Méthode

II.1. Récolte, séchage et broyage

A.Récolte

Les feuilles de *Vitis vinifera* ont été recueillie en 02 /12/2022 dans la région d'Ourmas de la wilaya d'El-Oued.

B. Séchage

Le séchage est considéré comme l'opération unitaire qui consiste à éliminer par évaporation l'eau d'un corps humide. Cette opération est endothermique et nécessite l'apport d'énergie thermique (A. Belghit *et al.*, 2000).

L'étape de séchage de la plante récoltée permet de sa conservation à une température ordinaire sur de longues durées d'utilisation.

Les plantes récoltées sont bien étalées sur une surface, sèche, propre et renouvelée périodiquement, elles sont séchées naturellement à température ambiante et à l'abri de la lumière durant 2 semaines (OMS., 2003).

C. Broyage

Les feuilles sont broyées à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre fine. La poudre obtenue est conservée dans un récipient en verre et stocké à l'abri de la lumière et de l'humidité.

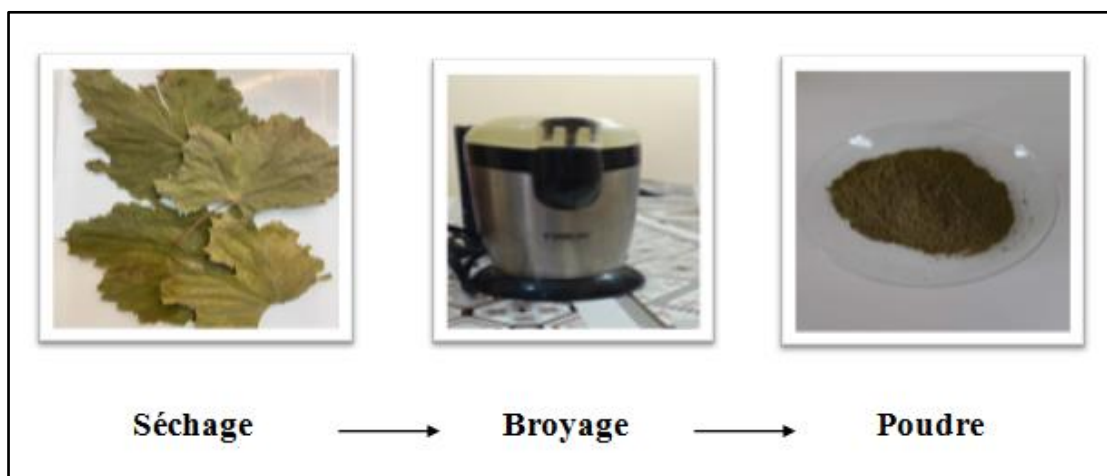


Figure 17. Différentes étapes d'obtention de la poudre des feuilles de *Vitis vinifera*.

II.2. Extraction des composés phénoliques

II.2.1. Préparation de l'extrait

L'extraction végétale est un procédé visant à extraire certains constituants présents dans les plantes. C'est une opération de séparation solide/liquide : un corps solide (le végétal) est mis en contact d'un fluide (le solvant). Les composés d'intérêts végétaux sont alors solubilisés et contenus dans le solvant (Maricela *et al.*, 2001).

La macération est la méthode d'extraction solide-liquide la plus simple. Elle consiste en la mise en contact du matériel végétal avec le solvant sans ou avec agitation, L'opération bien que généralement longue mais elle présente un rendement souvent médiocre (**Leybros et Fremeaux., 1990**).

La préparation des extraites hydro-méthanoliques a été effectuée par une macération pendant 24 heures de la poudre de la plante dans 100 ml de méthanol/ eau (70/30), Cette macération se fait en trois temps, c'est-à-dire pendant trois jours successifs avec changement du solvant chaque 24h à la température ambiante et à l'abri de la lumière, Ensuite le mélange est filtré sur papier Wattman. Ensuite, la filtration est réalisée sur papier filtre et le solvant a été récupéré du filtrat par évaporation dans un Rotavapeur à une température de 50°C. (**Talbi et al., 2015**)

La solution obtenue est séchée dans l'étuve (45°C) pendant 24H pour obtenir une poudre ou pâte qui est conservée au 4°C jusqu'à son utilisation (**Khosravi et al., 2013**).

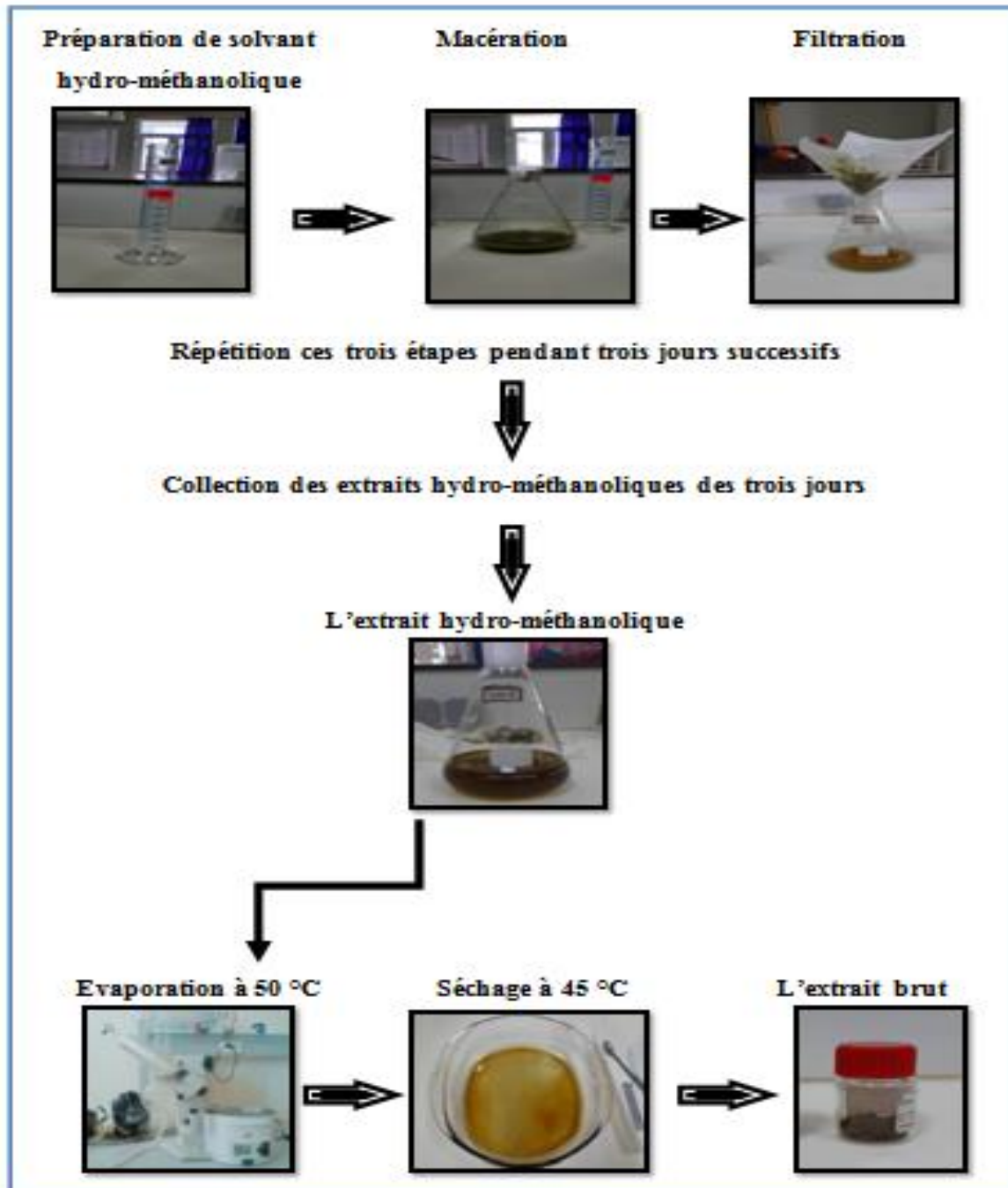


Figure 18. Schéma représentative des étapes d'extraction des composés phénoliques.

II.2.2. Rendement d'extraction

Le rendement est calculé par le rapport de la masse de l'extrait brut sur la masse de la matière végétale sèche, selon la formule suivante :

$$R \% = (P1/P2) \times 100$$

- **R** : est le rendement en %.
- **P1** : Poids de l'extrait brut (mg).
- **P2** : Poids de matière végétale sèche (mg) (**Falleh et al., 2008**).

II.3. Analyse qualitative de l'extrait (screening phytochimique)

Le screening phytochimique est le moyen indispensable pour mettre en évidence la présence des groupes de familles chimiques présentes dans un échantillon donné. Les tests phytochimiques ont pour objectif de rechercher les substances bioactives (métabolites primaires ou secondaires) synthétisées par cette plante. Ils sont effectués soit sur la poudre, soit sur l'infusé à 5 %, ou bien sur le jus (**Wong et al., 2006 ; Raaman et al., 2006**).

Les métabolites sont révélés par les tests suivants :

- **Test de polyphénols :**

La réaction au chlorure ferrique (FeCl_3) permis de caractériser les polyphénols. A 1 ml de chaque extrait, nous avons ajouté une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2%. L'apparition d'une coloration bleu-noirâtre ou verte plus ou moins foncés fut le signe de la présence de polyphénols (**Koffi et al., 2009**)

- **Test de Tanins :**

À 0.5 mL d'extraits, on ajoute quelques gouttes de FeCl_3 (1% préparé au méthanol). Après l'agitation de l'extrait, la présence des tanins est indiquée par une coloration brun verdâtre (tanins catéchiques) ou bleu-noirâtre (tanins gallique) (**Karumi et al., 2004**)

- **Test de Flavonoïdes :**

À 1 mL d'extraits, on ajoute quelques gouttes d'acide chlorhydrique concentré (HCl), puis quelques copeaux de tournures de magnésium. La présence des flavonoïdes est indiquée par une coloration rouge, orange ou rose après 3 minutes (**Karumi et al., 2004**).

- **Test de Alcaloïdes :**

1 ml d'extrait végétal est additionné d'une goutte de HCl concentré puis on ajoute deux gouttes de réactif de Dragendrof. L'apparition d'un précipité ou d'une coloration orange, rouge ou blanc indique la présence des alcaloïdes (**Bagre et ai., 2007**).

- **Test de Terpénoïdes (Test de Slakowski) :**

À 2 mL d'extraits, on ajoute 0,4 mL de chloroforme et 0,6 mL d'acide sulfurique (H_2SO_4). Le test positif est indiqué par l'apparition de deux phases et une couleur marronne à l'interphase (**Khan et al., 2011**).

- **Test de saponosides :**

La détection des saponosides est réalisée en ajoutant un peu d'eau à 2 ml de l'extrait, puis la solution est fortement agitée. Ensuite, le mélange est laissé pendant 20 minutes et la teneur en saponosides est évaluée :

- Pas de mousse = test négatif.
- Mousse moins de 1 cm = test faiblement positif.
- Mousse de 1-2 cm = test positif.
- Mousse plus de 2 cm = test très positif (**Kanoun., 2011**).

- **Test de composés réducteurs :**

À 1 mL d'extrait brut, on ajoute 1 mL de réactif de Fehling, puis le tube est incubé au bain marie pendant 2 à 3 minutes. Un test positif est obtenu par la présence d'un précipité rouge brique (**Békro et al., 2007**).

- **Test des Anthocyanes :**

À 1 ml d'extrait on ajoute 1 ml d'acide sulfurique (H_2SO_4) puis 1 ml d'hydroxyde d'ammonium (NH_4OH). Une coloration rouge en milieu acide et bleue violacée en milieu basique témoigne de la présence d'anthocyanes (**Mibindzou Mouellet., 2004**).

- **Test des quinones :**

À 1 mL d'extraits, on ajoute 0,1 mL d'hydroxyde de sodium ($NaOH$, 1%). Le virage de la couleur au rouge ou bleu vert indique la présence des quinones libres (**Oloyede, 2005**).

II.4. Analyse quantitatives

II.4.1. Dosage des polyphénols totaux (PPT)

- **Principe**

Les polyphénols sont estimés par la méthode de Folin Ciocalteu (**Wong et al. 2006**). Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (**Ribéreau-Gayon., 1968**). Cette coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle

aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu donne un maximum d'absorption environs 750-765 nm. (Bonnaillie *et al.*, 2012).

- **Mode opératoire**

Le test consiste à mettre 200 µl de l'extrait dans un tube à essais, additionné à un mélange de 1 ml de Folin ciocalteu 10 fois dilué par l'eau distillé et 0,8 ml de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 7,5%. Le tube est agité et conservé durant 30 minutes à la température ambiante à l'abri de la lumière. L'absorbance est mesurée à 760 nm.

Une courbe d'étalonnage à différentes concentrations d'acide gallique a été préparée (0.01-0.11 mg/ml), dans les mêmes conditions de dosage de solution.

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique. Elle est exprimée en µg d'équivalent d'acide gallique par milligramme de matière sèche (µg EAG/mg MS) (Hogan *et al.*, 2009).

II.4.2. Dosage des flavonoïdes totaux (FVT)

- **Principe**

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode basée sur la formation d'un complexe coloré très stable, entre le chlorure d'aluminium (AlCl_3) et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes. Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer *et* aluminium). L'intensité de la coloration est proportionnelle aux taux des flavonoïdes présents dans le milieu (L.Lagnik., 2005). La quercétine est utilisée comme un standard (Figure 19).

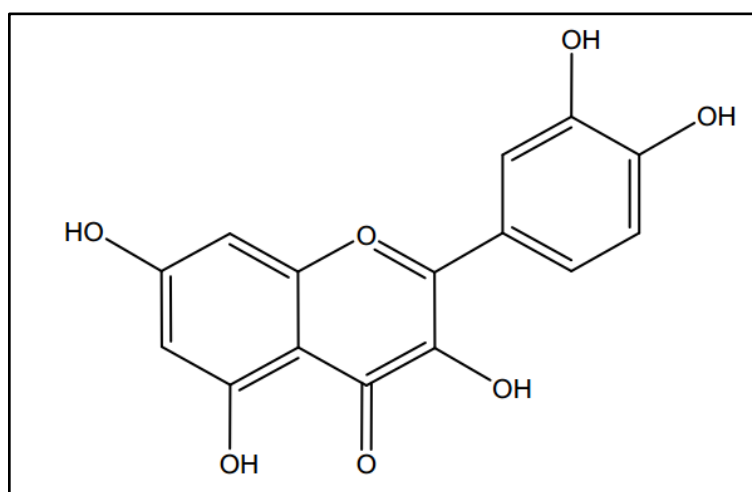


Figure 19. Structure de la quercétine (Nabti et Belhattab., 2016).

- **Mode opératoire**

La teneur d'extrait en flavonoïdes a été déterminée par la méthode de chlorure d'aluminium décrite dans **Bahorun et al., 1996**, avec modification légère, Mettre 1ml d'extrait dans un tube à essai; Ajouter 1 ml d'une solution méthanolique de chlorure d'aluminium 2%, Après 30 minutes de réaction, l'absorbance est lue à 430 nm (**Nabti et Belhattab., 2016**). La courbe d'étalonnage a été réalisée par la quercétine à différentes concentrations (0.01-0.05 mg/ml), dans les mêmes conditions de dosage. La concentration des flavonoïdes est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine et est exprimée en microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme de matière sèche ($\mu\text{g EQ/mg MS}$) (**Meziti., 2009**).

II.4.3. Dosage des tanins condensés (TC)

- **Principe**

Nous avons adopté la méthode à la vanilline avec l'HCl. Cette méthode dépend de la réaction de la vanilline avec le groupement flavonoïde terminal des TCs et la formation de complexes rouges, cela s'explique par la propriété des tanins à se transformer en anthocyanidols de couleur rouge par réaction avec la vanilline (**B. et al., 1998**).

- **Mode opératoire**

La teneur en tanins condensés a été déterminée par la méthode de vanilline en milieu acide.

Pour quantifier les tannins condensés, il faut utilisée une courbe standard. La courbe standard de l'acide gallique. La courbe d'étalonnage a été obtenue par des solutions d'acide gallique de concentration varie entre 0.2 jusqu'à 0.8 mg/ml. 0.5 ml de solution a été introduit à l'aide d'une micropipette dans des tubes à essai en verres, et ont été ajoutés 3 ml de la solution vanilline/méthanol (4%, v/v), puis mélangé à l'aide d'un vortex. Ensuite, 1.5 ml de HCl a été additionnés. Le mélange obtenu a été laissé réagir à la température ambiante pendant 30 min. L'absorbance a été mesuré à 500 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis (**Mahmoudi et al., 2013**). La concentration des tanins est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique et est exprimée en microgramme d'équivalent d'acide gallique par milligramme de matière sèche ($\mu\text{g EAG/mg MS}$) (**Meziti, 2009**).

II.5. Activités biologiques

II.5.1. Activité antibactérienne

La technique que nous avons utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne de l'extrait des feuilles est l'antibiogramme. Ce dernier est une méthode de diffusion en milieu gélosé standardisée par NCCLS (National Comite for Clinical Laboratory Standards) cité par **Celiktas et al., 2007**). Elle permet de déterminer l'activité inhibitrice de la croissance des agents bactériens par la mesure du diamètre d'inhibition autour du disque imprégné de notre extrait. Toutes les souches utilisées sont obtenues du l'Institut de Pasteur en Algérie

A. Conservation des souches

Les souches bactériennes qui font l'objet de notre étude sont conservés dans des tubes contenant de la gélose nutritive à 4 °C pendant 2 jours.

B. Revivification des souches bactériennes

La revivification des souches microbiennes a pour objectif l'obtention d'une culture pure et jeune. Elle est réalisée par la méthode des stries (quatre cadrans). Les souches sont alors revivifiées à partir des tubes de conservation sur milieu GN. Les cultures sont incubées à l'étuve à 37°C pendant 24 heures.

C. Préparation des disques

Les disques sont préparés à partir de papier Wattman de 6 mm de diamètre. Pour donner une zone d'inhibition facile à mesurer. Après la préparation, les disques sont introduits dans un flacon en verre et placés dans l'autoclave pendant 30 minutes à 120 °C.

D. Préparation de milieu de culture

La gélose Mueller Hinton est un milieu solide standardisé recommandé pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux agents antimicrobiens par la méthode de diffusion.

En dissolvant le poudre de **gélose Mueller Hinton** dans l'eau (38 grammes dans 1000 ml d'eau distillée) dans un bécher placé sur un agitateur plaque chauffante. Le milieu est bouilli pendant quelques secondes jusqu'à dissolution complète des ingrédients. Il est stérilisé par autoclavage à une pression de 15 lb (121°C) pendant 15 minutes.

Refroidir à 47°C, bien mélanger avant de verser dans des boîtes de Pétri stériles sur une épaisseur de 4 mm (**EUCAST., 2021**).

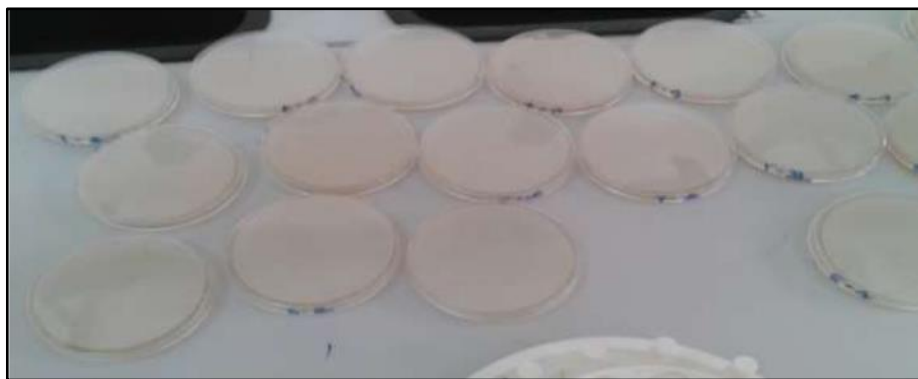


Photo 04. Boite de pétrie contenant gélose Muller Hinton.

E. Préparation des dilutions des extraits

Différentes concentrations d'extrait hydrométhanolique de *Vitis vinifera* ont été préparé par DMSO.

Les concentrations sont: 1 mg/ml, 0.75 mg/ml, 0.5 mg/ml et 0.25 mg/ml (**Meddour et al., 2013**).

F. Inoculum

Racler à l'aide de l'anse de platine quelques colonies bien isolées et évidentes puis le décharger dans 5 ml d'eau physiologique stérile à 0.9 %, bien homogénéiser la suspension bactérienne (**DJELLOUL DAOUADJI, 2010**).

G. Repiquage des souches bactériennes et mesure du diamètre d'inhibition

L'ensemencement des souches sur milieu gélosé est fait par écouvillonnage en stries serrées. Ensuite, des disques en papier Wattman de 6 mm de diamètre renfermant 10 µl d'extrait ont été déposés à la surface des milieux de culture. L'incubation a été faite à 37 °C pendant 24 heures. L'activité antibactérienne de l'extrait est déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition. A titre comparatif, UN antibiogramme réalisé avec des disques contenant des antibiotiques (témoin positif) appropriés prêts à l'emploi ont été utilisés. Trois répétitions sont réalisées pour chaque souche microbienne.

H. Application des disques d'antibiogramme

En effet de chaque dilution on prélève 10 µl et on la met dans les disques, les disques doivent être espacés de 24 mm. La boîte de contrôle, réalisée pour l'expérience, est une boîte ensemencée contenant deux disques, l'un de contrôle positif Gentamycine 50 µl et l'autre de contrôle négatif DMSO. Une fois appliqué, le disque ne doit pas être déplacé (**Rahal., 2011**).

I. Incubation et lecture

Après incubation 18-24 heures à 37°C dans l'étuve, La lecture de l'activité antibactérienne est déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse de type Horex (**BOUDJOUREF., 2011**).

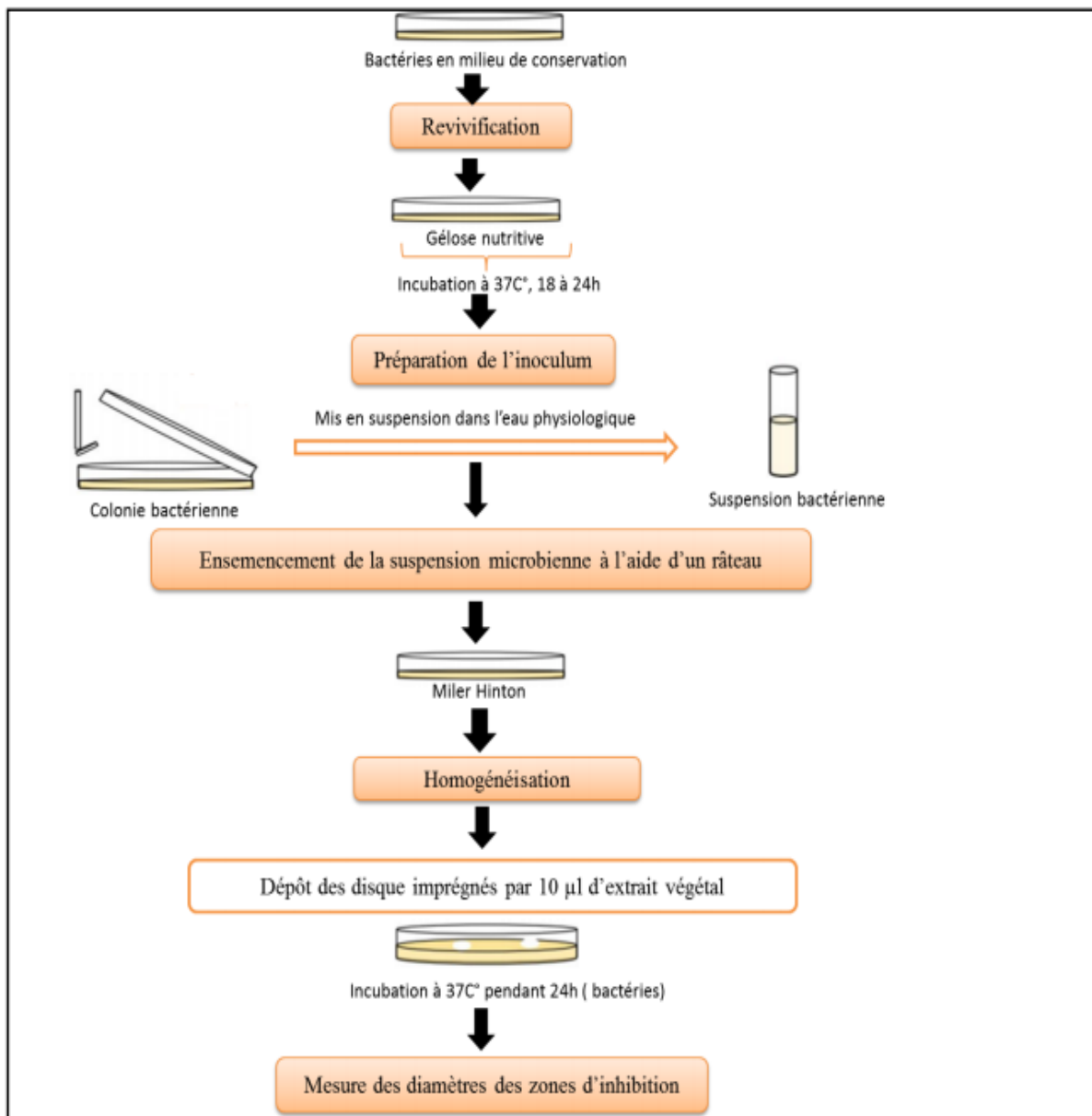


Figure 20. Protocole d'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait végétal (**Salhi et Soltane., 2018**).

II.5.2. Activité antioxydante

Les antioxydants naturels sont ; pour la plupart ; des composés phénoliques qui possèdent au moins un noyau aromatique, contenant un ou plusieurs substituants, en effet cette propriété antioxydante est en relation directe avec la structure de ces molécules (**Cosio et al., 2006**).

Plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour estimer l'activité antioxydante *in vitro*. Certaines d'entre elles reposent sur la capacité réductrice d'un composé comme étant un indicateur significatif de son potentiel antioxydant, d'autres reposent sur la mesure d'une molécule à piéger les composés radicalaires (Javanmardi., 2003).

La méthode DPPH a été choisie, en raison de sa simplicité, rapidité, sensibilité et de sa reproductibilité (Sanche-Moreno., 2002).

❖ Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picryl-hydrazil)

• Principe

L'activité antiradicalaire a été évaluée en utilisant le DPPH, qui fait l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité (BRAND-WILLIAM *et al.*, 1995).

Le DPPH (2.2-diphényl-1-picryl-hydrazyl) est un radical libre stable à température ordinaire possède un électron non apparié sur un atome de pont d'azote et présente une couleur rose-violacée bien caractéristique. Cette délocalisation empêche la polymérisation, qui reste sous forme monomère relativement stable.

Dans le test du DPPH, les antioxydants réduisent le radical DPPH (diphénylpicryl-hydrayl) ayant une couleur violette en un composé jaune (diphénylpicryl-hydrazine) dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Sanchez Moreno., 2002). (Fig).

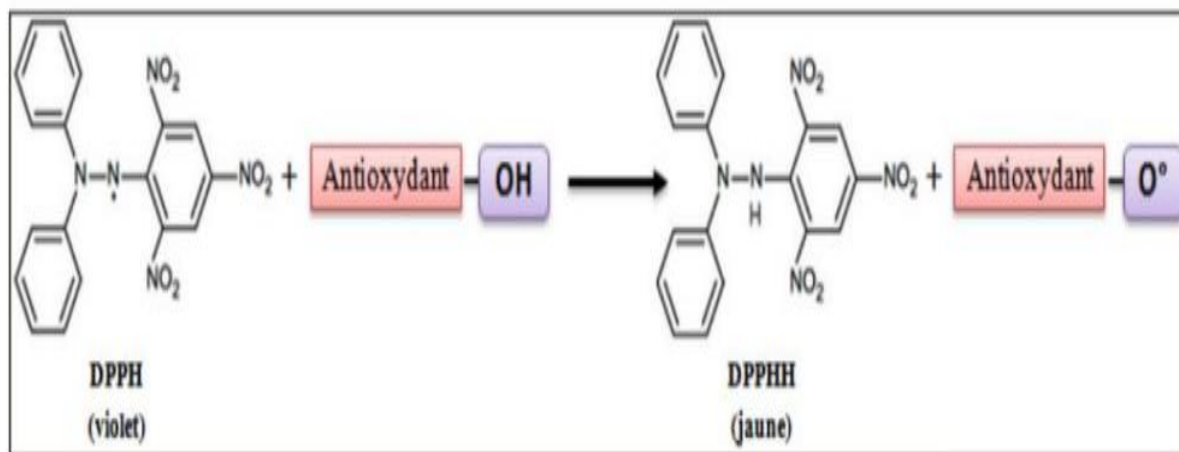


Figure 21. Réaction du test DPPH (2.2 Diphényl 1 picryl hydrazyl) (Liang et Kitts., 2014).

• Mode opératoire

L'activité antioxydante de l'extrait est mesurée par la méthode décrite par BRAND-WILLIAM *et al* (1995). L'évaluation de l'activité antioxydante est réalisée comme suit : Un volume de 1 ml de la solution de DPPH (0.1mM) est mélangé avec 0.5 ml d'extrait des

feuilles ou des antioxydants standards (acide ascorbique). Après 30 minute d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est lue à 517 nm. Contre un témoin composé de 1 ml de la solution de DPPH et de 0.5 ml de méthanol.

- **Expression des résultats**

Le résultat exprimé en IC 50 qui est calculé à partir de courbe de la variation du pourcentage d'inhibition % (I %) en fonction de la concentration de l'extrait. Il faut rappeler plus que la valeur de IC50 est petite plus que l'activité de l'extrait est grande (**Popovici., 2009**).

La préparation de l'échantillon et du témoin est réalisée dans les mêmes conditions opératoires. La décroissance de l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre et le pourcentage d'inhibition est calculé suivant la formule ci-dessous :

$$\text{Inhibition (\%)} = [(Ac - Ae) / Ac] \times 100$$

Avec :

- **Ac:** absorbance du control (ne contenant aucun antioxydant).
- **Ae:** absorbance mesuré de l'extrait.

L'activité antiradicalaire exprimée en IC50 (mg/ml), la dose antiradicalaire nécessaire pour provoqué 50 % d'inhibition.

En faisant varier la concentration de l'extrait et en calculant pour chaque concentration le %IC correspondant, nous avons établi une régression linéaire entre les différentes concentrations et les %IC .

A partir de cette régression, nous avons déduit la valeur d' IC50 correspondante.

Le IC50 de l'extrait est comparé avec celle de l'acide ascorbique qui est considéré comme un antioxydant standard.

II.6. L'analyse Statistiques

Dans cette étude nous avons utilisé le test statistique par le logiciel EXCEL. Toutes les expériences ont été faites en triple, les résultats sont donnés sous forme de moyennes avec son écart-types.

Chapitre 2.

Résultat et discussion

III.1. Rendement d'extraction des composés phénoliques

L'extraction ont été effectuée à partir des parties aériennes (feuilles) de *Vitis vinifera*, l'extrait brut s'est présenté par des ensembles des caractéristiques qui sont résumées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 06. Les caractères organoleptiques de nos extraits.

Aspect	Couleur	Odeur
-Pâteux -Collant -Cristallin	-Vert Foncé	-L'odeur des feuilles



Photo 05. L'aspect de l'extrait brut des feuilles de la plante étudiée.

Le rendement est calculé par rapport au poids de la matière sèche du *Vitis vinifera*.

$$R \% = (P1/P2) \times 100$$

P1 : Poids de l'extrait brut (mg)

P2 : : Poids de matière végétale sèche(mg)

Le rendement de l'extrait obtenu à partir de la plante est égal **17.17 %** .

L'extraction est une technique sélective repose sur la solubilité des espèces à extraire dans un solvant donné. Les composés d'intérêts végétaux sont alors solubilisés et contenus dans le solvant. Sont des composés organiques contenant au moins un groupe hydroxyle lié à un atome de carbone saturé

Notre résultat est plus élevé que le résultat obtenu par **Sushma Devi et Randhir Singh, 2017** qu'est égal 9.2%. **Salhi et Soltane (2018)** ont travaillé sur la même variété que nous (

Dattier d'origine Touggourt) et ont trouvé un rendement de 22.75%. Par comparaison, leur rendement est plus important que le rendement obtenu dans notre étude.

A partir de ces comparaisons, les extraits hydro-méthanolique des feuilles de *Vitis vinifera* se diffèrent d'une plante à l'autre même s'ils sont de la même variété.

Les variations des rendements d'extraction peuvent être dues à différents facteurs. Ces facteurs sont conclus dans les points suivants :

- Facteurs liés à la méthode d'extraction (**Perva-Uzunalic et al., 2006**).
- Facteurs liés à la plante (âge de la plante) (**Liu et al., 2015**).
- Facteurs liés à l'environnement (la nature de sol, condition climatique) (**Liu et al., 2015**).

III.2. Analyse qualitative de l'extrait (screening phytochimique)

Les tests phytochimiques consistent à un but de mise en évidence des différentes familles de composés existantes dans la plante par les réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques. Les résultats de ce criblage phytochimique sont reportés dans le Tableau 07. Il révèle la présence ou l'absence d'un groupe de métabolites.

Tableau 07 : Résultats des tests phytochimiques de l'extrait de la plante étudiée.

Métabolites	Observation	Résultat
Polyphénols	Apparition d'une couleur verte	+++
Flavonoïdes	Apparition d'une couleur rose	+++
Tanins catéchiques	Apparition d'une couleur brun-verdâtre	+++
Tanins galliques	Pas de couleur bleu noirâtre	-
Alcaloïdes	Apparition d'une couleur rouge	+++
Terpénoïdes	Pas d'apparition d'un interphase marron entre deux phases	-
Saponosides	Pas de formation d'une mousse	-
Composés réducteurs	Formation d'un précipité rouge brique	++
Anthocyanes	Pas de couleur rouge en milieu acide ni virage au bleu en milieu basique	-
Quinones	Apparition d'une couleur rouge	++

- +++ fortement positif (riche)
- ++ positif (présent en moyenne quantité)
- +faiblement positif (traces)
- négatif (absent)

Les tests phytochimiques nous ont permis de mettre en évidence les différents métabolites secondaires présents dans l'extrait des feuilles de *Vitis vinifera* étudiées par des ensembles des réactions .

D'après les résultats obtenus, nous avons notés que l'extrait hydro-méthanolique en générale est riche en métabolites secondaires dotées de plusieurs activités biologiques, représentés principalement par des polyphénols, des flavonoïdes, des tanins catéchiques, des alcaloïdes et en métabolites primaires représentés par des composés réducteurs.

Les quinones est présent en moyen quantité dans l'extrait de la plante étudiée.

Il est à signaler une absence totale des tanins galliques, des terpénoïdes, des saponosides et des anthocyanes.

La richesse des feuilles en métabolites secondaires est expliquée par leur production importante par la plante en réponse au stress environnemental (déficience en éléments nutritifs, sécheresse, surchauffage et l'intensité lumineuse) donc les plantes qui vivent dans des zones arides produisent plusieurs types de métabolites secondaires afin de se défendre et pouvoir subsister aux contraintes imposées par le climat et le milieu (**MOHAMMEDI, 2013**). C'est le cas de notre plante qui vive dans une région aride et chaude (El Oued).

En plus, les métabolite secondaires confèrent la saveur, la couleur, une mécanisme de défense aux agressions provoquant des maladies chez les végétaux et d'autres caractéristiques à la plante (**RIRA., 2006**).

En effet les flavonoïdes jouent un rôle dans la coloration des végétaux (**RIBÉREAUGAYON et REYNAUD., 1968**), Aussi ils possèdent des rôles très importants dans les plantes, dont elles protègent les plantes contre le stress hydrique, les bactéries, les virus et les moisissures et génère une tolérance des plantes aux métaux lourds présente dans les sols. En outre, ils sont des antioxydants par leur action anti radriculaire (**MAKHLOUFI, 2010**)

En parallèle, les tanins donnent un goût amer aux feuilles et les rendent impropres à la consommation pour les insectes (**EBERHARD et al., 2005**).

Les résultats de la présente étude sont en accord avec ceux trouvés par **Bouderhem** et **Logab (2020)** ayant travaillé sur l'étude phytochimique de la vigne cultivée dans les oasis. En effet, ces auteurs signalent la présence des polyphénols, , flavonoïdes, tannins catéchiques saponosides, alcaloïdes, composés réducteurs, anthocyanes et quinones et l'absence des tannins galliques, terpénoïdes et saponosides. Tandis que pour des anthocyanes , nos résultats sont contre cela, où ils montrent leur absence.

Cette grande compatibilité est due au fait que les deux plantes partagent la même origine (oasis) donc les caractéristiques climatiques et environnementales sont proches.

On explique la différence par des autres facteurs qui influent sur les métabolites secondaires qualitativement et quantitativement tel que le stade de développement, le sol, la culture de la vigne et le traitement auquel est soumise (**SAWA et al., 1999**).

III.3. Analyse quantitative

III.3.1. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux a été estimée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu. La coloration bleue obtenue varie en fonction de la concentration de l'extrait de la plante en composé phénolique. L'acide gallique est le standard le plus souvent employé dans cette méthode. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage qui présente une linéarité de l'absorbance (nm) en fonction des concentrations (mg/ml) (figure 22), ayant l'équation :

$$y = 13.645x - 0.0664 \text{ avec } R^2 = 0.9726$$

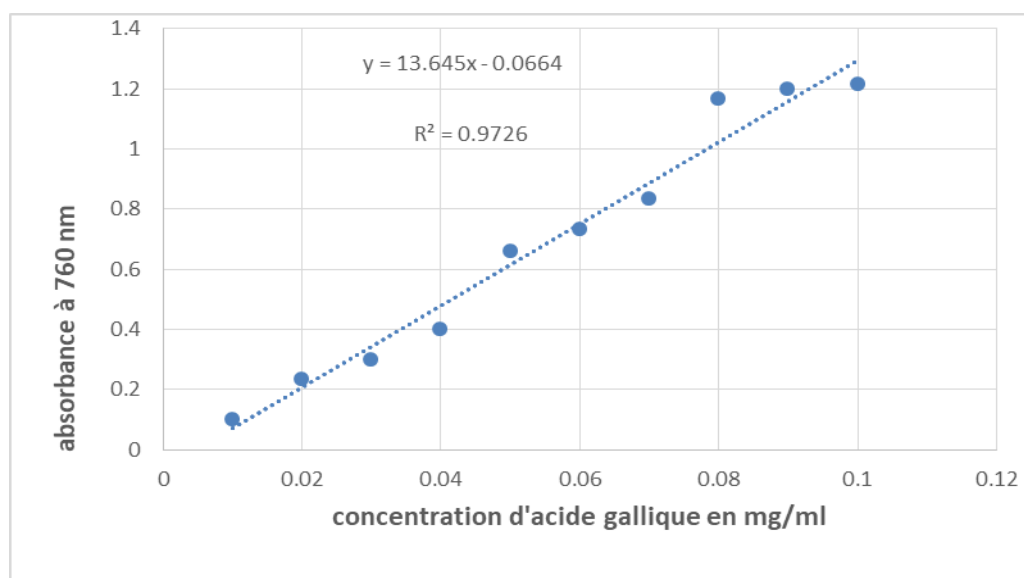


Figure 22. Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des PPT.

À partir de la courbe d'étalonnage, la concentration des PPT de l'extrait hydro-méthanolique de *Vitis vinifera* par macération est de l'ordre de $56.574 \pm 0.17 \mu\text{g EAG/mg MS}$.

Les résultats de dosage de PPT montrent que l'extrait hydro-méthanoliques est riche en polyphénols, Les résultats obtenus sont moins importants à ceux trouvés par **Yu, Lim et al (2014)** qui ont déterminé la teneur en polyphénols des feuilles de *Vitis labruscana Bailey* avec teneur moyenne $328.5 \pm 1.0 \text{ mg Eq en acide gallique /g MS}$.

III.3.2. Dosage des flavonoïdes totaux (FVT)

Le dosage des flavonoïdes totaux a été réalisé selon la méthode au trichlorure d'aluminium. La quercétine est le référence employé dans cette méthode. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage qui présente une linéarité de l'absorbance (nm) en fonction des concentrations (mg/ml) (figure 23), ayant l'équation :

$$y = 27.25x + 0.0649 \text{ avec } R^2 = 0.9994$$

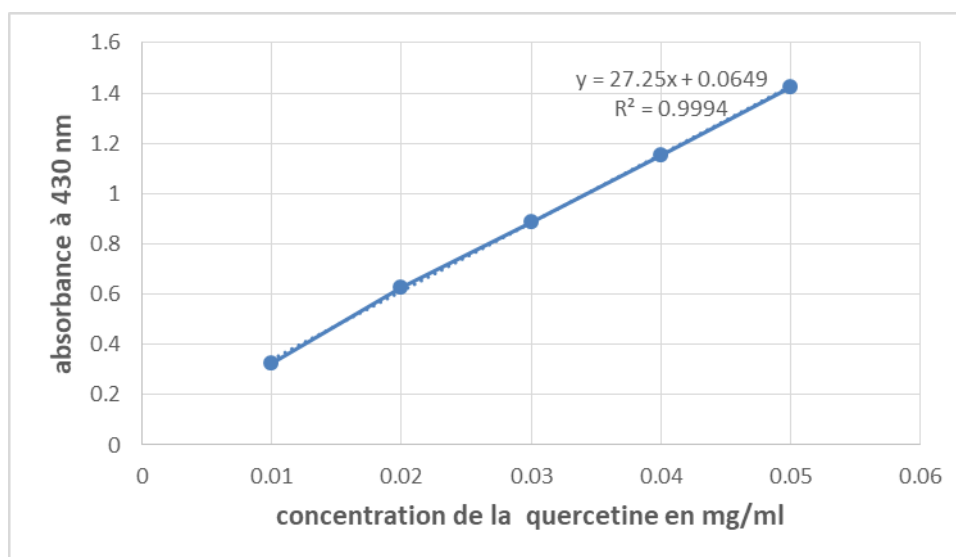


Figure 23. Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des FVT.

À partir de la courbe d'étalonnage, la concentration des FVT de l'extrait hydro-méthanolique de *Vitis vinifera* par macération est de l'ordre de $10.10 \pm 1.16 \mu\text{gEQ/mg MS}$.

Bouderhem et Logab ont trouvé des valeurs de teneurs en FVT plus importantes que la valeur trouvée par nous. Elles ont étudiés trois variétés différentes dont les teneurs en FVT comprennent entre $16.63 \mu\text{gEQ/mgMS}$ et $22.84 \mu\text{gEQ/mgMS}$.

III.3.3. Dosage des tanins condensés (TC)

Le dosage des tanins totaux a été réalisé selon la méthode de la vanilline en milieu acide.

Le teneur en tanin correspondant a été calculé à partir de la courbe d'étalonnage (figure 24), établie à l'aide de différentes concentrations de l'acide gallique, cette courbe qui présente une linéarité de l'absorbance (nm) en fonction des concentrations (mg/ml), ayant l'équation :

$$Y = 6.0109x + 0.0036 \text{ avec } R^2 = 0.9995$$

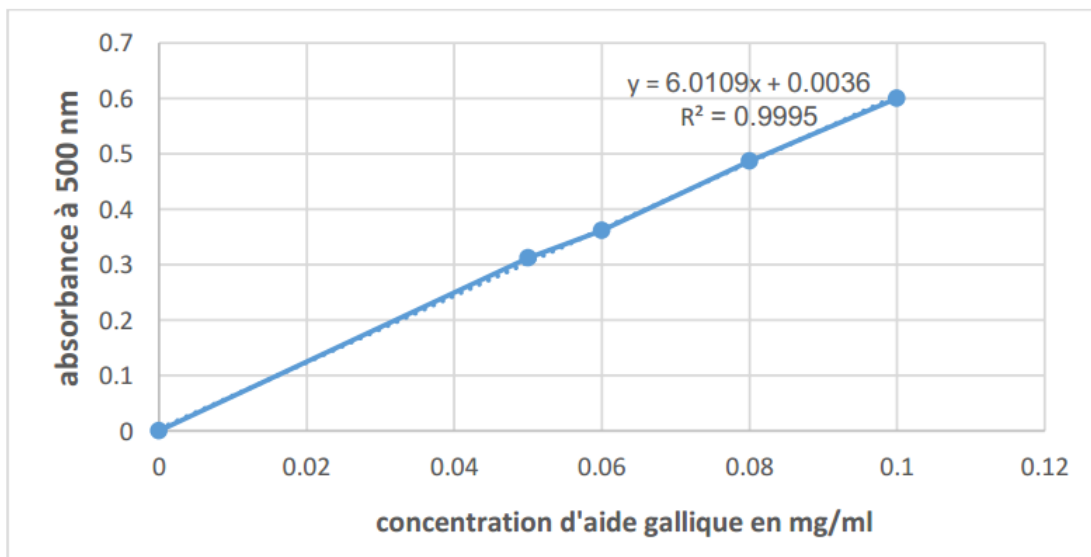


Figure 24. Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des tanins condensés(TC).

À partir de la courbe d'étalonnage, la concentration des tanins condensés de l'extrait hydro-méthanolique de *Vitis vinifera* par macération est de l'ordre de 53.41 ± 1.95 $\mu\text{gEAG/mgMS}$

La teneur en TC de l'extrait testé est plus importante à celle qui est obtenu par **Bouderhem et Logab., 2018** Ces auteurs ont étudié l'extrait des feuilles de *Vitis vinifera* de trois variétés différentes (dattier, gardinel et sabelle). Les résultats de dosage des TC étaient successivement 18 ± 1.48 $\mu\text{gEAG/mgMS}$, 22.25 ± 0.91 $\mu\text{gEAG/mgMS}$ et 27.7 ± 1.20 $\mu\text{gEAG/mgMS}$.

L'analyse quantitative confirme les résultats préalablement obtenu par les tests phytochimique (tableau 07) en ce qui concerne les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins.

A partir des résultats obtenus, on peut conclure que l'extrait étudié de la plante *vitis vinifera* est considérablement riche en métabolites secondaires. On parle plus précisément des polyphénols, flavonoïdes et les tanins mais il faut déclarer que l'importance en quantité d'un composé dosé ne veut dire que les autres composés sont présent en quantité importante aussi .

A partir de ces comparaison, on trouve que la composition quantitative d'un extrait est différente d'une plante à une autre grâce à des ensembles des facteurs illustrés dans les points suivants :

- **Lee et Lee (2003)**, signalent que la méthode d'extraction affecte les capacités d'un extrait qui sont liés à leur composition chimique.
- Le contenu polyphénolique varie qualitativement et quantitativement d'une plante à une autre et d'un organe à un autre, cela peut être dû à facteurs climatiques, patrimoine génétique, le degré de maturation, la période de sa récolte, la durée de stockage et la méthode de quantification des composés d'intérêt biologique (**Aganga., 2001 ; Fiorucci., 2006**).

les polyphénols trouvent depuis une dizaine d'année une valeur importante dans les domaines nutritionnistes, industriels et agroalimentaire. Ils sont aussi impliqués dans la prévention des diverses pathologies associées au stress oxydant, telles que le cancer, les maladies cardio-vasculaires, l'ostéoporose ou les maladies inflammatoires (**Rock., 2003**).

Les flavonoïdes jouent également un rôle de phytoalexines, c'est -à-dire des métabolites que la plante synthétisent en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries (**Marfak., 2003**). Ces métabolites confèrent à la vigne des vertus médicinales : antioxydantes (**Iserin., 2001**) et antimicrobiens (**Cushnie et al., 2005**). L'activité anti-oxydante est observée pour l'épicatéchine, procyanidine B2, procyanidine B4 (**Li et Jiang., 2007**).

Les tannins sont reconnus par leur toxicité vis- à - vis des microorganismes (**Cowan M.M., 1999**). Des importants travaux ont mis en évidence certaines propriétés biologiques des tanins. Parmi ces activités l'effet antioxydant (**Plumb et al., 1998**).

III.4. Activité biologique

III.4.1. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de l'extrait hydrométhanolique de *Vitis vinifera* est testée vis-à-vis de quatre souches bactériennes via la méthode de diffusion sur disque. Les résultats du test d'activité antibactérienne de l'extrait (antibiogrammes) sont regroupés dans les tableaux (08, 09, 10 et 11), les figures (25, 26, 27 et 28) et l'annexe (05).

La zone d'inhibition augmente considérablement avec la concentration des extraits (**Dordevic et al., 2007**). Ceci obtenues dans nos résultats.

❖ *Escherichia coli* :

Tableau 08. Résultat de l'activité antibactérienne de l'extrait sur les bactéries *Escherichia coli*.

Souche bactérienne	<i>Escherichia coli</i>				
	ATB	L'extrait			
Dose (mg/ml)	0.25	0.25	0.5	0.75	1
Diamètre d'inhibition (mm)	34	NA	NA	8	10
La sensibilité	+++	-	-	+	++

+++ : sensible si diamètre d'inhibition (DI) >15 mm

++ : modérément sensible si DI: 10-15 mm

+: faiblement sensible si DI > 6-10 mm

- : non activité (NA)= résistant

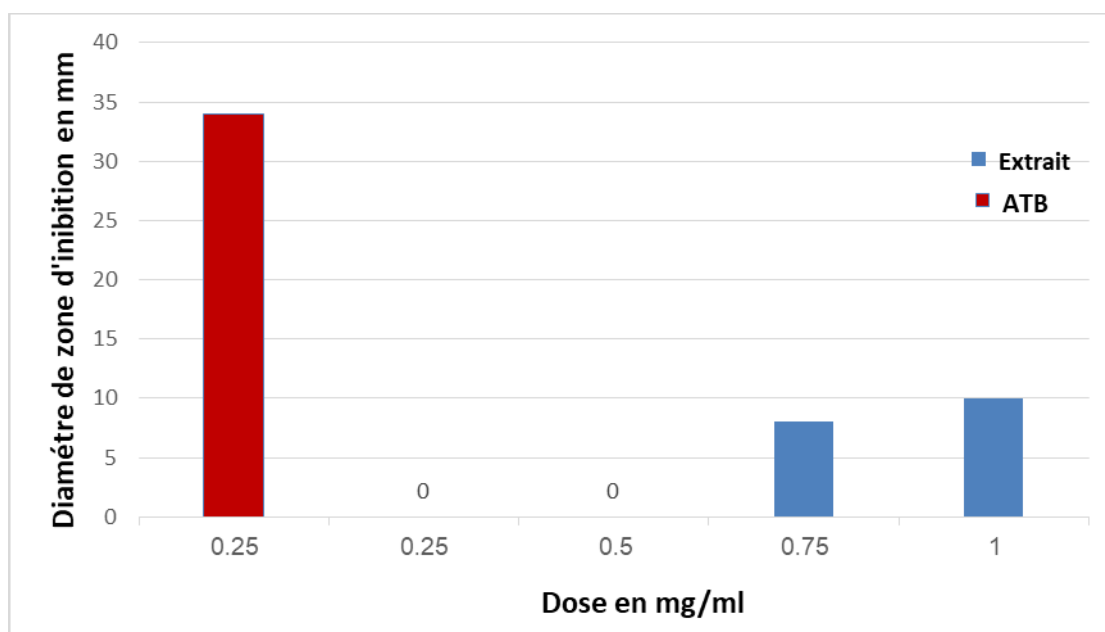


Figure 25. Les zones d'inhibition d'*Escherichia coli* par *Vitis vinifera* en fonction de concentration de l'extrait en comparaison avec l'antibiotique témoin.

Les résultats obtenus indiquent que l'extrait de la plante étudiée a une activité moyennement considérable contre *Escherichia coli* avec une zone d'inhibition (en mm) de 10

La gentamicine a une forte activité contre *Escherichia coli* avec une zone d'inhibition (en mm) de 34.

❖ *Pseudomonas aeruginosa* :

Tableau 09. Résultat de l'activité antibactérienne de l'extrait sur les bactéries *Pseudomonas aeruginosa*.

Souche bactérienne	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>				
	ATB	L'extrait			
Dose (mg/ml)	0.25	0.25	0.5	0.75	1
Diamètre d'inhibition (mm)	35	NA	NA	NA	NA
La sensibilité	+++	-	-	-	-

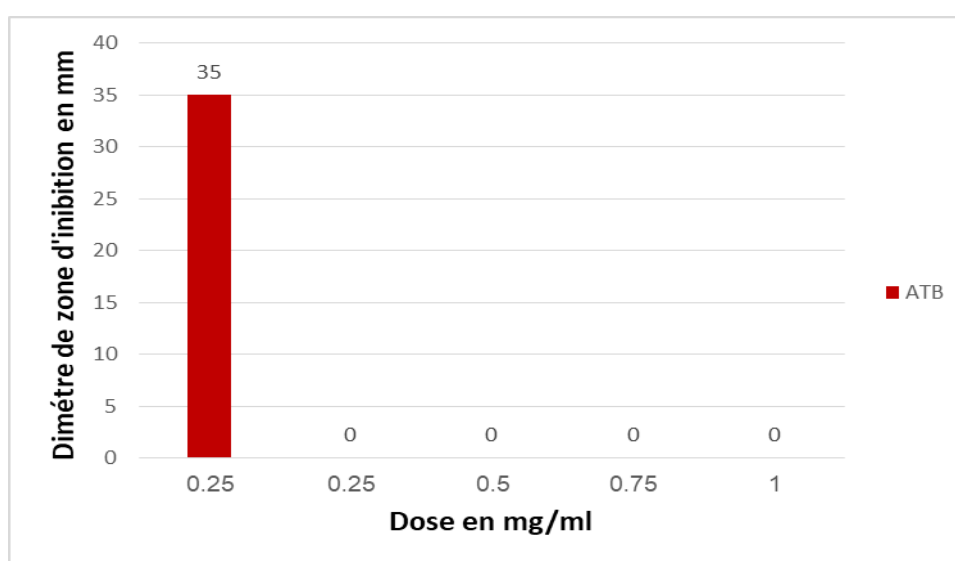


Figure 26. Les zones d'inhibition de *Pseudomonas aeruginosa* par *Vitis vinifera* en fonction de la concentration de l'extrait en comparaison avec l'antibiotique témoin.

Les résultats montre que l'absence totale de l'effet inhibiteur de l'extrait testé sur les bactéries *Pseudomonas aeruginosa* avec une zone d'inhibition de 0.

La gentamicine a une forte activité contre *Pseudomonas aeruginosa* avec une zone d'inhibition (en mm) de 35.

❖ *Klebsiella pneumoniae* :

Tableau 10. Résultat de l'activité antibactérienne de l'extrait sur les bactéries *Klebsiella pneumoniae*.

Souche bactérienne	<i>Klebsiella pneumoniae</i>				
	ATB	L'extrait			
Dose (mg/ml)	0.25	0.25	0.5	0.75	1
Diamètre d'inhibition (mm)	19	NA	NA	NA	NA
La sensibilité	+++	-	-	-	-

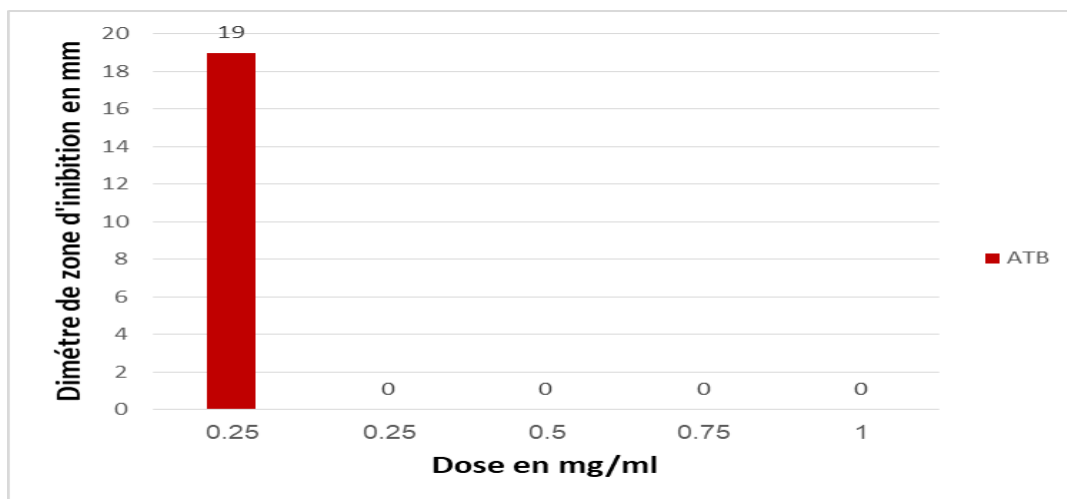


Figure 27. Les zones d'inhibition de *Klebsiella pneumoniae* par *Vitis vinifera* en fonction de concentration de l'extrait en comparaison avec l'antibiotique témoin.

Les résultats montrent que l'absence totale de l'effet inhibiteur de l'extrait testé sur les bactéries *Klebsiella pneumoniae* avec une zone d'inhibition de 0.

La gentamicine a une forte activité contre *Klebsiella pneumoniae* avec une zone d'inhibition (en mm) de 19.

❖ *Staphylococcus aureus* :

Tableau 11. Résultat de l'activité antibactérienne de l'extrait sur les bactéries *Staphylococcus aureus*.

Souche bactérienne	<i>Staphylococcus aureus</i>				
	ATB	L'extrait			
Dose (mg/ml)	0.25	0.25	0.5	0.75	1
Diamètre d'inhibition (mm)	26	NA	NA	10	11
La sensibilité	+++	-	-	++	++

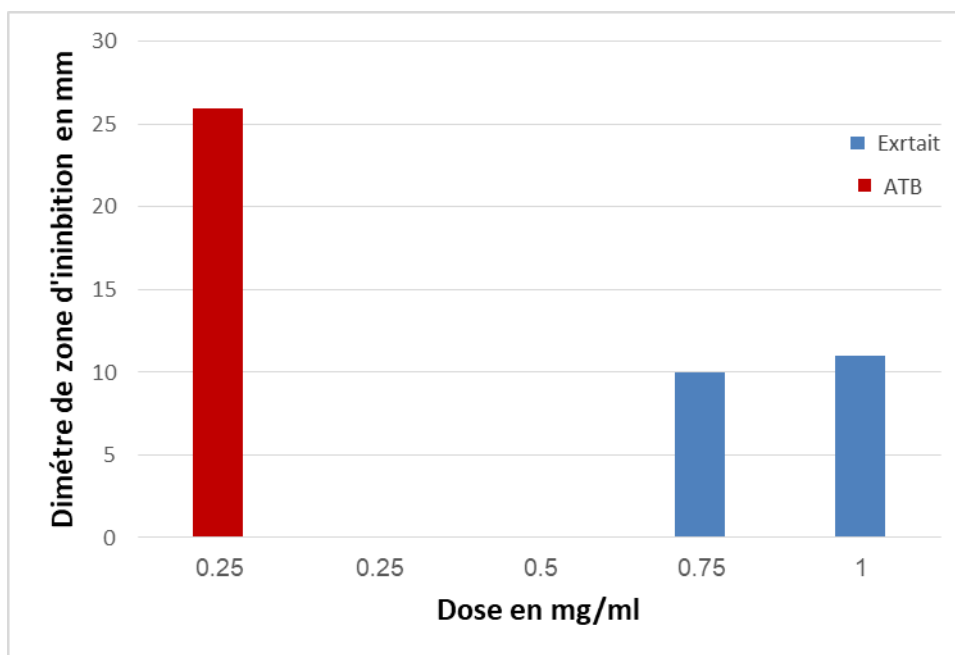


Figure 28. Les zones d’inhibition de *Staphylococcus aureus* par *Vitis vinifera* en fonction de concentration de l’extrait en comparaison avec l’antibiotique témoin.

Les résultats obtenus indiquent que l’extrait de la plante testée a une activité remarquable contre *Staphylococcus aureus* avec une zone d’inhibition (en mm) de 11.

La gentamicine a une forte activité contre *Staphylococcus aureus* avec une zone d’inhibition (en mm) de 26.

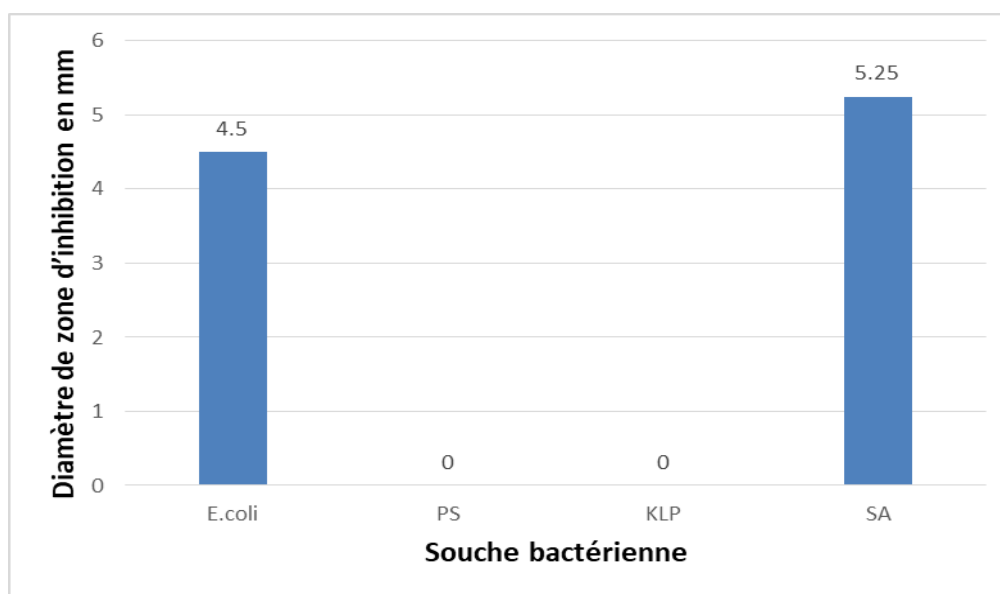


Figure 29. Les zones d’inhibition de l’extrait de la plante étudiée en comparaison entre les différentes espèces bactériennes.

Les résultats obtenus dans le présent travail montrent que l'extrait hydrométhanolique de la partie aérienne (feuille) du *Vitis vinifera* n'a pas un effet inhibiteur sur la croissance de deux souches bactériennes testées (*Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae*) mais il a un effet inhibiteur faible sur les deux autres souches (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*). Les résultats négatifs (l'absence de l'effet sur *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae*) ne signifient pas l'absence de constituants bioactifs, ni que la plante est inactive. Ces résultats peuvent être liés à la dose de l'extrait ce qui signifie la quantité des composés actifs présents donc l'augmentation de la concentration de l'extrait peut conduire à un effet antibactérien remarquable (M. et al., 2014). Pour l'effet inhibiteur sur la croissance des autres souches bactériennes (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*) expliquées par les résultats de l'analyse phytochimique de l'extrait (tableau 07) qui montre la présence des composés connus par leur activité antibactérienne donc anti-infectieuse. Les polyphénols montrent une activité antibactérienne (Babar et al., 2007).

Selon Dhaouadi et al., (2010), les différentes classes de polyphénols peuvent augmenter la toxicité des extraits envers les microorganismes. Le nombre et le site des groupements hydroxyles dans la structure de composé phénolique conditionne son degré de toxicité vis-à-vis les bactéries (Bala et al., 2008). Anastasiadi, Chorianoopoulos et al. (2009) ont remarqué que les flavonoïdes sont connus pour avoir une bonne activité antibactérienne, ceci a été attribué à leur interaction avec des protéines solubles extracellulaires et /ou de la paroi cellulaire des micro-organismes.

La synergie entre les différents constituants conduisant à divers degrés d'activité antibactérienne (Akrouf et al., 2010) cela qui est noté pour l'effet antibactérien vis-à-vis *Staphylococcus aureus* qui a été plus important vis-à-vis *E.coli*.

Nos résultats révèlent que l'antibiotique choisi comme référence (G) inhibe la totalité des espèces bactériennes testées (*Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*) ce qui montre le bon choix d'antibiotique standard. La gentamicine est un antibiotique du groupe des aminoglycosides. Il est actif contre les bactéries Gram-positifs et Gram-négatifs (Czeizel et al., 2000). Par comparaison avec l'effet de la gentamicine, *Vitis vinifera* a un effet inhibiteur faible sur la croissance des bactéries étudiées. La différence peut être liée à la date de la récolte qui conduit à une variation dans la composition chimique de l'extrait donc variation des activités biologiques comme l'activité antibactérienne (Athamena., 2009).

III.4.2. Activité antioxydante

L'activité antioxydant de notre extrait a été évaluée par test DPPH à l'aide d'un spectrophotomètre UV. En suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 517 nm. Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances antiradicalaire.

Dans ce test on utilise l'acide ascorbique comme une référence. La capacité antioxydante de l'extrait des feuilles a été déterminée et comparée à l'activité de l'acide ascorbique.

les résultats obtenus (pourcentage d'inhibitions I% en fonction des concentrations de l'extrait de la plante étudiée en mg/ml) sont représentés dans la figure 31.

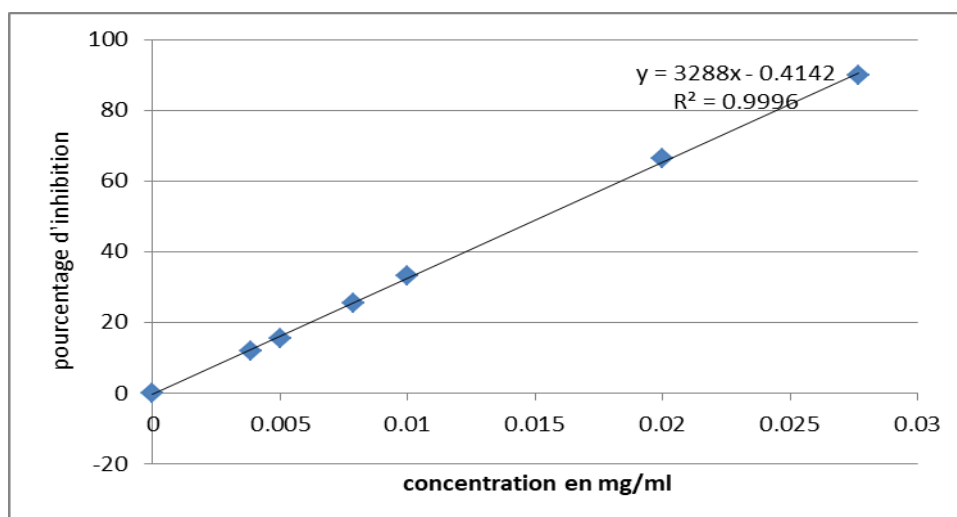


Figure 30. Pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction des concentrations d'acide ascorbique.

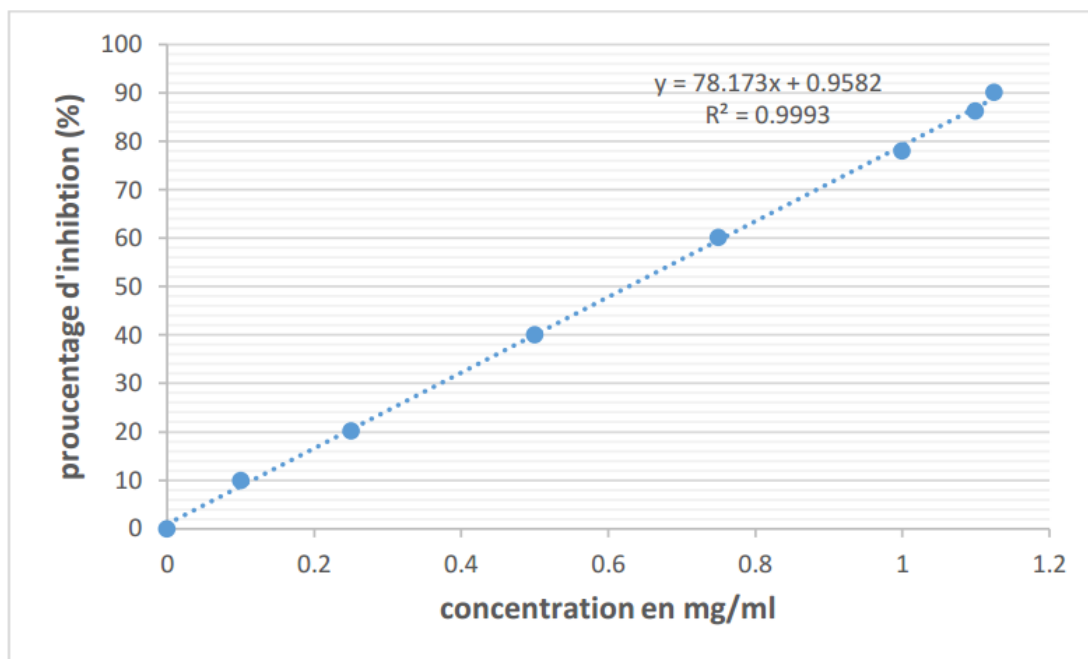


Figure 31. Pourcentage d’inhibition de DPPH en fonction des concentrations de l’extrait des feuilles de *Vitis vinifera*.

Les résultats obtenus pour le test de DPPH exprimés en termes de concentration inhibitrice de 50% (IC50). Il définit la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de l’activité de radical DPPH. Ces IC50 sont déterminées à partir des graphes des figures 30 et 31.

L’activité antiradicalaire chez *Vitis vinifera* trouvée pour l’extrait testé et l’acide ascorbique est indiquée dans la figure 32 sous forme d’histogramme.

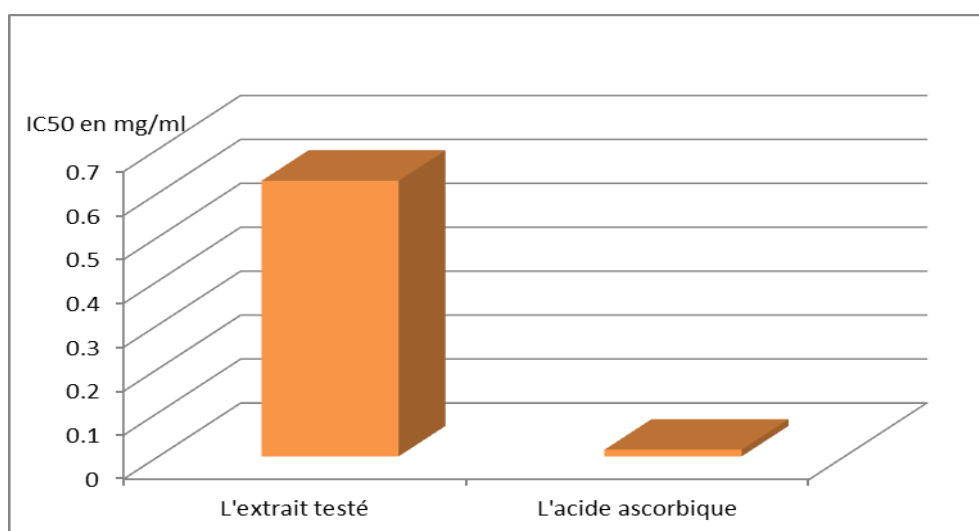


Figure 32. Les valeurs des concentrations inhibitrices IC50 de l’extrait étudié et d’acide ascorbique en mg/ml.

Les résultats révèlent que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration. L'extrait testé a un pouvoir antiradicalaire vers le DPPH.

Les résultats montrent que l'acide ascorbique a une activité antiradicalaire très puissante avec IC50 d'ordre **0.0153 mg/ml**. Par ailleurs, l'extrait a montré un pouvoir antiradicalaire plus faible que l'étalon en affichant une IC50 de l'ordre de **0.6273 mg/ml**.

D'une manière générale, notre plante possède une activité antioxydante moins que celle de l'acide ascorbique qui est considéré comme un antioxydant puissant .

Les capacités des extraits naturelles à piéger les radicaux libres, dépend d'un certain nombre des paramètres : la dose, la structure, les substituants et le degré de polymérisation de la molécule (**MOHAMMEDI., 2013**).

Cette activité est due à la présence des composés phénoliques dans l'extrait.

En effet, les composés phénoliques surtout les flavonoïdes sont reconnus comme des substances potentiellement antioxydants (**Jovanovic et al., 1994**).

L'analyse chimique de l'extrait des feuilles de *Vitis vinifera* confirment l'existence de propriétés antioxydantes révélées par le test DPPH, dont les résultats obtenus montrent que la richesse de la plante en polyphénols. Les flavonoïdes sont des composés phénoliques connus par leurs activités anti-oxydantes et antiradicalaires (**BARRECA et al., 2011**). L'action de ces antioxydants est supposée d'être due à leur capacité de piéger les espèces radicalaires et les formes réactives de l'oxygène en donnant d'atomes d'hydrogène ou d'électrons dérivée principalement de l'hydroxyle du cycle A des flavonoïdes (**LE et al., 2007**), par chélation des ions métalliques, impliqués dans leur production ou la protection des systèmes de défense antioxydants de l'organisme (**Boudiaf, 2006**).

Adil et al, (2021) ont trouvé une valeur d'IC50 comprise entre 0.53 mg/ml et 4.03 mg/ml en étudiant l'effet antioxydant des feuilles d'espèce *Vitis vinifera* répartis dans 11 régions différentes en Algérie. IC50 de notre plante (l'extrait des feuilles) s'englobe dans cette intervalle.

Ensembles des facteurs influent sur le profil qualitatif et quantitatif des polyphénols donc le pouvoir antioxydant dans la plante : les conditions de la culture, les conditions environnementales et la phase de maturation de la plante (**SAWA et al., 1999**).

Lee et Lee (2003) signalent que la méthode d'extraction affecte les capacités antioxydantes.

Katalinic et al., (2010), ont montré que l'extrait méthanolique de différentes variétés du raisin piègent 50% du radical DPPH à des concentrations comprises entre $52,8 \pm 3,33$ mg/ml et $291 \pm 4,51$ mg/ml, ce qui est largement inférieur au pouvoir antioxydant des feuilles de la vigne étudiée.

Cette différence entre les deux études, peut être expliquée que les compositions et la teneur en composés phénoliques et respectivement l'activité antioxydante sont différents pour les différents organes des plantes (**KAHKONEN *et al.*, 1999**). Parce que la plante consomme beaucoup d'énergie au cours de son développement, les feuilles spécifiquement sont le siège des réactions chloroplastiques donc elles consomment beaucoup d'oxygène et produisent les radicaux libres qui sont responsables de stress oxydatif (**AVLESSI *et al.*, 2004**). Donc les antioxydants sont présents dans les feuilles fortement (**ALBU *et al.*, 2004**).

Conclusion

Conclusion

Le présent travail a porté sur l'étude photochimique d'un extraits préparés par une méthode d'extraction (methanol/ eau) par macération. de la vigne une plante de la famille Vitacées collectée de région d'Ourmas wilaya d'EL oued. L'extraction réalisée à partir de la partie aérienne de plante (les feuilles) a donné un rendement : **17.17%**.

L'analyse phytochimique de cet extrait nous a révélé la présence de nombreuses familles chimiques représentées par les tanins, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les terpénoïdes et les composés réducteurs, les anthocyanes, les quinones. Nous observons aussi l'absence des saponines dans l'extrait.

La teneur en polyphénols totaux pour l'extrait a été estimée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu, on a remarqué que l'extrait des feuilles de la varité de vitis viniféra étudiées "Ormas", Wilaya d'El oued. sont de l'ordre (de $56.574 \pm 0.17 \mu\text{g EAG/mg MS}$) Tandis que le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3), donne une valeur étaien de l'ordre ($10.10 \pm 1.16 \mu\text{gEQ/mg MS}$). La quantification des tanins condensées est faite par la méthode à la vanilline , donne une valeur de ($53.41 \pm 1.95 \mu\text{gEAG/mgMS}$). Il ressort de ces analyses que les feuilles de vinge sont riches en divers composés phénoliques.

les résultats de l'etude de l'activité antibactérienne ont montrées que l'extrait: n'a pas un effet inhibiteur sur la croissance de *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae* mais il a un effet inhibiteur faible sur les deux autres souches *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*.

L'activité antioxydant de notre extrait a été évaluée par test DPPH, l'extrait a montré un pouvoir antiradicalaire plus faible que l'étalon en affichant une IC_{50} de l'ordre de 0.6273 mg/ml .

Comme perspectives nous recommandons les points suivants :

- Réaliser autres méthodes d'extraction par changement du solvant et le temps d'echantillonnage.
- Elargir les recherches sur d'autres molécules que les phénols, telles que les alcaloïdes et les terpènes.

- Evaluation des activités biologiques, telle que l'activité, antifongique, antitumorale, anti inflammatoire... et autres.

Liste bibliographies

1. **Ababsa, Z.A. (2011).** Etude d'activités biologique des deux espèces *Ammoides atlantica* et *Ranunculus bulbosus*. Mémoire Magister .Université Hadj Lakhder- Batna Département de Biologie .73p
2. **Abdelli, S. Rahli, M. Zidne, I. 2020 .** Activité antioxydante des extraits d'*Asperula hirsuta*. Mémoire de Master Académique. Université Mohamed Boudif de M'SIL Département de Microbiologie et Biochimie.31p.
3. **Achat, S., 2014.** Polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques. Thèse de doctorat. Université A. Mira-Bejaia, Algérie. p. 17, 22.
4. **ADJIBA, N .et AIN, N.(2021).** Contribution à l'étude les propriétés phytochimiques, et les activités biologiques d'une plante médicinale (*Ocimum basilicum L*). Mémoire de Master Académique. Université d'El Oued Département de biologie cellulaire et moléculaire.55p.
5. **Aganga A.A., Mosase K.W.** Tannins content, nutritive value and dry matter digestibility of *Lonchocarpus capussa* , *Ziziphus mucropata*, *Sclerocarya birrea*, *Kirkia acuminata* and *Rhus lancea* seeds. **2001.** *Animal Feed Science and Technology.* 91: 107-113.
6. **Agence Nationale d'Intermédiation et de Régulation Foncière ANIREF.(2020).** Rubrique Monographie Wilaya, Wilaya d'EL OUED. (Consulté le 21/02/2023). www.aniref.dz > monographies > el oued.
7. **ALBU S., JOYCE E., PANIWNKY L., LORIMER J.P., MASON T.J.(2004).** Potential for the use ofultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* for the food and pharmaceutical industry. *Ultrasonics Sonochemistry.* Vol. 11 (34): 261-265.
8. **Al-Gubory, K.H., Fowler, P.A., Garrelc, C. (2010).** The roles of cellular reactive oxygen species, oxidative stress and antioxidants in pregnancy outcomes. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology,* 42(10), 1634–165p.
9. **Ali-Shtayeh, MS., Yaghmour, RM-R., Faidi, YR., Salem, K. et al-Nuri, MA. (1998).**Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. *Journal of ethnopharmacology,* 60, 265-271p.
10. **Alpha Amadou, D . (2013).**Escherichia coli pathogènes et résistantes aux antibiotiques dans les effluents d'origine humaine et animale : Prévalence et caractérisation avant et après traitement épuratoire .Thèse doctorat de l'université Toulouse.204p.
11. **Anastasiadi, M., N. G. Chorianopoulos, G. J. Nychas and S. A. Haroutounian (2009).** "Antilisterial activities of polyphenol-rich extracts of grapes and vinification byproducts." *J Agric Food Chem* 57(2): 457- 463.

- 12. Aniszewski, T., 2007.** Alkaloids - Secrets of Life: Alkaloid Chemistry, Biological Significance, Applications and Ecological Role, first edit. ed.
- 13. Arimura, G-ichiro, Ozawa, R., Kugimiya, S., Takabayashi, J., Bohlmann, J., 2004.** Herbivore-Induced Defense Response in a Model Legume. Two-Spotted Spider Mites Induce Emission of (E)- β -Ocimene and Transcript Accumulation of (E)- β -Ocimene Synthase in *Lotus japonicus* L. *Plant physiology* 135, 1976-1983.
- 14. Athamena. (2009).** Etude quantitative des flavonoïdes des graines de *Cuminum cyminum* et les feuilles de *Rosmarinus officinalis* et l'évaluation de l'activité biologique. Thèse de Magister en Biologie, Université El-Hadj Lakhdar. Batna, Algérie.88p.
- 15. Attia F(2007).** Effet du stress hydrique sur le comportement éco physiologique et la maturité phénolique de la vigne. Thèse Doctorat, INP, Toulouse, 160 p.
- 16. Aurélien, D.(2011).** Etude et modélisation de la biosorption des métaux par les bactéries. Application au transfert du cadmium et du zinc, seuls ou en mélange, par *Escherichia coli* et *Cupriavidus metallidurans* en colonnes de sable d'Hostun. Thèse Docteur. l'université GRENOBLE, Laboratoire d'étude des Transferts en Hydrologie et Environnement Ecole Doctorale Terre-Univers-Environnement.209p.
- 17. B.Sun, , JM.Richardo-da-Silvia, , I.Spranger.(1998).** *Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins.* J. of Agriculture and Food Chemistry, Vol. (46),page : 4267.
- 18. Babar Ali M., Hahn E.J., Paek K.Y. 2007.** Methyl Jasmonate and Salicylic Acid Induced Oxidative Stress and Accumulation of Phenolics in *Panax ginseng* Bioreactor Root Suspension Cultures.. *Molecules.* 12: 607 -621.
- 19. Bagre, C. Bahi, G. Gnahoue, A. J. Djaman and G. F. Guede. 2007.** Composition Phytochimique et Evaluation in Vitro de L'Activité Antifongique des Extraits des Feuilles de *MORINDA MORINDOIDES* (BAKER) *MILNE-REDHEAD* (RUBIACEAE) Sur *Aspergillus Fumigatus* et *Candida Albicans*," *Journal of Pharma and Bio Sciences*, Vol. 8, No. 1.pp. 15-23.
- 20. Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., Pinkas, M. (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-forschung*, 46, 1086- 1089.
- 21. BARRECA D., BELLOCCO E., CARISTI C., LEUZZI U., KUMQUAT G.G., 2011-** *Fortunella japonica* Swingle juice : Flavonoïd distribution and antioxidant properties. *Food Research International.* Vol. (44): 2190-2197.

22. **Békro , Y-A, Bekro, J.A., Boua, B.B, F.H., Tra Bi, ,E.E. Ehile.(2007).** Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthiana* (Baill.) Herend. et Zarucchi (Caesalpinaceae). Sciences & Nature, Vol. 4 N°2, pp 217-225.
23. **Belghit, M. Kouhila and B.C Boutaleb.(2000).** ‘Experimental Study of Drying Kinetics by Forced Convection of Aromatic Plants’, Energy Conversion and Management, Vol. 41, N°12, pp. 1303 – 1322
24. **Benabid D.(2009).** *Rôle de l'élastase du neutrophile dans les infections pulmonaires à Pseudomonas aeruginosa.* Thèse de doctorat en Immunologie, Université de Reim Champagne-Ardenne.161p.
25. **Birebent P, (2013).** Les régions viticoles d'Algérie. Édit. Le cercle Algérieniste.
26. **Bohlmann, J., Meyer-Gauen, G., Croteau, R., 1998.** Plant terpenoid synthases: molecular biology and phylogenetic analysis. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 95, 4126-33.
27. **Bonnaillie, C., Salacs, M., Vassiliova, E. et Saykova, I. (2012).** Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de Pellicules D'arachide (*Arachis hypogaea* L.). Revue De Génie Industriel, 7, 35-45.
28. **Bossokpi, P. L., 2002.** Etude des activités biologiques de *Fagara xanthoxyloides* LAM (Rutaceae). Thèse de Doctorat, Bamako. p. 12.
29. **Bouard J(1970).** Observation nouvelles sur les vrilles de la *Vitis vinifera* L. et sur les différentes parties qui les constituent. C. R. Acad. Sc., Paris, t. 271 : 191-195 p.
30. **BOUDERHEM Khira et LOGAB Saada. (2020).** Contribution à l'étude phytochimique de la vigne cultivée dans les oasis. MEMOIRE DE FIN D'ETUDE en vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences biologiques.71p
31. **Boudiaf K. 2006.** Etude des effets anti-xanthine oxydoreductase et anti -radicalaires des extraits des graines de *Nigella sativa*. Mémoire de magister –Université de Sétif.
32. **BOUDJOUREF M. (2011).** Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Thèse de Magister en Biochimie. Université Ferhat Abbes, Sétif. Algérie. 99 p.
33. **Boudjouref, M. (2011).** Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Mémoire de Magister. Université Ferhat Abbes, Sétif, Département de Biochimie.64p.
34. **Bouhala, R. Bouhlais, M. 2014.** Evaluation de quelques activités biologique d'une plante endémique "*Limonium sp*". Mémoire de Master . Université Mentouri de Constantine Faculté des Sciences Département de Biologie Animale. 36p .

35. Bouskraoui Mohamed, Benaouda Amina, Zouhair Said, Zerouali Khalid, Soraa Nabila et Mahmoud Mustaph, (2017). Guide pratique des bactéries pathogènes. SOMIPEV. p-95.
36. Bouskraoui, M ; Zouhair ,S ; Mahmoud, M ; Benaouda, A ; Zerouali, K . Baillie JK, Bates MGD, Thompson AAR, Waring WS, Partridge RW, Schnopp MF, Simpson A, Gulliver-Sloan F, Maxwell SRJ.(2007). Webb DJ. Lowland Subjects Exposed to High Altitude Plasma Antioxidant Capacity in Healthy Endogenous. Urate Production Augments. Chest. 131 :1473-8p.
37. BRAND-WILLIAMS W, CUVELIER ME, BERSET C.(1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensm Wiss Technology. Vol. (28):25-30
38. Brand-Williams W., Cuvelier ME., Berset C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT Food Sci Technol. 28 ; 25–30p.
39. Bruneton, J, 2009. Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales. 4e Ed. Editions TEC et DOC (Lavoisier) Paris et Editions médicinales internationales. p. 274.
40. Celiktas, OY., Hames Kocabas, E E., Bedir, E., Vardar Sukan, F., Ozek T. et Baser, K H C.(2007). Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. Ed. Food Chem,100 (2),553- 559 p.
41. Chouiha ,O. Houacine, A. (2018). Contribution à l'évaluation de l'activité antioxydante des deux plantes médicinales : *Thymus hirtus* et *Rosmarinus tournefortii*. Projet de fin d'étude diplôme de Master .Université Ziane Achour –Djelfa Département des sciences agronomiques et vétérinaires .49p
42. Cillard ,J. Cormier, M. Girre, RL. (1975). Autoxidation rate increase of linoleic acid in the presence of tocopherol in aqueous medium; study of the transformation of tocopherol. CR Acad Sci Hebd Seances Acad Sci D. 281: 455-458p.
43. Compant S, Clément C, Sessitsch A (2010). Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. Soil Biol Biochem 42: 669–678.
44. Cosio C ., Vollenweider P., Catherine C.(2006). Localization and effects of cadmium in leaves of a cadmium - tolerant willow (*Salix viminalis*L.) I. Macrolocalization and phytotoxic effects of cadmium.. Environmental and Experimental Botany. 58 (2006) : 64–74.
45. Cowan, N. M. (1999). Plant products as anti-microbial agents. Clinical microbiology Reviews, Vol. 12(4), 564-582.
46. Croteau, R., Kutchan, T.M., Lewis, N.G., 2000. Natural Products (Secondary Metabolites), in: Biochemistry and Molecular Biology of Plants.

- 47. Czeizel AE, Rockenbauer M, Olsen J, Sorensen HT.(2000).** A teratological study of aminoglycoside antibiotic treatment during pregnancy. *Scand J Infect Dis*;32:309–13.
- 48. Dacosta, E.,** 2003. Les phytonutriments bioactifs. Yves Dacosta (Ed). Paris. p. 317.
- 49. Daniel, M.,** 2006. Medicinal plants chemistry and properties. Edition Taylor and Francis Group. p. 140.
- 50. Delattre, J. Thérond ,P. Bonnefont-Rousselot ,D. (2005).** Espèces réactives de l’oxygène, antioxydants et vieillissement. In : Delattre JB, Bonnefont-Rousselot D, eds. Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques. Paris : Lavoisier. 281-309p.
- 51. Dhaouadi, K., Raboudi, F., Estevan, C., Barrajon, E., Vilanova, E., Hamdaoui, M. et Fattouch, S. (2010).** Cell viability effects and antioxidant and antimicrobial activities of Tunisian date syrup (Rub El Tamer) polyphenolic extracts. *J. Agric Food Chem*,Vol. (59), 402-406.
- 52. Diallo, D.(2000).** Ethnopharmacological Survey of Medicinal Plants in Mali and Phytochemical Study of four of them: *Glinus oppositifolius (Aizoaceae)*, *Diospyros abyssinica (Ebenaceae)*, *Enteda africana (Mimosaceae)*, *Trichilia emetica (Meliaceae)*. *These de doctorat de recherché, université de Lausanne Suisse*.
- 53. Dimitriadis, E., Williams, P.J., 1987.** The development and use of a rapid analytical technique for estimation of free and potentially volatile monoterpene flavorants of grapes. *American Journal of Enology and Viticulture* 35, 66-71.
- 54. DJELLOUL DAOUADJI S.(2010).** Detection de Biofilm a Staphylocoques sur Catheters Veineux. Thèse de Magister en Biologie Moléculaire et Cellulaire. Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen. Algérie. 77 p.
- 55. Dordevic, S., Petrovic, S., Dobric, S., Milenkovic, M., Vucicevic, D., Zizic, S. et Kukic,J. (2007).** Antimicrobial, anti-inflammatory, anti-ulcer and antioxidant activities of *Carlina acanthifolia* root essential oil. *J Ethnopharmacol*, 109: 458-463.
- 56. Dubost D.(2002).** Ecologie, aménagement et développement agricole des oasis algériennes .Ed. Centre de recherche scientifique et technique sur les régions aride,Biskra,423p
- 57. Dudareva, N., Negre, F., Nagegowda, D.A., Orlova, I., 2006.** Plant Volatiles: Recent Advances and Future Perspectives. *Critical Reviews in Plant Sciences* 25, 417-440.
- 58. EBERHARD T., ROBERT A., ANNE LISE L. (2005).** Plantes aromatiques, épice aromates, condiments et huiles essentielles. Ed. Tec et Doc, Paris. France. 521p.

- 59. Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., et Abdelly, C. (2008).** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, 331(5), 372-379p.
- 60. Favier A., (2003).** Le stress oxydant: intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'Actualité chimique*, Vol. 39: 108-117p.
- 61. Favier, A.(2003).** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*. 108-115 p.
- 62. Finaud, J. Scislowski ,V. Lac, G. Durand, D. Vidalin, H. Robert, A. Filaire, E.(2006).** Antioxidants Status and Oxidative Stress in Professional Rugby Players Evolution Throughout a Season. *Int J Sports Med*. 27 : 87-93p.
- 63. Fiorucci S.(2006).** Activités biologiques de composés de la famille de flavonoïdes : approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire. Thèse de doctorat. Université de Nice. P 211.
- 64. Galet P (1993).** Précis de viticulture. 6eme Edit. DEHAN, 582 p.
- 65. Galet P (2000).** Précis de viticulture. Édit Broché, 7ème édition, Paris, 602 p.
- 66. Gamet-Payraastre, L., Manenti, S., Gratacap, M. P., Tulliez, J., Chap, H., Payraastre, B., 1999.** Flavonoids and the inhibition of PKC and PI3-kinase. *General Pharmacology*.Volume 32. p. p.: 279-286.
- 67. Garait, B.** Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la Glisodin. Thèse de doctorat. Université-Joseph Fourier-Grenoble 1.
- 68. Gerhard R., 1993.** metabolism des végétaux; physiologie et biochimie. [515]-526p.
- 69. Gomez H (2007).** Relation entre état de croissance de la vigne et maladies cryptogamiques sous différentes modalités d'entretien du sol en région méditerranéenne. Thèse Doctorat, Montpellier, 96 p.
- 70. Guilherme Martins ,Béatrice Lauga, Miot-Sertier, Anne Mercier, Aline Lonvaud, Marie-Louise Soulas, Guy Soulas, Isabelle Masneuf-Pomarède (2013).** Characterization of Epiphytic Bacterial Communities from Grapes, Leaves, Bark and Soil of Grapevine Plants Grown, and Their Relations. *Plos one* (en ligne), (page consulté le 01/09/2021).
- 71. Gunata, Z.Y., Bayonove, C.L., Baumes, R.L., Cordonnier, R.E., 1985.** The aroma of grapes. Extraction and determination of free and glycosidically bound fractions of some grape aroma composants. *Journal of chromatography* 331, 83-90.

72. **Gurib-Fakim A. (2006).** Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine* Title 6 ,1-93.
73. **Harborne J.B., Williams Ch.A., 2000.** Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, , 55, 481–504..
74. **Havsteen, B. H,** 2002. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol. Therapeut.* p. 96, 67– 202.
75. **Hidalgo L (2008).** Taille de la vigne. Edit. Dunod, 256 p.
76. **Hidalgo L (2010).** Taille de la vigne. Mundi-prensa. Madrid.
77. **Hogan, S., Zhang, L., Li, J., Zoecklein, B., Zhou, K. (2009).** Antioxidant properties and bioactive components of Norton (*Vitis aestivalis*) and Cabernet Franc (*Vitis vinifera*) wine grapes, *LWT. Food Science and Technology*, 42: 1269-1274p.
78. **Iloki-Assanga, S.B., Lewis-luján, L.M., Lara-Espinoza, C.L., Gil-Salido, A.A., Fernandez-Angulo, D., Rubio-Pino, J.L. & Haines, D.D. (2015).** Solvent effects on phytochemical constituent profiles and antioxidant activities, using four different extraction formulations for analysis of *Bucida buceros* L. and *Phoradendron californicum*. *BMC Res. Notes*, 8: 396.pp.1-14.
79. **Ionut-Florin ,P (2016).** Valorisation des Activités biologiques de certaines espèces végétales sahariennes Nord-africaines. Thèse de Doctorat. Université de Médecine & de Pharmacie de Timisoara, Roumanie Titre. Ecole Doctorale Sciences de l’Environnement.136p
80. **Iserin P. (2001).** Encyclopédie des plantes médicinales. London, ypogly Edith Ybert, Tatiana Delasalle- Feat, 335p.
81. **Javanmardi, J., Stushnoff, C., Locke, E., et Vivanco, J. M. (2003).** Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions. *Food chemistry*, 83(4), 547-550 p
82. **Jérémy PILLET.,2011.** Impact du microclimat sur le métabolisme de la baie de raisin.244p. 12-13p.
83. **Johnson, R.J. Sautin ,YY. Oliver ,WJ. Roncal, C. Mu W. Gabriela Sanches-Lozada, L. Rodriguez-Iturbe, B. Nakagawa ,T. Benner, SA.(2009) .** Lessons from comparative Physiology : could uric acid represent a physiologic alarm signal gone awry in western society. *J Comp Physiol B.*;179(1) : 67-76p.
84. **KAHKONEN M. P., HOPIA A. I., VUORELA H. J., RAUHA J. P., PIHLAJA K., KUJALA T. S. et HEINONEN M. (1999).** Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. (47): 3954-3962.

- 85. Kanoun, K.(2011)** . Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine). Mémoire de magister en biologie, Université Aboubekr Bbelkaid Tlemcen, Algérie. 37-41p.
- 86. Karumi, Y., Onyeyili, P.A., Ogugbuaja, V.O. (2004).** Identification of active principales of balsamina (*Balsam apple*) leaf extract. *Journal Medicine Sciences*, 4,179-182.
- 87. Katalinic V., Mozina S.S., Generalic I., Skoza D., Ljubenkov I. and Klancnik A. (2010).** Phenolic Profile, Antioxidant Capacity, and Antimicrobial Activity of Leaf Extracts from Six *Vitis vinifera* L. varieties. *International Journal of Food Properties*, 16 (1): 45-60 p.
- 88. Keller, N. P., Turner, G., & Bennett, J. W. (2005).** Fungal secondary metabolism — from biochemistry to genomics. *Nature Reviews Microbiology*, 3(12), 937–947.
- 89. Khebbab Imene . Ladjabi Sara. (22.09.2021).** Caractérisation morphologique de la flore phyllosphérique du tronc de la vigne.73page. 5-6p.
- 90. Khosravi M et al. (2013).** Interactive comment on —Diurnal variation of stratosphericHOCl, ClO and HO₂ at the equator: comparison of 1 -D model calculationswithmeasurements of satellite instruments|. *Atmos. Chem. Phys. Discuss. Vol.*
- 91. Koechlin-Ramonatxo C. (2006).** Oxygen oxidative stress and antioxidant supplementation, or an other way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition clinique et métabolique*. 20:165-177p.
- 92. Koffi, G., Kadja , B., Guédé , N., Zirihi , Traoré, D. et Aké-Assi, L. (2009).** Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sciences & Nature* , Vol. 6 N°1, 1 – 15.
- 93. L.Lagnika.(2005).** "*Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises*" Thèse de doctorat, Université Louis Pasteur, Strasbourg. Page :249.
- 94. Lacolley, P., Babuty, D., Boulanger, C., Ghaleh, B., Loirand, G., Pinet, F & Samuel, J.L.,(2007).** *Biologie Et Pathologie Du Coeur Et Des Vaisseaux*. Ed, John Libbey Eurotext.
- 95. LE K., CHIU F., NG K.(2007).** Identification and quantification of antioxidants in *Fructuslycii*. *Food Chemistry*. Vol. (105): 353-363.
- 96. Lebon G (2005).** Importance des glucides lors de la floraison chez la vigne (exemple de cépages présentant une sensibilité différente à la coulure). Thèse Doctorat, Univ. Reims, 158 p.
- 97. Lecerf , JM. (2009).** Anti-oxydants : qu'en attendre ? *Réalités en Nutrition*. No 17.
- Martínez Cayuela, M.** Oxygen free radicals and human disease. *Biochimie.*; 77: 147-161p.

- 98. Lee O-H. and Lee B-Y. (2003).** Antioxidant and antimicrobial activities of individual and combined phenolics in *Olea europaea* leaf extract. *Bioresource Technology*, 101(10): 3751-3754.
- 99. Leybros J, Fremeaux P. (1990).** Extraction solide-liquide aspects théoriques. *Techniques de l'ingénieur, Génie des procédés. Vol. (2J2780): J2780.1-J2780.22.*
- 100.Li J., Jiang Y.** Litchi Flavonoids: Isolation, Identification and Biological Activity. **2007.** *Molecules*. 12: 745-758.
- 101.Liu W, Liu J, Yin D, Zhao X. (2015).** Influence of Ecological Factors on the production of active substances in the anti-cancer plant *Sinopodophyllum hexandrum* (Royle) T.S. Ying. *PLOS One*, **10(4)**, 1-22.
- 102.Luan, F., Hampel, D., Mosandl, A., Wüst, M., 2004.** Enantioselective analysis of free and glycosidically bound monoterpene polyols in *Vitis vinifera* L. cvs. Morio Muscat and Muscat Ottonel: evidence for an oxidative monoterpene metabolism in grapes. *Journal of agricultural and food chemistry* 52, 2036-41.
- 103.M. M. Sangare, H. Sina, B. Bayala, L. S. Baba-Moussa, J. M. Ategbo, M. Senou & K. L. Dramane (2014)** Évaluation de la dose efficace de l'extrait aqueux de *Gomphrena celosioides* face à une hépatopathie induite par le tétrachlorure de carbone. *Phytothérapie volume 12*, pages393–398 (2014)
- 104.Macheix, J. J., Flouriet, A., Jay-Allemand, C., 2005.** Les composés phénoliques des végétaux un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Edition Press polytechniques et universitaires romandes. Lousanne. p. 192.
- 105.Mahboub, S (2017).** Contribution à l'étude des maladies de quelques variétés de la vigne dans la région de Tlemcen. Mémoire de fin de cycle en vue de l'obtention du diplôme de master en agronomie. Algérie : Université de Tlemcen., p91.
- 106.Mahmoudi, S., Khali, M. et Mahmoudi, N. (2013).** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Nature & Technologie*, (9), 34-40.
- 107.MAKHLOUFI.(2010).** Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de Bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre. Thèse de doctorat d'état en biologie, université aboubaker belkaid, Tlemcen. Algérie. 136 p.
- 108.Maricela Toma , M Vinatoru , L Paniwnyk , T.J Mason.(2001).** Investigation of the effects of ultrasound on vegetal tissues during solvent extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*. Volume 8, Issue 2, Pages 137-142.

- 109.Mateo, J.J., Jiménez, M., 2000.** Monoterpenes in grape juice and wines. Journal of chromatography. A 881, 557-67.
- 110.MEDDOUR A., YAHIA M., BENKIKI N., AYACHI A.,(2013).** Étude de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'un ensemble des parties de la fleur du Capparis Spinosa L. Lebanese Science Journal. Vol. (14): 49-60.
- 111.Merghem, R., 2009.** Elément de biochimie végétale. Bahaeddine. Constantine, Algérie. p. 171.
- 112.Meziti, A. (2009).** Activité antioxydant des extraits des graines de *Nigella sativa* l'étude in vitro et in vivo. Mémoire de magister en Molécules Bioactives, Université El-Haj Lakhdar Batna, Algérie. 71p.
- 113.Mibindzou Mouellet, A. (2004).** Screening phtochimique de deux espèces de plantes : *Crotalia retusa* L (papilionaceae) et *Hallea ciliata* Aubrev & Pellegrer. (rubiaceae) récoltées au Gabon. Thèse de doctorat, Mali. 58 p.
- 114.Miller N J., Rice-Evans C A. (1997).**The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple fruit juices and blackcurrant drink. Food. Chem., 60, 331-337p.
- 115. Mohammed Adil SELKA, Mohammed Yacine ACHOURI, Amel CHENAFI. (2021)** Activités antioxydantes et antimicrobiennes des feuilles de *Vitis vinifera* L. d'Algérie. Algerian journal of pharmacy.Vol. 04 Num. 01 (2022) 2602–975X
- 116.MOHAMMEDI.(2013).** Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie. Thèse de Doctorat en Biologie. Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen. Algérie. 169 p.
- 117.Morel ,Y. Barouki, R. (1998).** Influence du stress oxydant sur la régulation des gènes. Med Sci (Paris). 14 : 713-21p.
- 118.Nabit, L. Z. et Belhattab, R. (2016).** In vitro antioxidant activity of *Oudneya africana* R. Br. Aerial Parts. Issues In Biological Sciences And Pharmaceutical Research, 4(6), 58-64.
- 119. Nauciel . Vilide J-L. (2005) .** Bactériologie médicale- connaissances et pratique. Edition Masson. Paris. P : 257
- 120.Ningjian Liang , David D Kitts. (2014).** Antioxidant property of coffee components: assessment of methods that define mechanisms of action. Food, Nutrition and Health, Faculty of Land and Food Systems, the University of British Columbia. 19(11), p 19180-19208.
- 121.Norbert F. J. Tischelmayer. 18 mai, 2022.** Systématique de la vigne.
- 122.Oloyede, O. I. (2005).** Chemical profile of unripe pulp of *Carica papaya*. Pakistan journal of nutrition, 4, 379-381.

- 123.Organisme mondiale de la santé,OMS.(2003).** Directives OMS sur les bonnes pratiques de récolte relatives aux plantes médicinales.
- 124.Ouahrani, I. et Naroura, R. 2017.** Etude de l'activité antioxydant et antifongique de quelques variétés de *Vitis vinifera* . Mémoire de Master Académique. Université d'El Oued Département de biologie cellulaire et moléculaire. **86p.**
- 125.Ovi (2018).** World vitiviniculture situation. OVNI statistical report on world vitiviniculture. Édit. International Organisation of Vine and Wine, Paris, 25 p.
- 126.Pelli ,K . Lyly, M.(2003).** Les antioxydants dans l'alimentation. Biotechnology Finlande. 6, 8p.
- 127.Perrone, C. (1999) .** Maladies infectieuses. Vol° 1 édition Doin. P : 65.
- Otmani ,Y. Slimani, M. (2018).**Activité antibactérienne et anti-inflammatoire des extraits des feuilles d'olivier (*Olea europea L*) et du lentisque (*Pistacia lentiscus L*). Mémoire de Master . Université Mouloud Mammeri de Tizi – Ouzu Department de Biochimie-Microbiologie.56p
- 128.Petit A-N (2008) .**Effets de fongicides anti-botrytis sur les organes végétatifs et reproducteurs de la vigne. Thèse Doctorat, Univ., Reims, 129 p.
- 129.Pilet,C. Botomai. Marchal,N. Calbashe, C. et Person, Jm. (1987).** Bactériologie médicale et vétérinaire : systématique bactérienne, Oin , 2P eme P édition, Paris, 234 :142p.
- 130.Pincemail, J. Bonjean, K. Cayeux, K. Defraigne ,JO(2002).** Physiological action of antioxidant defences. Nutrition Clinique et Métabolisme. 16: 233-239p. **Saidi, I. (2019).** Caractérisation et valorisation d'une plante de la famille des fabaceae: Gleditsia triacanthos de la région de Sidi Bel Abbès: Extraction des substances bioactives (Doctoral dissertation).
- 131.Pincemail, J. Meurisse, M. Limet, R. Defraigne, JO. (1999).** Méthodes d'évaluation du stress oxydatif chez l'homme: importance en matière de prévention. cancerologie. Medi Sphere .95p.
- 132.Popovici, C., Saykova, I. and Tylkowski, B. (2009)** Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. Revue de Génie Industriel, 4, 25-39.
- 133.Raaman N. (2006).** Phytochemical techniques. Ed. Publishing Agency, New Delhi, 306p.
- 134.Rahal, K. (2011).** *Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle National Selon les recommandations de l'OMS* ;Alger, Algérie. 116p.
- 135.Rapp, a, 1998.** Volatile flavour of wine: correlation between instrumental analysis and sensory perception. Die Nahrung 42, 351-63.

- 136.Rauha, J-P., Remes, S., Heinonen, M., Hopia, A., Kähkönen, M., Kujala, T., Pihlaja, K., Vuorela, H. Vuorola, P., 2000.** Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. *Int. J. Food Microbio.* Volume 56. p.p.: 3-12.
- 137.Reynier A(2007) .** Manuel de viticulture. Edit. Lavoisier, Tec. et Doc., 529 p.
- 138.Reynier, A. 2007.** Manuel de viticulture : guide technique du viticulteur, Lavoisier, 532p.
- 139.Reynolds, A.G., Wardle, D.A., 1997.** Flavour Development in the Vineyard: Impact of Viticultural Practices on Grape Monoterpenes and their Relationship to Wine Sensory Response. *South African Journal of Enology and Viticulture* 18, 3-18.
- 140.Ribereau-Gayon J et Peynaud E (1971).** a - Sciences et techniques de la vigne Tome 1 et 2. Edit. Dunod, Paris, 1443 p.
- 141.Ribéreau-Gayon P (1968).** Les composés phénoliques des végétaux. Editions Dunod, Paris 254 pp.
- 142.Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., Dubourdiou, D., 1998.** Traité d'oenologie, Vol. 2: Chimie du vin stabilisation et traitements, Dunod. ed.
- 143.Rock E. (2003).** Stress oxydant, micronutriments et sante. Université d'été de Nutrition Clermont-Ferrand, 35-38.
- 144.Ronald, M.(2011).** St-Louis Implication des espèces de l'oxygène dans le contrôle central de l'osmorégulation, Thèses de doctorat, Université-Paris VI, Pierre et Marie Curie.
- 145.Salhi Ouannassa et Soltane Teber. (2018).** Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne de quelques variétés de *Vitis vinifera*. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master. Université Echahid Hamma Lakhdar-El Oued.
- 146.Sanchez-Moreno. C.(2002).** Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in food and biological systems. *Food. Sci. Tech. Int.* **8**: 121-137.
- 147.Sarni-Manchado, P., Cheynier, V., 2006.** Les polyphénols en agroalimentaire. France quercy-46090 Mercués. France. p. 398.
- 148.Saskia A, Van Acker ,Dirk-jan Van Den Berg ,MichÈl N.J.L. Tromp ,Désirée H. Griffioen , Wout P. Van Bennekom , Wim J.F. Van Der Vijgh , Aalt Bast .,1996.**Free Radical Biology and Medicine. Volume 20, Issue 3, 1996, Pages 331-342.
- 149.SAWA T., NAKAO M., ONO K. et MAEDA H. (1999).** Alkylperoxyl radicalscavenging activity of various flavonoids and other phenolic compounds, implication for the antitumor promoter effect of vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* Vol. (47): 397-402.

- 150.Schaechter., Medoff et Eisenstein. (1999)** . Microbiologie et pathologie infectieuse. Edition De Boeck & Larcier. Bruxelles. P : 16-18, 281.
- 151.Sekhri-Arafa, N. (2011).** Fréquence et marqueurs épidémiologiques de *Klebsiella Pneumoniae* dans les services à haut risque infectieux au niveau du CHU Benbadis de Constantine. 18, 22et23p.
- 152.Sharma Om P., Bhat T K .(2009).** DPPH antioxidant assay revisited. Food chem., 113 (4), 1202.
- 153.Shirley, B.W.(1996).** Flavonoid biosynthesis : ‘new’ functions for an ‘old’ pathway. Trend in plant science reviews, 11 (1) : 377-382 p.
- 154.Side Larbi, K., 2016.** Potentiel du contenu polyphénolique et huiles essentielles de quelques plantes médicinales à activités anticartilagineuse et biologiques. Thèse de Doctorat. Université Mustapha Stambouli, Mascara, Algérie. p. 25, 27.
- 155.Slobodan V. Jovanovic, Steen Steenken, Mihajlo, Tosic Budimir Marjanovic and Michael G. Simic.(1994).** Flavonoids as Antioxidants. Journal of American Chemical Society. 116, 4846-4851.
- 156.Stewart et al. (2015).** Plos Biologiy February.150p.
- 157.Tahr ,CH. (2022).** «Antibiotiques Antifongique: physico-chimie, synthèse et Activités Biologiques». Mémoire de Master .Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen Département de Biologie Laboratoire de recherche. 33p
- 158.Talbi, H., Boumaza, A., El-Mostafa, K., Talbi, J. et Hilali A. (2015).** Evaluation de l’activité antioxydant et la composition physico chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. (Evaluation of antioxidant activity and physico chemical composition of methanolic and aqueous extracts of *Nigella sativa* L.). Mater. Environ. Sci, 6 (4), 1111-1117.
- 159.Tayeb B.M (1990).** Le secteur viticole et vinicole en Algérie : marché interne et commerce international. New Médit, vol. 1, n° 1, p. 33-36.
- 160.The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing - EUCAST-(2021).** Mueller-Hinton AGAR : Preparation / composition.
- 161.Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M (2006).** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chemico-Biological Interactions, 160(1), 1-40p.
- 162.Vasconcelos, SML . Goulart ,MOF. Moura, JBF. Manfredini ,V. Benfato, M .Kubota ,LT. (2007).** Espécies reactivas de oxigénio et de nitrogénio, antioxydants e

marcadores de dano oxidativo em sangue humano : principais métodos analiticoa para sua determinação. Quim Nova. 30(5) : 1323-38p.

163.Verpoorte, R., Alfermann, A. W., 2000. Metabolic engineering of plant secondary metabo-lism. Edition Kluwer Academic. p. 1-23.

164.Verrière L. et Olivier R. (1957). L'économie algérienne. Sa structure, son évolution de 1950 à 1955. Études et Conjoncture, vol. 12, n° 2, p. 204-280.

165.Vetter, J., 2004. Poison hemlock (*Conium maculatum* L). Food and Chemical Toxicology. Volume 42. p.p.: 1373-1382.

166.Voirin, S.G., Baumes, R.L., Bitteur, S.M., Gunata, Z.Y., Bayonove, C.L., 1990. Novel monoterpene disaccharide glycosides of *Vitis vinifera* grapes. Journal of agricultural and food chemistry 38, 1373-1378.

167.Wang, L., & Weller, C.L.(2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. Trends Food Sci. Techno., 17, 300-312. differentiation of red grape cultivars and red wines made from them. Journal of Chromatography A, 915, 53–60 p.

168.Wang, S., Melnyk, J.P., Tsao, R., Marcone, M.F (2011). How natural dietary antioxidants in fruits, vegetables and legumes promote vascular health. Food Research International, 44(1), 14-22p.

169.Williams, P.J., Strauss, C.R., Wilson, B., 1980. New Linalool derivatives in Muscat of Alexandria grapes and wines. Phytochemistry 19, 1137-1139.

170.Williams, P.J., Strauss, C.R., Wilson, B., Massy-Westropp, R.A., 1982. Novel monoterpene disaccharide glycosides of *Vitis vinifera* grapes and wines. Phytochemistry 21, 2013-2020.

171.Wink, M.(2010).Biochimestery of plant secondary metabolisme.Annul plant reviews. Blackwell publishing Ltd.p:11-15.

172.www.somipev.ma, mbouskraoui@gmail.com .99p.

173.Yanagida F, Srionnual S, Chen Y-S (2008) Isolation and characteristics of lactic acid bacteria from koshu vineyards in Japan. Lett Appl Microbiol 47: 134–139.

174.Yu, Q.-M., E.-J. Lim, S.-K. Choi and J.-S. Seo (2014). "Antioxidant effect of grapevine leaf extract on the oxidative stress induced by a high-fat diet in rats." Food Sci. Biotechnol 23(3): 849-857.

175.Zeghouane, H., 2014. Essai de caractérisation phytochimique des extraits de quelques plantes médicinales du Sahara septentrional Est- Algérien. Mémoire Master. Université Kasdi Merbah, Ouargla, Algérie. p. 17, 18.

176. Pelletier, E., Campbell, P.G.C., Denizeau, F (2004). Écotoxicologie moléculaire : Principes fondamentaux et perspectives de développement. Edition PUQ, Nutrition artificielle de l'adulte. Edition Springer, 255p.

177. Zelko, J.N., Marian, T.J., Folz, R.J. (2002). Superoxide dismutase multigene family : a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. Free radical biology & medicine. 337-349p.

178. Ighodaro, O. M., Akinloye, O. A (2017). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. Alexandria Journal of Medicine. 287-293p.

Annexes

Annexes1 : Quelques structures chimiques

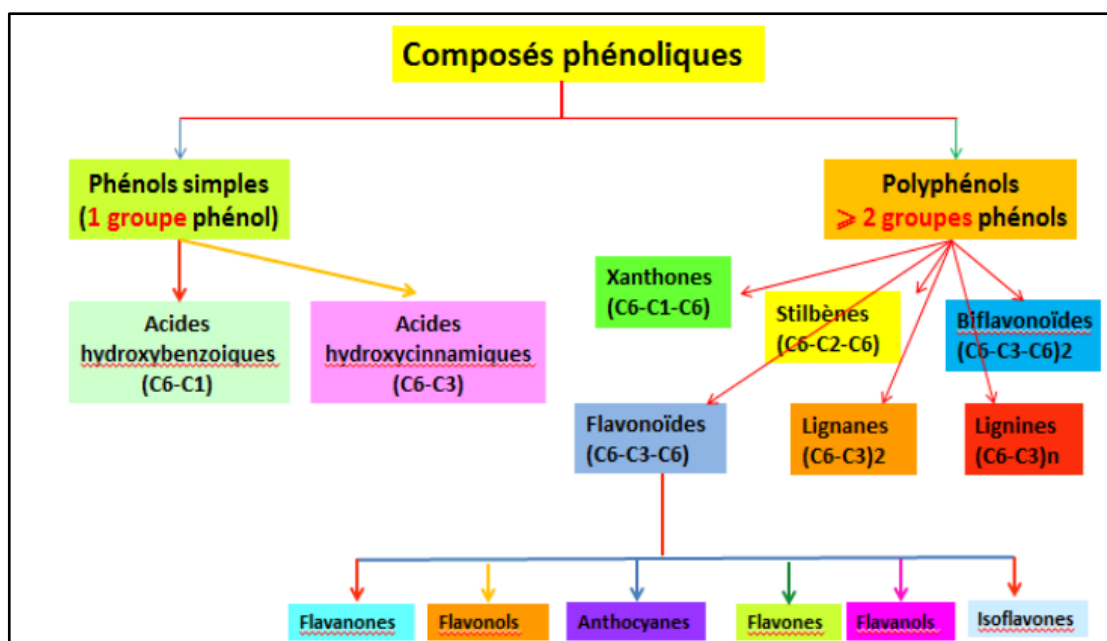


Figure 01. Classification des composés phénoliques (Merghem, 2009).

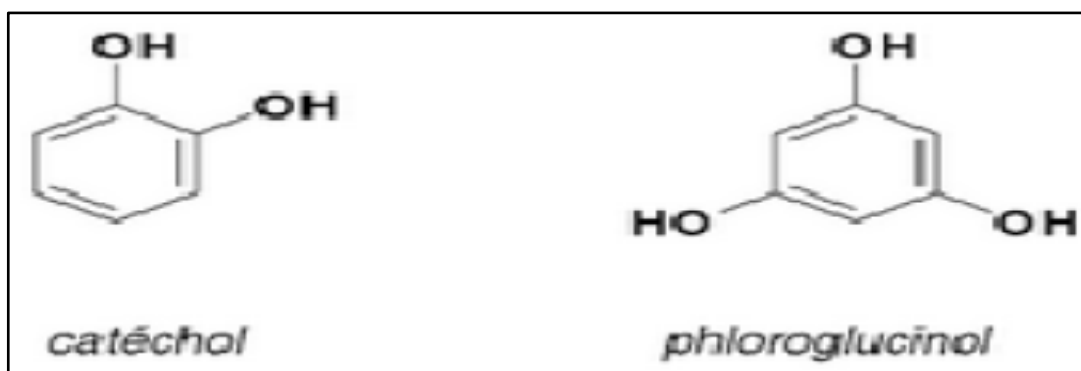


Figure 02. Exemples des phénols simples (Bruneton, 2009).

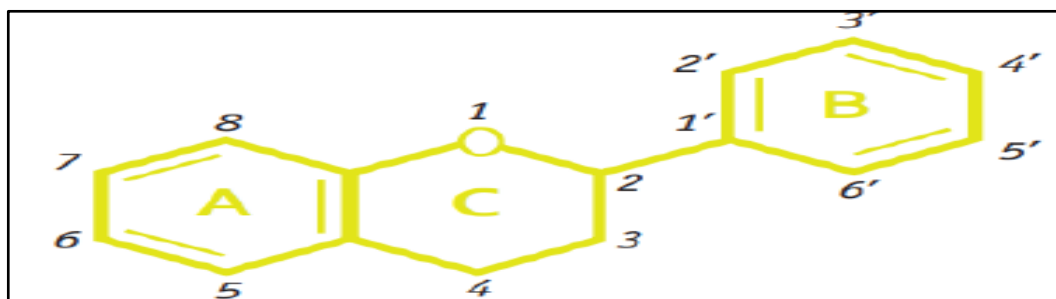


Figure 03. Structure de base des flavonoïdes (Dacosta, 2003).

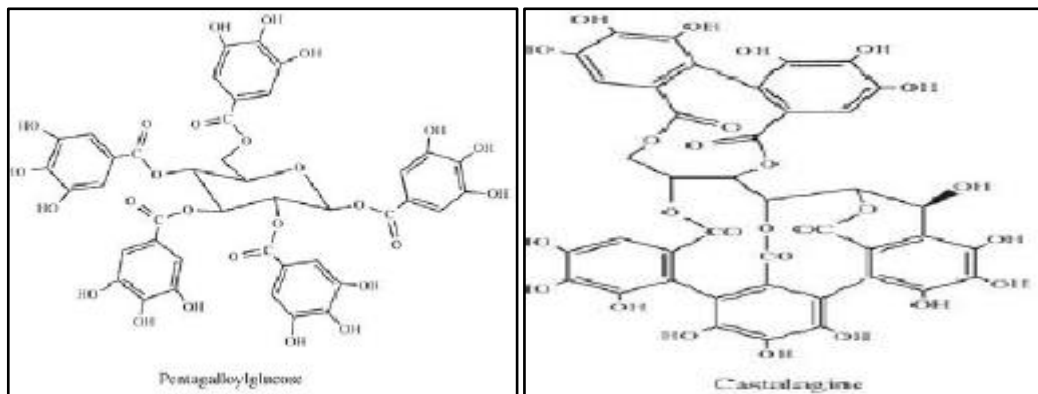


Figure 04. Structure de deux tanins hydrolysables (Macheix *et al.*, 2005).

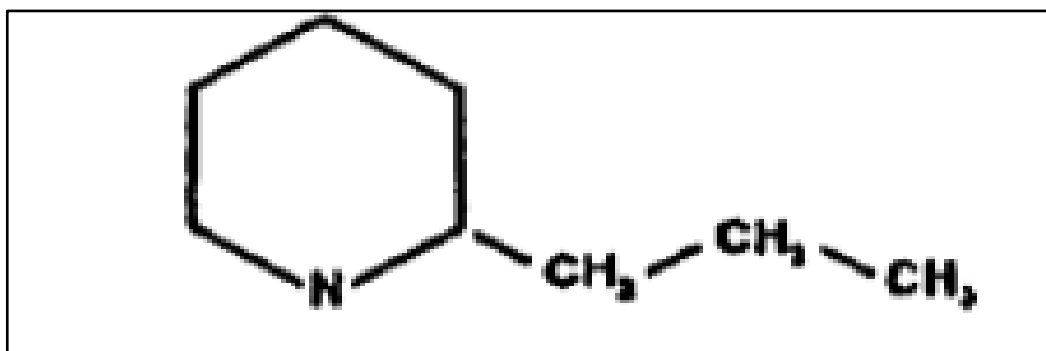


Figure 05. Structure de Coniine (Vetter, 2004).

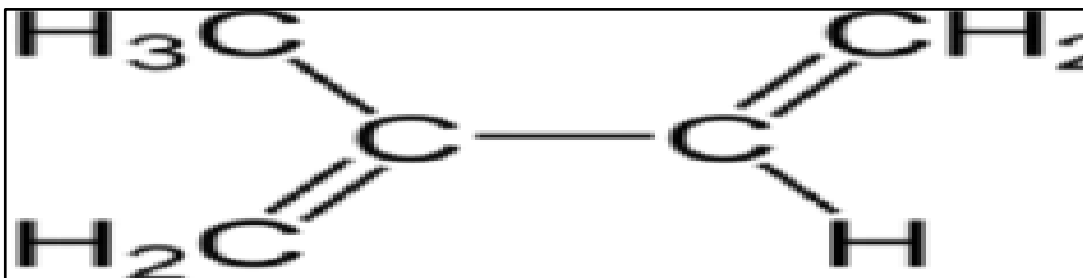
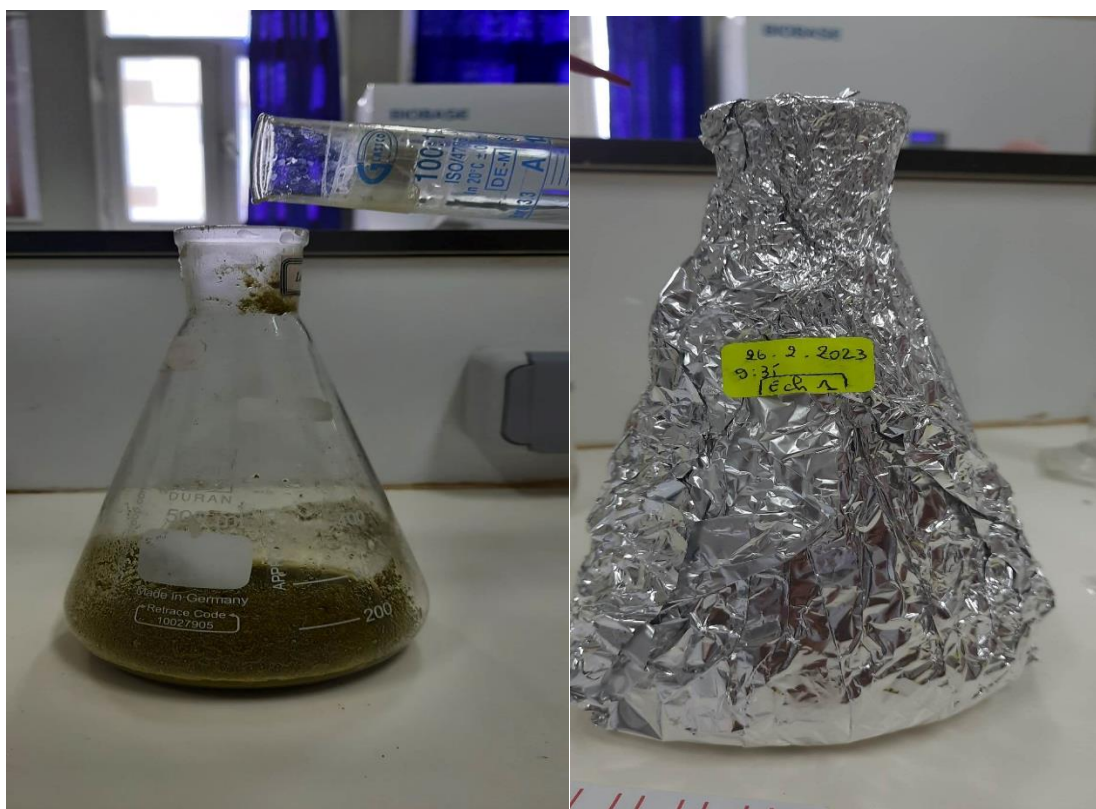


Figure 06 Structure de l'unité isoprénique (Side Larbi, 2016).

Annexes1. Préparation des extraies hydro-méthanoliques des parties aériennes Feuille de *Vitis vinifera* (Originale, 2023).



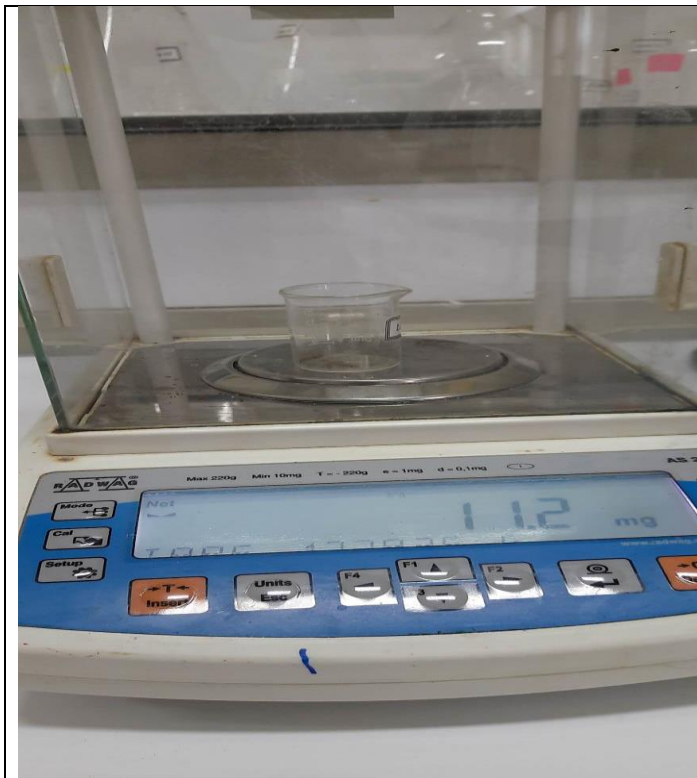
Annexes 02. Résultats des tests phytochimiques de *Vitis vinifera* (Originale, 2023).



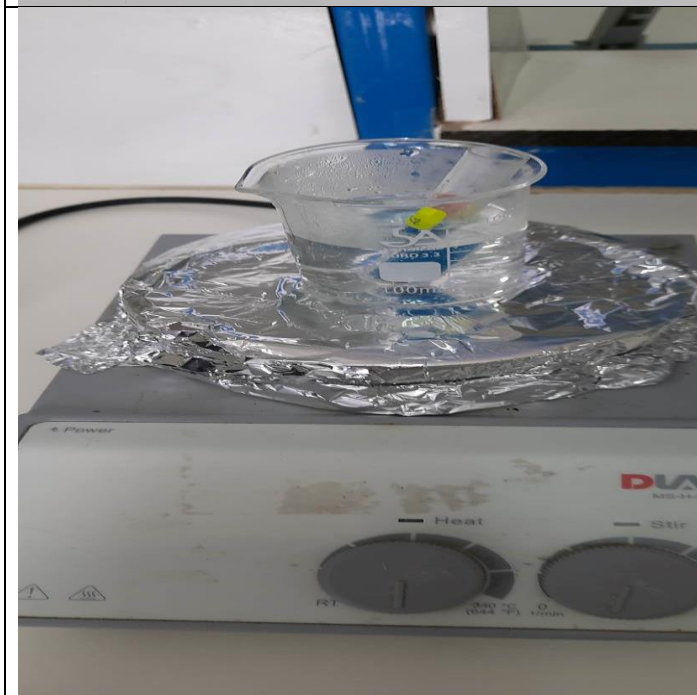
Annexes 03. les feuilles de vigne en poudre (Original, 2023).






Annexes 04. Appareillage



Balance analytique (Shanghai Sunrise Instrument précision 0.1 mg)
(Photo original., 2023).



Plaque chauffante
(Photo original. 2023).

	<p>Spectrophotomètre (UV-1240 SHIMADZU). (photo original., 2023).</p>
	<p>Bain à ultrasons médical CLEAN50 (Photo original., 2020).</p>
	<p>Etuve (Mommert, Beschickung -Loadig Model 100- 800). (Photo originale., 2020).</p>

Annexes 05. Antibiogramme

