



الجزائرية الديمقراطية الشعبية الجمهورية
République Algérienne Démocratique et Populaire N série: ...
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة الشهيد حمزة 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 en Sciences
biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

THEME

*Effet du solvant sur la teneur en métabolites secondaires
et la potentialités antimicrobiennes de Vitis Vinifera*

Présenté par :

M^{elle} : CHikha Mabrouk Sara.

M^{elle} : Khennoufa Nour Elhouda.

M^{elle} : Djouadi Fatima Elzahraa.

Devant le jury composé de :

Président :	KIRAM Abderrazak	MAA	Université d'El Oued.
Examineur :	TIJANI Aicha	MAA	Université d'El Oued.
Encadreur :	M ^{me} BOUKHARI Dalale	MAA	Université d'El Oued.

Année Universitaire 2024-2025

Dédicace

Louange à **Allah**, dont la grâce et la faveur nous ont amenés là où nous sommes aujourd'hui.

Je dédie ce travail à **mon cher père FATHI** qui m'a soutenu dans mes démarches et n'a lésiné sur rien, je prie Dieu de lui accorder longévité, santé et bien-être.

Je dédie ce travail à **ma mère MARIEME** bien-aimée, qui m'a encouragé avec tout ce qu'elle avait et m'a fourni toutes sortes d'aides, grâce à ses prières je suis arrivé jusqu'ici, je prie Dieu de lui accorder longévité, santé et bien-être.

Que Dieu les préserve pour moi.

À mes frères et sœurs : Sana, Mohammed, Ahmed, Iman et Nour.

A mes grands-parents, oncles, tantes

À tous mes professeurs et à tous ceux qui m'ont aidé, ne serait-ce que d'un mot.

A mes amis avec qui j'ai partagé une étape de mes études

Et à tous ceux qui m'ont soutenue

C'est à eux que je dédie ce travail et cette œuvre.

SARA



Dédicace

*À celle qui a semé dans mon cœur l'amour du savoir et
veillé sur mon bien-être...*

*À mon cœur battant,
ma chère mère SOULAF*

symbole de don et de patience,

*À celui qui m'a appris la persévérance et le sens du
travail*

mon cher père HOUCINE

À mes frères et sœurs, qui ont toujours été mon pilier,

*À tous ceux qui m'ont soutenu par une parole, une
prière ou un sourire,*

*À mes amis qui ont partagé avec moi les moments de
défi et de réussite,*

*Je dédie le fruit de mes efforts et de mes années de
travail,*

*En espérant qu'il soit le début d'un avenir riche en
contributions dans le domaine de la biochimie.*



HOUDA

Dédicace

Au battement de cœur, à celui qui m'a appris les premières lettres,

À ceux qui sont restés éveillés la nuit pour que je puisse arriver à ce jour,

*À **mon père Ahmed Elamine***

*à **ma mère Latifa**... vous êtes le sens de la vie et la raison pour y parvenir.*

*À ceux qui m'ont accompagné dans mon voyage de connaissance... mes frères, collègues et amis,
Vous avez été un soutien et une aide à chaque étape, alors je vous remercie tous.*

À tous ceux qui m'ont appris une lettre... à mes professeurs qui ont été des phares sur mon chemin.

*À celui qui a cru en moi quand je doutais de moi-même,
À tous ceux qui ont participé à cette réussite...*

Je vous dédie ce billet, en signe de ma loyauté et de ma gratitude,

Et une prière pour que Dieu rende cette connaissance bénéfique dans ce monde et dans l'au-delà.



FATIMA

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions Allah Tout-Puissant qui nous a aidés et nous a donné la patience, le courage, la force et la volonté d'accomplir ce modeste travail, d'atteindre notre objectif et de réaliser notre beau rêve. En conclusion, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et nos remerciements à tous ceux qui ont contribué, directement ou indirectement, à la réalisation de ce mémorandum .Nous adressons nos sincères remerciements à notre superviseur, Mme. Bukhari Dalal, maître de conférences au département de biologie de l'Université du Echahid Hamma Lakhdar à El Oued, pour sa précieuse supervision, son dévouement, ses conseils scientifiques et sa disponibilité constante pour nous aider. Nous la remercions pour sa confiance, sa patience et son humanité, et nous espérons être à la hauteur de ses attentes. Nous exprimons notre profonde gratitude aux responsables des laboratoires 7, 8, 9 et 10 : Sultan Abdul Haq, Khennoufa Omar, MadameSalma et Mme Latifa, pour leur aide et leur soutien durant la période expérimentale.Nous ne pouvons que remercier nos chers parents pour leur amour, leur patience et leurs prières constantes. Leur soutien moral a été pour nous une source majeure de motivation.Nous n'oublions pas non plus nos collègues et amis pour leurs encouragements, leur coopération et tous les beaux moments que nous avons partagés.

Enfin, nous adressons nos sincères remerciements à l'Université du Echahid Hamma Lakhdar d'El Oued, qui nous a offert un environnement propice à la recherche et à la réussite académique.

Résumé

ملخص

Abstract

Résumé

La vigne est considérée comme l'une des cultures les plus anciennes et les plus répandues dans le monde. Ses applications ne se limitent pas uniquement à l'aspect alimentaire, mais également à l'aspect médical. Dans notre expérience, nous visons à étudier l'effet du type de solvant sur l'extrait en métabolites secondaire de la vigne (*Vitis vinifera*) et à évaluer son activité antimicrobienne. Cette étude a été réalisée sur deux variétés de la plante *Vitis vinifera* : l'échantillon A collectée à partir de la wilaya d'El Oued et l'échantillon B à partir de la wilaya de Biskra. Pour extraire les composés bioactifs, les deux échantillons ont été macérés dans deux solvants : méthanol (AM, BM) et acétone (AA, BA). Les résultats du dépistage phytochimique ont révélé la présence de phénols, flavonoïdes et tanins dans tous les extraits analysés. Quant au rendement des extraits, il est comme suivi: AA (17,126 %) ; BA (18,915 %) ; AM (13,483 %) ; BM (15,966 %) L'analyse quantitative a montré que l'échantillon B est généralement supérieur à l'échantillon A, avec un extrait BM affichant la plus forte teneur en phénols ($104,2 \pm 2,08$ µg d'équivalent acide gallique/mg de matière sèche), ainsi qu'une teneur en tanins de $2,159 \pm 0,213$ mg équivalent catéchine/mg de matière sèche. Quant à l'extrait BA (acétone), il s'est révélé le plus riche en flavonoïdes, atteignant $199 \pm 0,92$ µg équivalent quercétine/mg de matière sèche. Concernant l'activité antimicrobienne, malgré l'absence d'effet inhibiteur contre *Candida albicans* (activité anti-candida), l'échantillon B, qu'il soit dissous dans le méthanol ou l'acétone, a montré un effet sur toutes les bactéries testées : (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*). La plus grande zone d'inhibition a été enregistrée contre *Bacillus subtilis* avec 15 mm. L'extrait AM a montré la plus forte inhibition contre *Escherichia coli* (17 mm) et *Staphylococcus aureus* (26 mm), tandis que l'extrait AA a montré la plus grande zone d'inhibition contre *Pseudomonas aeruginosa* (12 mm).

Mots-clés : *Vitis vinifera*, méthanol, acétone, métabolites secondaires, activité antimicrobienne.

ملخص

تعتبر الكرمة واحدة من أقدم المحاصيل وأكثرها انتشارًا في العالم. لا تقتصر تطبيقاتها على الجانب الغذائي فحسب، بل أيضًا على الجانب الطبي. في تجربتنا، نهدف إلى دراسة تأثير نوع المذيب على مستخلص المستقلب الثانوي للكرمة (*Vitis vinifera*) وتقييم نشاطه المضاد للميكروبات. أجريت هذه الدراسة على نوعين من نبات *Vitis vinifera*: العينة A التي تم جمعها من ولاية الوادي والعينة B التي تم جمعها من ولاية بسكرة. لاستخراج المركبات النشطة بيولوجيًا، تم نقع كلتا العينتين في مذيبيين: (الميثانول AM، BM والأسيتون AA)، (BA). كشفت نتائج الفحص الكيميائي النباتي عن وجود الفينولات والفلافونويدات والعفص في جميع المستخلصات التي تم تحليلها. أما بالنسبة لعائد المستخلصات، فهو كما يلي: AA (17.126%)، BA (18.915%)، AM (13.483%)؛ أظهر التحليل الكمي لـ BM (15.966%) أن العينة B متفوقة بشكل عام على العينة A، حيث أظهر مستخلص BM أعلى محتوى فينولي (104.2 ± 2.08 ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك/ملغ مادة جافة)، بالإضافة إلى محتوى ثانين قدره 0.213 ± 2.159 ملغ مكافئ كاتشين/ملغ مادة جافة. أما مستخلص BA (الأسيتون)، فقد وجد أنه الأغنى بالفلافونويدات، حيث وصل إلى 199 ± 0.92 ميكروغرام مكافئ كيرسيتين/ملغ مادة جافة. وفيما يتعلق بالنشاط المضاد للميكروبات، وعلى الرغم من عدم وجود تأثير مثبت ضد *Candida albicans* (نشاط مضاد *Candida albicans*)، أظهرت العينة B، سواء المذابة في الميثانول أو الأسيتون، تأثيرًا على جميع البكتيريا المختبرة: (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*). أُسِّت أكبر منطقة تثبيط ضد *Bacillus subtilis* عند 15 مم، وأظهر مستخلص AM أعلى تثبيط ضد *Escherichia coli* (17 مم) و *Staphylococcus aureus* (26 مم)، بينما أظهر مستخلص AA أكبر منطقة تثبيط ضد *Pseudomonas aeruginosa* (12 مم).

الكلمات المفتاحية: كرمة العنب، الميثانول، الأسيتون، المستقلبات الثانوية، النشاط المضاد للميكروبات.

Abstract

The vine is considered one of the oldest and most widespread crops in the world. Its applications are not limited only to the food aspect, but also to the medical aspect. In our experiment, we aim to study the effect of the type of solvent on the secondary metabolite extract of the vine (*Vitis vinifera*) and to evaluate its antimicrobial activity. This study was carried out on two varieties of the *Vitis vinifera* plant: sample A collected from the wilaya of El Oued and sample B collected from the wilaya of Biskra. To extract the bioactive compounds, both samples were macerated in two solvents: methanol (AM, BM) and acetone (AA, BA). The results of the phytochemical screening revealed the presence of phenols, flavonoids and tannins in all the analyzed extracts. As for the yield of the extracts, it is as follows: AA (17.126%); BA (18.915%); AM (13.483%); BM (15.966%) Quantitative analysis showed that sample B is generally superior to sample A, with BM extract displaying the highest phenolic content (104.2 ± 2.08 μg gallic acid equivalent/mg dry matter), as well as a tannin content of 2.159 ± 0.213 mg catechin equivalent/mg dry matter. As for the BA (acetone) extract, it was found to be the richest in flavonoids, reaching 199 ± 0.92 μg quercetin equivalent/mg dry matter. Regarding antimicrobial activity, despite the lack of inhibitory effect against *Candida albicans* (anti- candida activity), sample B, whether dissolved in methanol or acetone, showed an effect on all bacteria tested: (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*). The largest zone of inhibition was recorded against *Bacillus subtilis* at 15 mm. The AM extract showed the highest inhibition against *Escherichia coli* (17 mm) and *Staphylococcus aureus* (26 mm), while the AA extract showed the largest zone of inhibition against *Pseudomonas aeruginosa* (12 mm).

Keywords: *Vitis vinifera*, methanol, acetone, secondary metabolites, antimicrobial activity .

Sommaire

	Page
Dédicace	-
Remerciements	-
Résumé	-
Sommaire	I
Liste des figures	III
Liste des photos	IV
Liste des tableaux	V
Liste des abréviation	VI
Introduction	2
1 ère Partie: Synthèse Bibliographique	
Chapitre I : La plante étudiée : Vitis Vinifera	
I.1 Défénition	7
I.2 Botanique	8
I.3. Le cycle de développement de la Vigne	9
I.3.1 Le cycle végétatif	9
I.3.2 Le cycle reproducteur	9
Chapitre II : Métabolites secondaires	
II.1. Introduction	12
II.2. Définition	12
II.3.Types et origine des métabolites secondaires	12
II.4.Fonctions des métabolites secondaires chez les végétaux	13
II.5. Les phenols	13
II.5.1. Définitions	13
II.5.2.Clasement de phenols	13
Chapitre III : Les activites antimicrobiennes	
III.1.Définition microbiennes	18
III.2. Classification	18
III.2.1 Les bacteries	18
III.2.2 Les Champignons	22
III.3. Action des agents antimicrobiens:	23
2 éme Partie : Partie expérimentale	

Chapitre I: Matériel et Méthodes	
Matériels et Méthodes	27
I.1. Présentation de la région d'étude	27
I.1.1. Situation géographique de la wilaya d'El-Oued	27
I.1.2. Situation géographique de la Wilaya de Biskra	28
I.2. Matériels	29
I.2.1. Matériel biologique	29
I.2.2. Matériel technique du laboratoire	29
I.3. Méthode	30
I.3.1. Séchage	30
I.3.2. L'extraction	31
I.3.3. le rendement	32
I.3.4. Screening phytochimique	32
I.3.6. Evaluation de les activites antimicrobiennes	34
Chapitre II: Résultat et discussion	
II.1. Rendement d'extraction des composés phénoliques	37
II.2. Test phytochimique	37
II.3. Dosage des composées phénoliques par la méthode colorimétrique «Analyse quantitative »	38
II.3.1. La teneurs en flavonoïdes totaux (FVT)	38
II.3.2. teneurs des tanins condensés (TC)	39
II.3.3. La teneur en polyphénols totaux PPT	41
II.4. Evaluation des activites antimicrobiennes:	43
II.4.1 Escherichia coli ATCC 25922	43
I.4.2 Pseudomonas aeruginosa 27853	44
II.4.3. Staphylococcus aureus ATCC 25932	44
II.4.4. Bacillus subtilis ATCC 25973	45
II.4.5. Discussion	45
Conclusion	48
Référence	50
Annexes	59

Liste des figures

	Page
Figure 01: Anatomie d'un plant de vigne.	7
Figure 02: Structure générale des flavonoïdes	15
Figure 03: Structure générale des tanins hydrolysables	16
Figure 04: Structure générale des tanins condensés	16
Figure 05: Main paths of viticulture, from Caucasus to Europe	19
Figure 06: La paroi des bactéries à GRAM positif	20
Figure 07: La paroi des bactéries à GRAM négatif	20
Figure 08: Structure / morphologi. Les Champignons	22
Figure 09: Situation géographique de la wilaya d'El-Oued	27
Figure 10: Situation géographique de la Wilaya de Biskra	28
Figure 11: Courbe d'étalonnage de quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux (FVT)(mg/ml).	38
Figure 12 : Teneur en flavonoïdes totaux des variétés étudiées	39
Figure 13: Courbe d'étalonnage de catéchine pour le dosage des tanins condensés (TC) (mg/ml)	40
Figure 14: Teneur en tanins condensés (TC) totaux des variétés étudiées.	40
Figure 15: Courbe d'étalonnage de l'acide Gallique pour le dosage des polyphénols totaux (PPT)(mg/ml).	41
Figure 16 : Teneur en PPT totaux des variétés étudiées	42

Liste des photos

	Page
Photo 01: Schéma représentative des étapes d'extraction.	31
Photo 02: Photos de manipulation	35

Liste des tableaux

Tableau	Page
Tableau 1: Nomenclature de la vigne	8
Tableau02: Classification simplifiée du règne des Fungi présentant les principales classes de champignons avec quelques espèces caractéristiques.	23
Tableau 03 :Les rendements d'extraction .	37
Tableau 04 : Résultats des tests phytochimiques de l'extrait de la plante étudiée.	37
Tableau 05 :	43
Tableau06: Evaluation de activité inhibitrice vis-à-vis <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	44
Tableau07: Evaluation de activité inhibitrice vis-à-vis <i>Staphylococcus aureus</i>	44
Tableau08: Evaluation de activité inhibitrice vis-à-vis <i>Bacillus subtilis</i>	45

Liste des abréviations

AM : échantillon A sur solution methanolique.

AA : échantillon A sur solution acétonique.

BM : échantillon B sur solution methanolique.

BA : échantillon B sur solution methanolique.

PPT : les polyphénols totaux.

FVT : les flavonoïdes totaux.

TC : tanins condensés.

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium.

FeCl₃ : Chlorure Ferrique.

HCl : Chlorhydrique concentré.

AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium.

V/V : volume/volume.

MS : matière sèche.

EC : équivalent catéchine.

EAG : équivalent acide gallique.

EQ : équivalent quercétine.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice



Introduction



Introduction :

Depuis des siècles, les populations du monde entier ont eu recours aux plantes comme remède naturel pour soigner diverses maladies.

Bien que la médecine moderne ait connu un grand essor au fil des années, cette pratique traditionnelle s'est transmise de génération en génération et continue de se perpétuer jusqu'à aujourd'hui. **(C.C.U.C.A. MAÏS, 2017)**

En effet, les plantes médicinales tirent leur importance de la richesse en composés actifs dotés de propriétés thérapeutiques, à la fois curatives et préventives. **(S.Lonela ., 2015)**

La vigne compte parmi les plantes les plus anciennement cultivées dans le monde. Depuis des millénaires, elle a été exploitée par la médecine traditionnelle et la pharmacie pour ses nombreux bienfaits. **(S.Compant et al., 2010)** , Il est réputé pour ses bienfaits sur la santé, grâce à sa teneur en vitamines, acides organiques, polyphénols, minéraux et sucres faciles à absorber.

Grâce à ses multiples effets, les polyphénols du raisin lui confèrent de nombreuses propriétés dans le domaine de la cosmétique et de la thérapie. **(E.Demelin, 2012).**

Au fil du temps, cette plante a continué à révéler de nombreux bienfaits.

La recherche biomédicale s'intéresse beaucoup aux substances présentes dans la vigne et ses produits dérivés **(S.Compant et al., 2010).**

Dans le domaine pharmaceutique, *Vitis vinifera* constitue une source importante de substances actives reconnues pour leurs propriétés antioxydantes, cardioprotectrices, hépatoprotectrices, anticancéreuses, antibactériennes et antivirales. Plusieurs études soulignent le potentiel d'utilisation de *V. vinifera* ou de ses composés actifs comme agents naturels aux effets antibactériens, anticancéreux ou respectueux de l'environnement **(M.Sharafan et al., 2023).**

Actuellement, l'Agence européenne des médicaments reconnaît l'usage bien établi d'un extrait sec aqueux de feuilles de vigne dans le traitement des symptômes liés à l'insuffisance veineuse chronique. Par ailleurs, ces feuilles sont aussi consommées comme aliment, qu'elles soient fraîches, en saumure ou fermentées **(V.Katalinic et al., 2013).**

L'objectif de notre étude est de connaître l'effet du solvant sur l'extrait en métabolites secondaire ainsi d'évaluer la potentialité antimicrobienne de *Vitis vinifera* (l'échantillon A cultivé à El-Oued et l'échantillon B cultivé à Biskra).

Notre recherche se divise en deux parties : une partie bibliographique comprenant une recherche exhaustive sur la plante étudiée (*Vitis vinifera*), les métabolites secondaires et l'activité antimicrobienne. La deuxième partie est expérimentale et comprend les matériaux et les méthodes utilisés pour extraire les molécules biologiquement actives à l'aide de méthanol et d'acétone comme solvants, un test d'activité antimicrobienne (activité antibactérienne et activité anticandida) est effectué.

Les résultats obtenus sont analysés et discutés, puis la conclusion est présentée.

1^{ère} Partie:

Synthèse

Bibliographique



Chapitre I :

La plante étudiée :

Vitis Vinifera



I.1 Définition :

Vitis vinifera est une espèce de raisin populaire de la famille des Vitacées et appartient au genre *vitis*. Il existe des cultivars de *vitis vinifera* avec ou sans pépins, ainsi que des variétés rouges, noires et blanches. Comme les espèces de *Vitis vinifera* sont 90 % plus nombreuses que toutes les autres espèces, elles sont faciles à trouver. L'Asie occidentale et l'Europe L'Asie occidentale et l'Europe méridionale sont les origines du raisin (**Aghbali et al., 2013**). Le raisin est l'un des produits agricoles produits agricoles. Par conséquent, la viticulture, ou culture du raisin, est l'un des types d'agriculture les plus bénéfiques. Il existe plus de 10 000 variétés de raisin différentes dans le monde. La racine, la tige, la canne, la feuille, les graines, les fruits, contiennent tous diverses substances phytochimiques. Les composés phénoliques, acides aromatiques, flavonoïdes, proanthocyanines et stilbénoides sont parmi les produits chimiques importants découvertes (**Filocamo et al., 2015, Radulescu et al,2020, Goufo et al., 2020**). Le raisin contient des éléments nutritifs tels que des minéraux, des protéines, des glucides, des graisses, des fibres, de la vitamine C et du sucre, ainsi que des substances bioactives6-8. (**S.Parihar & D.Sharma, 2021**).

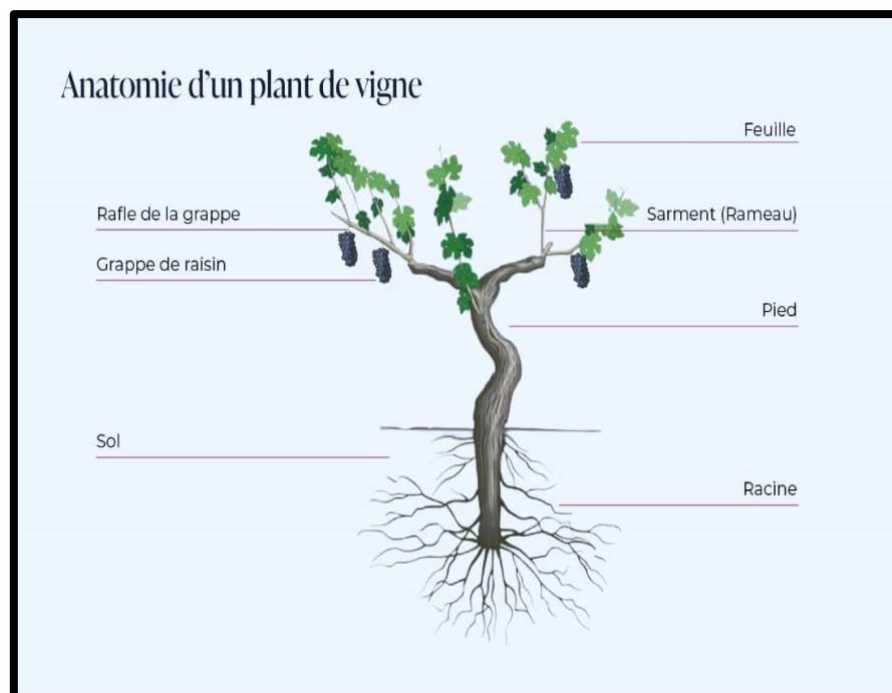


Figure 01: Anatomie d'un plant de vigne.

I.2 Botanique :

La vigne cultivée est une plante hétérozygote et ne se reproduit pas à partir de la semence (Wang, 2014). Sa propagation est faite au travers de clones pour préserver les caractéristiques souhaitées de la plante. La vigne est une liane avec des rameaux ligneux, des feuilles caduques de phyllotaxie alterne-distique, les fleurs sont mâles ou hermaphrodites composées de 5 sépales avortés (**calice**), 5 pétales joints (**corolle ou calotte**), 5 étamines et un ovaire comprenant 2 carpelles renfermant chacun 2 ovules (T.Silva,2020). Elles sont verdâtres et les inflorescences de type panicule se développent en fruits de type baies .

Tableau 1: Nomenclature de la vigne, (T.Silva,2020).

Rang	Nom scientifique
Domaine	Biota
Règne	Plantae
Sous-Règne	Viridaeplantae
Infra-Règne	Streptophyta
Classe	Equisetopsida
Clade	Tracheophyta
Clade	Spermatophyta
Sous-Classe	Magnoliidae
Super-Ordre	Rosanae
Ordre	<i>Vitales</i>
Famille	<i>Vitaceae</i>
Genre	<i>Vitis L</i>
Espèce	<i>Vitis vinifera L.</i>
Sous-espèce	<i>Vitis vinifera subsp/Sylvestris.</i>
	<i>Vitis vinifera subsp/vinifera L.</i>

I.3. Le cycle de développement de la Vigne :

Chaque année, la Vigne effectue au cours de son développement deux cycles en concurrence trophique :

_Le cycle végétatif assure la pérennité du cep grâce au développement de l'appareil végétatif.

_ Le cycle reproducteur permet la formation des fleurs, puis des fruits.

I.3.1 Le cycle végétatif :

De novembre à février, la Vigne est en période de repos hivernal ou dormance. Au début du printemps, la reprise de l'activité végétative se manifeste par les « pleurs », correspondant à un écoulement de sève brute par les plaies dues à la taille (**Huglin et Schneider, 1998 ; Galet, 2000**). Le débourrement est la première manifestation visible de la reprise de la croissance. Il se caractérise par un gonflement du bourgeon latent, l'éclatement des premières écailles, le rejet de la bourre (**ou coton**), et l'émergence des premières feuilles. Il se produit de début mars à fin avril dans le vignoble bordelais (**Blouin et Guimberteau, 2000**). La phase de croissance se poursuit jusqu'à fin juillet à début août. Elle se caractérise par l'allongement des rameaux, l'étalement et la croissance des feuilles. L'aoûtement débute au mois d'août et se poursuit jusqu'en novembre. Il s'accompagne d'une accumulation de réserves en amidon et en lignine dans les sarments, ce qui favorise la résistance des tissus au froid et pour permettre le début d'un nouveau cycle au printemps suivant (**C.CAMPS , 2008**).

I.3.2 Le cycle reproducteur :

I.3.2.1 La phase herbacée :

De la floraison à la fécondation : L'initiation florale se produit dans les bourgeons latents, l'année où ils sont formés, soit environ un an avant la floraison. La différenciation des fleurs commence au printemps, lorsque le

bourgeon latent reprend son activité. Peu après le débourrement, les inflorescences se développent. La floraison a lieu entre mai et juin, et aboutit à la libération du pollen. Comme toutes les fleurs d'une inflorescence ne

s'épanouissent pas en même temps, la fécondation s'étale sur une quinzaine de jours.

I.3.2.2 Développement de la baie de raisin :

Dès que l’ovaire commence à se développer, on dit qu’il est noué, et l’ensemble de ce phénomène pour une grappe s’appelle la nouaison. Au mois d’août, les baies atteignent le stade de la véraison, qui marque la fin de la phase herbacée et le début de la maturation. Entre fin septembre et début octobre, les baies atteignent la pleine maturité et peuvent être vendangées.

Le raisin entre ensuite dans une phase de surmaturation caractérisée par un flétrissement des baies. **(C.CAMPS , 2008).**



Chapitre II

Métabolites secondaires



II.1. Introduction:

« La nécessité est la mère de l'invention » semble vrai, si l'on considère les plantes, qui, étant non mobiles et dépourvues de système immunitaire, ne sont pas impuissantes face à une grande variété de stress biotiques et abiotiques, mais utilisent plutôt un arsenal de produits chimiques pour dissuader les ennemis, repousser les agents pathogènes, supplanter les concurrents et dépasser les contraintes environnementales. **(DJ.Ballhorn et al.,2009; H.Schafer et al.,2009)**

En 1891, A. Kosel a donné à ces substances chimiques le nom de « métabolites secondaires » et a indiqué que ces composés n'avaient pas une grande importance dans la vie des plantes. La plupart d'entre eux ne participent pas à la croissance et au développement des plantes, c'est pourquoi il les a appelés « métabolites secondaires ». **(R.Croteau et al.,2000 ; A.Edreva et al.,2008)**

II.2. Définition:

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes **(Lutgeet al., 2002)**. Elles se distinguent généralement par leur faible concentration dans les tissus des plantes, représentant souvent seulement quelques pourcents du carbone total – si l'on exclut la lignine de cette catégorie **(Newman & Cragg, 2012)**.

On distingue trois grandes classes de métabolites secondaires : les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes. Chaque groupe regroupe une vaste diversité de molécules présentant un large éventail d'activités biologiques chez l'être humain **(Mansour, 2009)**.

II.3. Types et origine des métabolites secondaires:

On peut identifier trois types de métabolites secondaires:

- Les composés phénoliques ou les polyphénols, qui dérivent de la voie de l'acide shikimique et (acétate/malonat).
- Les alcaloïdes ou les composés azotés qui dérivent des acides aminés.
- Les terpènes qui dérivent de l'IPP (isopentényl pyrophosphate), une molécule à 5C. **(LABBANI ,2021)**

II.4. Fonctions des métabolites secondaires chez les végétaux:

Les métabolites secondaires jouent un rôle essentiel dans les interactions entre la plante et son environnement. Ils remplissent diverses fonctions, notamment en servant de mécanismes de défense contre les prédateurs grâce à des composés amers ou toxiques, ou encore en attirant des espèces bénéfiques telles que les pollinisateurs. De plus, ces substances peuvent intervenir dans la communication entre plantes, en émettant par exemple des signaux d'alerte. **(M.Wink, 2010).**

On peut les diviser en trois grandes classes: alcaloïdes, terpènes et stéroïdes, substances phénoliques. **(S.Bennadja , 2025)**

II.5. Les phénols :**II.5.1. Définitions:**

Le terme "phénol" désigne de manière spécifique l'hydroxybenzène, de formule C_6H_5OH [108-95-2]. Il est également utilisé de façon générique pour désigner toute molécule comportant un ou plusieurs groupes hydroxyles directement attachés à un noyau aromatique. Ce composé a été découvert en 1834 par Runge, qui l'a extrait du goudron de houille et l'a nommé acide carbolique. **(M,Weber et al.,2004)**

Les composés phénoliques ou polyphénols alimentaires constituent l'un des groupes de produits naturels les plus nombreux et les plus répandus dans le règne végétal. Il existe actuellement plus de 8 000 structures phénoliques connues, dont 4 000 ou plus sont des flavonoïdes. **(J.B.Harborne , C.A.Williams ,2000; L.Bravo ,1998 ; V.Cheyrier,2005)**

II.5.2. Classement de phénols:**II.5.2.1.Composés phénoliques simples:**

- Phénols simples: (C_6):

Exemples: phénol; catéchol; hydroxyquinone ou hydroquinone.

Ces composés sont rares à l'état naturel

- Acides phénols, ou acides phénoliques:

Ce sont des dérivés hydroxylés soit de l'acide benzoïque C_6H_5COOH (C_6-C_1)

- Formant alors la classe des acides hydroxybenzoïques
- Soit de l'acide cinnamique $C_6H_5-CH=CHCOOH$ (C6-C3)
- Formant alors la classe des acides hydroxycinnamiques. Ils sont très répandus dans le règne végétal.

Exemples:

Acides hydroxybenzoïques: acide para-hydroxybenzoïque; protocatéchique, acide gallique, acide vanillique.

- Acides hydroxycinnamiques: acide caféique; acide chlorogénique; acide paracoumarique, lequel peut donner des coumarines, qui sont des phénols issus de lactones hydroxylés. (F. Elie , 2022)

II.5.2.2. Composés polyphénoliques:

a. Les flavonoïdes:

Les flavonoïdes sont une classe de métabolites secondaires largement répandue dans le règne végétal. Ils peuvent être considérés comme partiellement responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Ils se trouvent dissous dans l'espace intercellulaire sous forme d'hétérosides ou comme composants de plastes spécialisés, les chromoplastes. (J.L.Guignard , 1996). Le terme flavonoïde regroupe une très large gamme de composés naturels polyphénoliques. On dénombre près de 6500 flavonoïdes répartis en 12 classes (J.Stöckigt *et al.*, 2002) .Par définition, les flavonoïdes sont des composés qui ont en commun la structure du diphenylpropane (C6-C3-C6); les trois carbones servant de jonction entre les deux noyaux benzéniques notés A et B forment généralement un hétérocycle oxygéné C (E.De Rijke *et al.*, 2006).

Leur rôle principal semble être d'assurer la coloration des plantes, en complément de la chlorophylle, des caroténoïdes et des bétalaïnes. Toutefois, leur présence peut parfois passer inaperçue lorsqu'elles se trouvent sous forme « leuco », ce qui explique l'intérêt qu'elles suscitent dans l'industrie agroalimentaire. (M.Gàbor *et al.*,1988).

Il existe de nombreux types de flavonoïdes, parmi lesquels :les flavones, les flavonols, les flavanones, les flavanonols, les flavanones, le flavan-3-ol, le flavilum, les chalcones, les aures, les isoflavones, les isoflavonols, les isoflavanones, les isoflavanols.

isoflavanols, isoflavanols, isoflavanols, isoflavanates, pétrocarbanates, coumaronocromones, 3-arylacoumarines, coumestanes, rutinoïdes. (F.N.Muanda , 2010)

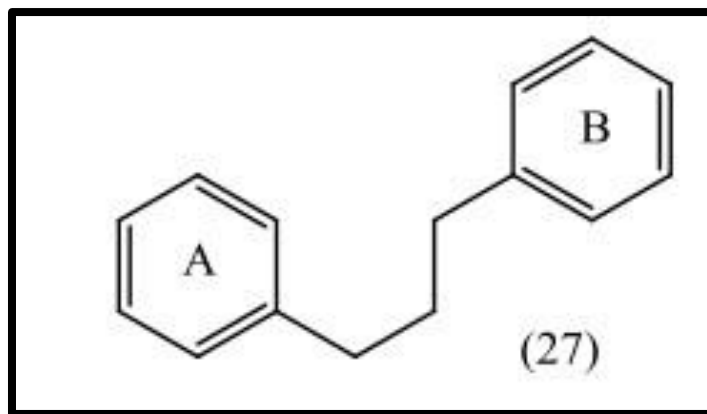


Figure 02: Structure générale des flavonoïdes (F.N.Muanda , 2010).

b. Les tanins:

Le tanin tire son nom de sa capacité à tanner les peaux animales.

Il s'agit d'un groupe de polyphénols à haut poids moléculaire. Ce sont également des molécules fortement hydroxylées qui peuvent former des composés insolubles lorsqu'elles se lient aux glucides, aux protéines et aux enzymes digestives, ce qui réduit la digestibilité des aliments. Ils peuvent se lier à la cellulose et à de nombreux éléments minéraux. (A. Alkurd *et al.*, 2008).

b.1 Les tanins hydrolysables:

Ces tanins, constitués de diesters de l'acide gallique fixés sur un dérivé glycosylé, incluent l'acide gallique lui-même ainsi que les produits de condensation de son dipeptide, à savoir l'acide hexahydroxydiphénylique. Ils sont facilement dégradables sous l'action des enzymes, de l'eau chaude, ainsi que dans des milieux acides ou basiques. (J.Conrad *et al.*,1998)

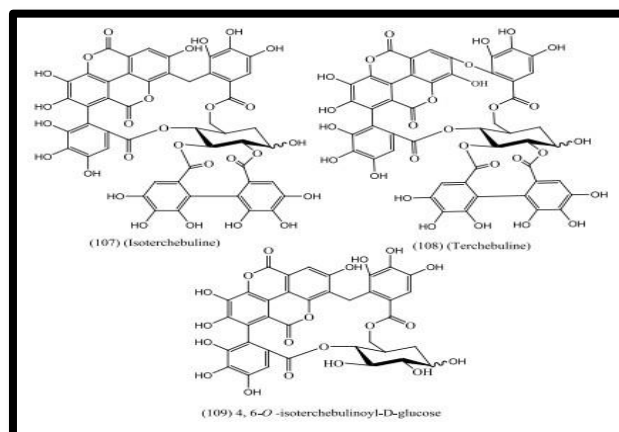


Figure 03: Structure générale des tanins hydrolysables (F.N.Muanda , 2010).

b.2 Les tanins condensés:

Également appelés proanthocyanidines ou procyanidines, les tanins condensés sont des polyphénols de masse molaire élevée. Ils sont issus de la polymérisation, soit par autooxydation soit par voie enzymatique, des unités de flavan-3,4-diol. Ces unités sont principalement liées entre elles par des liaisons C4-C8, parfois C4-C6, formant ainsi des proanthocyanidines de type B.

Lorsque la condensation implique à la fois une liaison C4-C8 et une liaison éther supplémentaire entre C2 et C7, on parle alors de proanthocyanidines de type A.

(J.Wollgast ,E. Anklam , 2000; L.Dykes, L.W.Rooney ,2006)

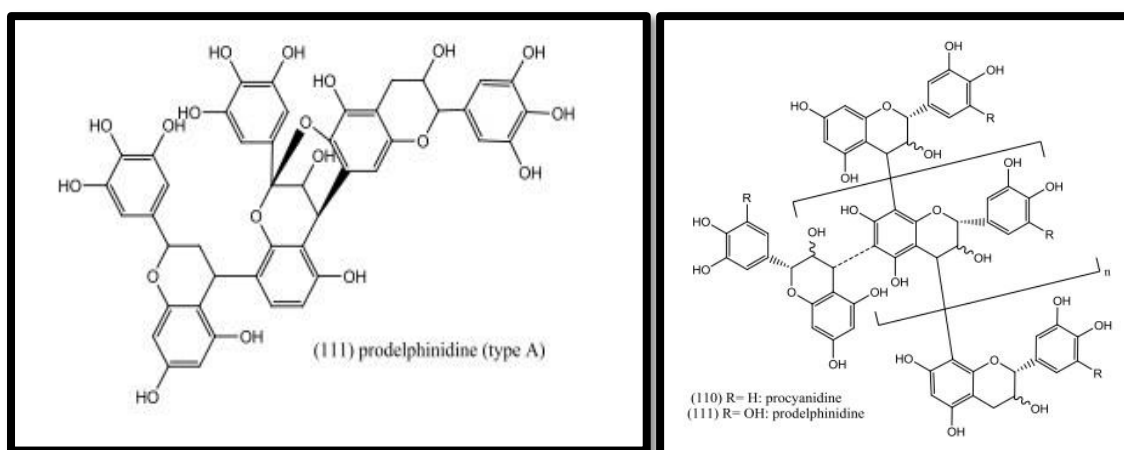


Figure 04: Structure générale des tanins condensés (F.N.Muanda , 2010).



Chapitre III

Les activités antimicrobiennes



III.1. Définition microbiennes

Les micro-organismes, également désignés sous les termes de microbes ou protistes, représentent un groupe d'organismes vivants microscopiques, invisibles à l'œil nu. Leur seule caractéristique commune réside dans leur taille, car ils diffèrent considérablement par leur morphologie, leur physiologie, leurs modes de reproduction et leur écologie (**T.D. Brock,1970**)

Ils englobent une grande diversité de cellules biologiques appartenant principalement au domaine des procaryotes, incluant notamment les bactéries, les champignons, les virus, les microalgues, entre autres. Ces micro-organismes peuvent adopter différentes formes, telles que des bâtonnets, des sphères ou des spirales. Étroitement liés à l'être humain, ils colonisent des milieux tels que la peau ou le tractus intestinal, vivant en symbiose ou parfois comme parasites.

Bien que la majorité d'entre eux soient inoffensifs, certaines espèces se sont révélées pathogènes dans des contextes cliniques, étant à l'origine de maladies graves telles que la tuberculose, la peste bubonique, le charbon bactérien (anthrax), la syphilis, le choléra ou encore la lèpre. (**K.K. Dar et al., 2020**).

III.2. Classification:

III.2.1 Les bactéries :

III.2.1.1. Définition:

Le terme bactérie est un nom vernaculaire qui désigne certains micro-organismes vivants unicellulaires microscopiques et procaryotes présents dans tous les milieux. (**A.LE MONNIER ,2024**) Une bactérie est en moyenne 10 à 100 fois plus petite qu'une cellule humaine. Le monde bactérien, c'est une diversité infinie de formes et de couleurs. (**K.Perron et al., 2010**). Les bactéries ont différentes formes (sphériques, en bâtonnets, en virgules, en tire-bouchons ou en spirales) et se reproduisent par fission binaire. (**L.Cruz-Ruiz, B.Tawil ,2023**).

III.2.1.2. Structure:

a) Éléments constants

- Chromosome d'ADN circulaire sans noyau
- Cytoplasme (cytosol)
- Membrane cytoplasmique
- Ribosomes
- Paroi

b) Eléments inconstants

- Plasmide
- Spore
- Capsule, glycocalice
- Flagelle et pili (Fregoni, 2013).

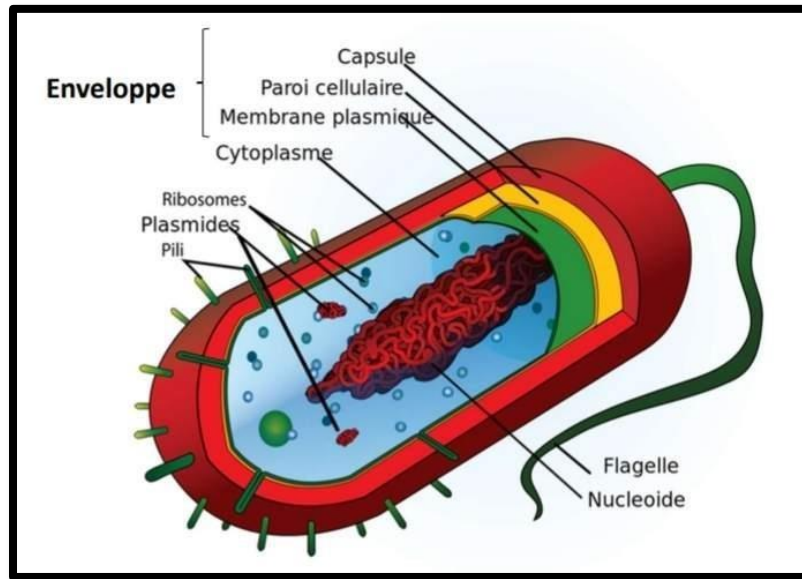


Figure 05: Main paths of viticulture, from Caucasus to Europe (Fregoni, 2013).

III.2.1.3. Classification :

a. Les bactéries de Gram + :

La paroi des bactéries à GRAM positif a une épaisseur de 20 à 80nm.

(H.LEGHLIMI ,2019)

- Le peptidoglycane est le constituant majeur (90%)
- Le reste correspond à un feutrage d'acides téchoïques (10%)
- Le peptidoglycane est très solide, les liaisons croisées entre chaînes glucidiques sont nombreuses.
- Présence de flagelles. (S. Lambin, & A.Germain,1969 ; R.Fasquelle,1971)

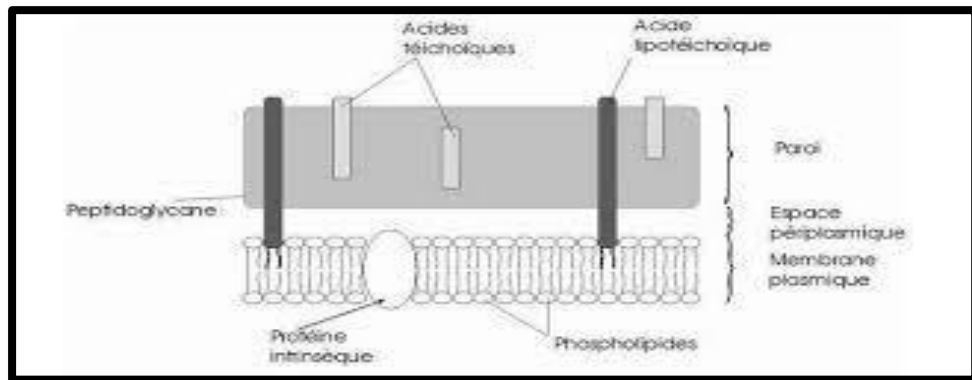


Figure 06: La paroi des bactéries à GRAM positif (M.Javillier., *et al.* 1972)

b. Les bacteries de Gram - :

La paroi des bactéries à GRAM négatif est plus fine et plus complexe.
(H.LEGHLIMI ,2019) Elle est constituée du peptidoglycane et de la membrane externe.
Il y a plusieurs couches :

- Peptidoglycane en couche mince.
- Phospholipides.
- Lipopolysaccharides (LPS) .

(R.Fasquelle,1971;M. Javillier., *et al.* 1972)

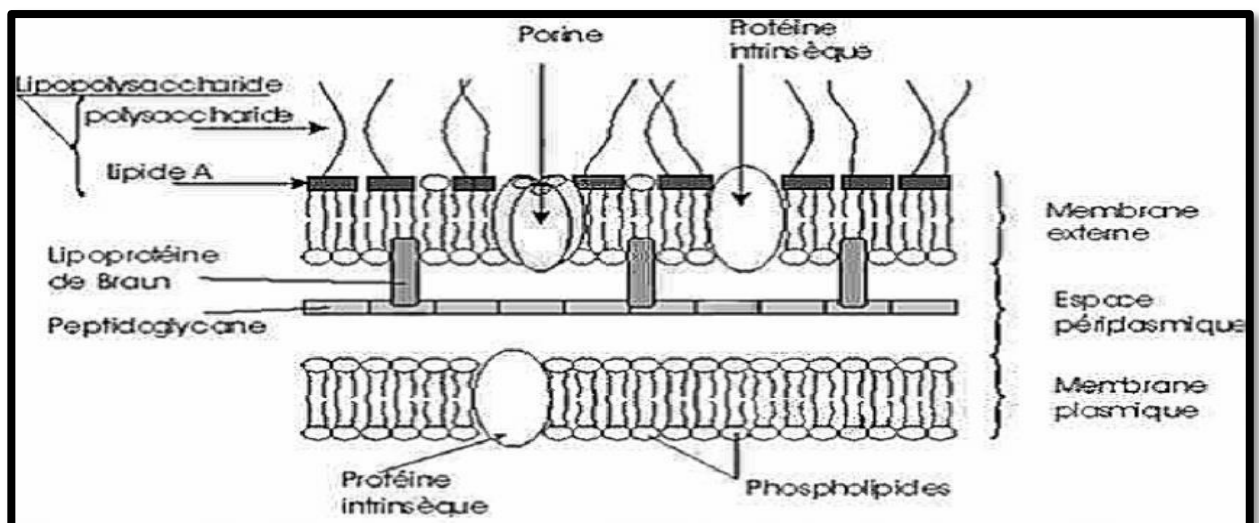


Figure 07: La paroi des bactéries à GRAM négatif. (M.Javillier., *et al.* 1972)

III.2.1.4. Les bactérie utiliser :**III.2.1.4.1. *Pseudomonas aeruginosa*:**

(*P. aeruginosa*) est une bactérie à Gram négatif environnementale responsable d'un grand nombre d'infections nosocomiales. (B.Guery *et al.*,2009) Elle appartient à la famille des Pseudomonadaceae.

(*P. aeruginosa*) est en forme de bâtonnet et se présente seule, par paires ou en courtes chaînes. (Lodise, T. P., Jr., & Bidell, M. R. ,2019).

(*P. aeruginosa*) peut également se développer en anaérobiose si des nitrates sont disponibles. (Lodise, T. P., Jr., & Bidell, M. R. ,2019).

III.2.1.4.2 *Escherichia coli*:

(*E. coli*) est un bacille Gram négatif connu pour faire partie de la flore intestinale normale. (M.Mueller,& C.R. Tainter,2023) Certaines souches d'*E. coli* sont inoffensives, mais d'autres peuvent rendre les gens malades. Elles peuvent causer de la diarrhée, des infections urinaires et même l'insuffisance rénale terminale. (Fondation du rein,2020).

III.2.1.4.3 *Staphylococcus aureus* :

Les staphylocoques sont des bactéries à Gram positif, de forme coccique, dont le diamètre varie entre 0,5 et 1,5 µm. Ces cocci se divisent selon plusieurs plans, formant ainsi des amas évoquant des grappes de raisin. Actuellement, le genre *Staphylococcus* comprend 32 espèces et 8 sous-espèces, dont plusieurs colonisent préférentiellement le corps humain.. (L.G. Harris *et al.*, 2002).

2.1.4.4 *Bacillus subtilis* :

Est une bactérie aérobie Gram-positive présente dans le sol, largement utilisée pour la production de protéines hétérologues. (Earl *et al.*, 2008).

Elle produit une grande variété d'enzymes capables de dégrader différents substrats, ce qui lui confère une capacité d'adaptation à un environnement en perpétuelle évolution. Cette espèce, ainsi que certaines de ses espèces apparentées, se distinguent par une forte aptitude à sécréter des protéines, ce qui en fait des organismes hôtes privilégiés pour la production de protéines thérapeutiques et d'enzymes à usage industriel. C'est pourquoi elle est couramment exploitée pour la synthèse de protéines hétérologues (Su *et al.*, 2020).

III.2.2. Les Champignons :

III.2.2.1. Définition :

Les champignons, également appelés mycètes, sont des organismes eucaryotes pouvant être unicellulaires ou pluricellulaires. Ils regroupent à la fois des espèces visibles à l'œil nu (macromycètes) et d'autres de taille microscopique (micromycètes), présentant une morphologie filamenteuse ou en forme de levure (S. Ksouri, 2016).

III.2.2.2. Structure :

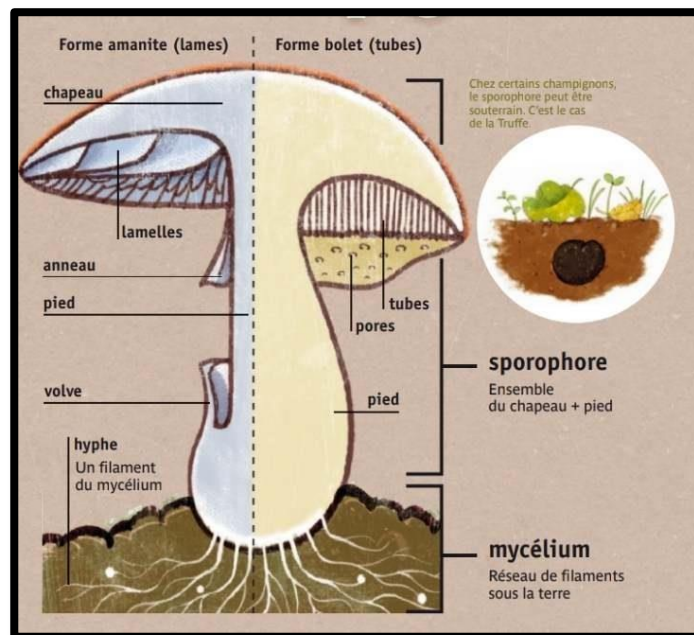


Figure 08: Structure / morphologi. Les Champignons.

III. 2.2.3. Classification:

Tableau02: Classification simplifiée du règne des Fungi présentant les principales classes de champignons avec quelques espèces caractéristiques. (Ripert, 2013).

Fungi imperfecti	Deuteromycotina	Blastomycètes(thalle lévuriforme, blastospores) Hyphomycètes(hyphes septés, spores produites directement sur les hyphes) Coelomycètes(hyphes septés, spores produites dans des cavités de type pycnide ou acervule)
------------------	-----------------	---

	Zygomycotina (Zygomycètes : hyphes coenocytiques zygospores)	Mucorales : Mucor, Rhizopus, Absidia Entomophthorales : Entomophthora coronata, Basidiobolus haptosporus
Fungi perfecti	Ascomycotina (Ascomycètes : hyphes septés, ascospores)	Taphrinomycètes : Taphrina neoformans (Cloque du pêcheur) Saccharomycetes: Saccharomyces, Candida, Torula Euscomycetes: Tubérales : Tuber melanosporum (Truffe) Léotiales : Sclerotinia fuckeliana (Botrytis de la vigne)
	Basidiomycotina (Basidiomycètes: hyphes septés, basidiospores)	Uredinales : Puccinia graminis Ustilaginales : Ustilago tritici Trémellales : Cryptococcus syn. Polyporales Fistulina hepatica (Langue de bête) Clavariales : Clavaria pistillaris
	Chytridiomycotina (Chytridiomycètes) réduit, limite le nombre de thalles dans les zoosporocystes contenant des spores non flagellées	Chytridiales : Rhinosporidium seeberi

III.2.2.4 Le champignon utiliser :**III.2.2.4.1 *Candida albicans* :**

Est un champignon commensal commun qui colonise la cavité oropharyngée, le tractus gastro-intestinal et vaginal, ainsi que la peau des individus en bonne santé. Chez 50 % de la population, *C. albicans* fait partie de la flore normale du microbiote. (J.Talapko *et al.*,2021).

III.3. Action des agents antimicrobiens:

Le rôle des agents antimicrobiens est d'éliminer les micro-organismes, d'inhiber leur croissance ou de les détruire. (L.OULMI , 2016)

Les substances destructrices (traitement de destruction) sont désignées par le suffixe- cide (A.DAFFRI, 2022). L'action antagoniste des germicides en fonction de la catégorie de micro-organismes ciblés est désignée par les termes suivants :

- Bactéricide : agent qui tue les bactéries.
- Sporicide ou sporulicide : agent qui tue les spores bactériennes (endospores),
- Fongicide : agent qui tue les champignons (y compris leurs spores, mais ces spores ne présentent pas les mêmes propriétés de résistance que celles des endospores bactériennes).

- Algicide : agent qui tue les algues.
- Viricide ou virulicide : agent qui inactive les virus.

(A.DAFFRI, 2022).

D'autres substances ne se développent pas mais elles empêchent le développement des micro-organismes (traitement de stabilisation). Leurs noms se terminent par le suffixe statique (du grec statikos, provoquant une station debout, s'arrêtant), par exemple : biostatique (bactériostatiques, fongistatiques ou virustatiques).

- bactériostatique : inhibe momentanément le développement bactérien.
- Fongistatique : inhibe momentanément le développement mycélien.

(L.OULMI , 2016).

2^{ème} Partie :
Partie
expérimentale



Chapitre I

Matériel et Méthodes



Matériels et Méthodes :

Ce travail de recherche a été réalisé dans les laboratoires de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Chahid Hamma Lakhdar El-Oued et la Laboratoire D'analyse Médicale ELMEDJED , El-Oued .

I.1. Présentation de la région d'étude:

I.1.1. Situation géographique de la wilaya d'El-Oued:

La wilaya d'El Oued Souf est située au Sud-est Constantinois.

- Elle est limitée au Nord par les wilayates de Biskra, de Khenchela et de Tébessa, à l'Est par la frontière tunisienne,
- à l'Ouest par la wilaya de Djelfa ,
- au Sud par la wilaya de Ouargla.
- Elle occupe une superficie de 54573 Km²
- pour une population totale de 504401 habitants,
- une densité de 9,7 hab/km² , (M.K.Kholladi ,2005)

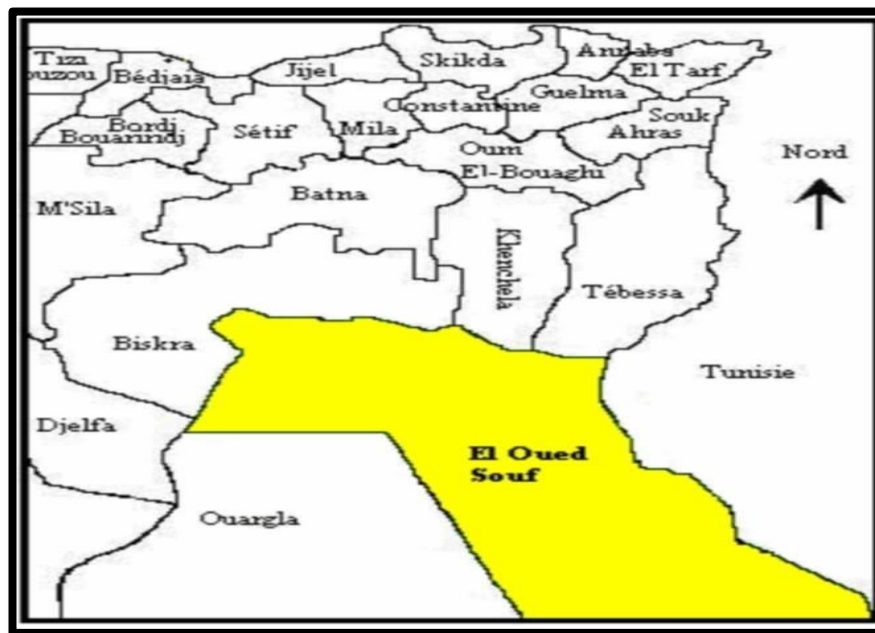


Figure 09: Situation géographique de la wilaya d'El-Oued.

- **Climat de El-Oued :**

Le climat de la wilaya est de type saharien et désertique, aux étés chauds et aux hivers doux. Les températures sont très élevées en été (54°C dans le Souf) et peuvent descendre jusqu'à 1°C en hiver (El Meghaïr) [SEL-46]. En ce qui concerne les précipitations, elles sont très faibles peu différents de 80 mm/an (M.K.Kholladi ,2005) .

I.1.2. Situation géographique de la Wilaya de Biskra :

La wilaya de Biskra se situe au Nord-Est du Sahara septentrional,

- Elle s'étend sur une superficie de 21509,80 km²
- Une densité de l'ordre de 41 Hab/km².
- Elle est limitée au Nord par la wilaya de Batna,
- Au Nord Est par la wilaya de Khenchela,
- Au Nord-Ouest par la wilaya de M'sila,
- À l'Est par la wilaya de Tébessa,
- À l'Ouest par la wilaya de Djelfa,
- Au Sud par la wilaya d'El Oued et Ouargla. (F.BOUTOUGA, 2021)

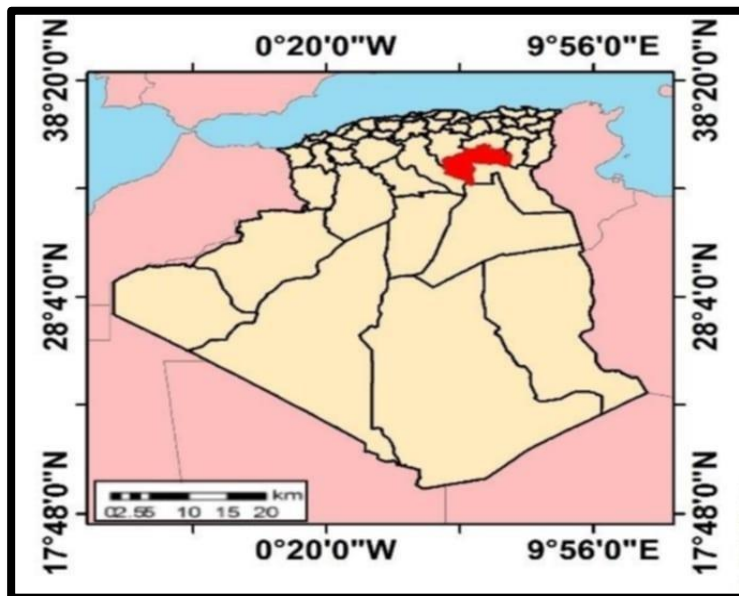


Figure 10: Situation géographique de la Wilaya de Biskra.

• Climat de Biskra :

Biskra se caractérise par un climat très chaud et Sec l'été, d'une température moyenne de 43.5 °C et une humidité relative moyenne de 12%. Et un hiver très froid dont une température minimale moyenne de 4° et une humidité relative moyenne de 89%. Les précipitations dans cette région sont rares et ne dépassent pas les 31 jours par an et le cumul annuel atteint les 200 mm. (Hanafi et al, 2021)

I.2. Matériels :**I.2.1. Matériel biologique :****I.2.1.1 Les plantes:**

Les feuilles de vigne (*Vitis vinifera*) ont été prélevées sur deux plantes différents, l'un à Biskra (échantillon A) et l'autre à El-Oued (échantillon B). Nous avons choisi des feuilles saines et vertes qui n'étaient pas infectées par des maladies ou des insectes. Les feuilles ont été séchées et réduites en poudre fine pour une utilisation ultérieure dans l'expérience.

I.2.1.2. Les souches :

Nous avons utilisé une souche de référence de *Candida albicans* ATCC 10231, ainsi que des souches bactériennes comprenant deux souches à Gram négatif : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Escherichia coli* ATCC 25922, et deux souches à Gram positif : *Staphylococcus aureus* ATCC 25932 et *Bacillus subtilis* ATCC 25973.

I.2.2. Matériel technique du laboratoire:**I.2.2.1. Les produits et réactifs:**

- ✓ Méthanol.
- ✓ Acétone
- ✓ Folin_cicalteu
- ✓ FeCl₃ (02%)
- ✓ FeCl₃ (01%)
- ✓ Solition méthanolque de chlorure d'aluminium [AlCl₃] (02%)
- ✓ Vanilline (04%)
- ✓ Acide chlorhydrique concentré [HCl]
- ✓ Acide gallique
- ✓ Quercitaine
- ✓ Catéchine
- ✓ Bicarbonate de sodium [Na₂CO₃] (07.5%)
- ✓ Échelle de McFarland N° 0,5 ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL)
- ✓ VITEK® DENSICHEK® McFarland
- ✓ Solution saline physiologique stérile (NaCl 0,9 %)
- ✓ magnésium
- ✓ L'eau distillée

I.2.2.2. Verreries et petits matériels:

- ✓ Eprouvette.
- ✓ Bécher.

- ✓ Erlenmeyer .
- ✓ Entonnoir.
- ✓ Pipette (ou compte-gouttes) .
- ✓ Spatule .
- ✓ Agitateur magnétique.
- ✓ Tubes.
- ✓ Microcuillère à poudre.
- ✓ Plat à cristalliser.
- ✓ Bec Bunsen
- ✓ Anse stérile
- ✓ Écouvillon stérile
- ✓ Tubes d'hémolyse
- ✓ Cônes

I.2.2.3. Appareillage:

- ✓ Balance électronique.
- ✓ Plaque chauffante.
- ✓ Centrifugeuses.
- ✓ Etuve.
- ✓ Micropipette.
- ✓ Système de filtration.
- ✓ Spectrophotomètre.
- ✓ Milieu de culture Mueller-Hinton
- ✓ Boîtes de Petri
- ✓ Étuvé réglée à 37°C
- ✓ Réfrigérateur
- ✓ Autoclave
- ✓ Bain-marie

I.3. Méthode :**I.3.1. Séchage :**

Nous avons collecté deux types de feuilles de *Vitis vinifera* (échantillon A et échantillon B), qui ont été séchées naturellement en les plaçant dans un endroit couvert, à l'abri des rayons directs du soleil, jusqu'à séchage complète.

I.3.2. L'extraction :

L'extraction solide-liquide représente l'une des méthodes les plus couramment utilisées

pour la récupération des molécules bioactives à partir de sources végétales. Elle est largement employée dans les industries agroalimentaire et pharmaceutique pour l'extraction de composés d'intérêt à partir des plantes, en vue de la fabrication de boissons et de médicaments. (N. Sadou, 2019)

Cette étape consiste à extraire le maximum de molécules polyphénoliques contenues dans les parties aériennes surtout les feuillettes de la plante en utilisant des solvants organiques qui accélèrent et augmentent le rendement d'extraction (Madi, 2009).

Pour extraire les composés phénoliques des feuilles de 'vitis vinifera', nous avons utilisé la méthode (C. HAMIA *et al.*, 2014) avec quelques modifications :

10g de feuilles broyées sont trempées dans 100ml de deux systèmes de solvants :

- 70/30 : méthanol/eau distillée du chaque échantillon (A et B).
- 70/30 : acétone / eau distillée du chaque échantillon (A et B).
- Pendant 48 h température ambiante.
- Filtration des extraits.
- Les solvants organiques (Méthanol et Acétone) sont évaporés sous pression réduite à 40 C°. (C.HAMIA *et al.* ,2014).



Photo 01: Schéma représentative des étapes d'extraction (photo originale).

I.3.3. Rendement:

Calcul du rendement de l'extrait Le rendement de l'extraction est calculé par la formule suivante:

$$R\% = (m/M) \times 100.$$

m: Masse de l'extrait obtenu après l'extraction.

M: La masse végétale sèche.

(N.Behidj-Benyounes *et al.*, 2013)

I.3.4. Screening phytochimique :

Ce sont des techniques qui permettent de déterminer les différents groupes chimiques contenus dans un organe végétal.

Ce sont des réactions physicochimiques qui permettent d'identifier la présence des substances chimiques. (Hamidi, 2013).

Le principe repose soit sur la précipitation par la formation de composés insolubles, soit sur la coloration de certains composés (liaison ou incorporation dans une molécule) (Mohammedi, 2013)

Il existe de nombreux groupes photochimiques, parmi lesquels les plus importants sont : les alcaloïdes, les polyphénols (tels que les flavonoïdes, les anthocyanes et les tannins), les saponosides, les stéroïdes, les coumarines ainsi que les terpènes. (Hamidi, 2013)

I.3.4.1. Teste de flavonoïdes:

- ✓ 1 ml d'extrait.
- ✓ quelques gouttes d'HCl concentré.
- ✓ 0.1 g de tournures de magnésium.

La présence des flavonoïdes est mise en évidence si une couleur rose ou rouge se développe en après 3 minutes (Bouhadjera, 2005).

I.3.4.2. Teste des polyphénols:

La réaction au chlorure ferrique (FeCl_3) permis de caractériser les polyphénols.

- ✓ 1 ml de chaque extrait.
- ✓ 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).

I.3.4.3. Test des Tanins :

- ✓ À 1 mL d'extraits.
- ✓ 0,25 mL de FeCl₃ (1%).

La présence des tanins est indiquée par une coloration verdâtre (tanins catéchétique) ou bleu-noirâtre (tanins gallique) (**Karumi et al., 2004**).

I.3.5. Dosage des composées phénoliques par la méthode colorimétrique «Analyse quantitative »:**I.3.5.1 Dosage des flavonoïdes totaux (FVT) :**

La teneur d'extrait en flavonoïdes a été déterminée par la méthode de chlorure d'aluminium (**Bahorun et al., 1996**)

Le groupement hydroxyle libre (OH) qui est possédé par les flavonoïdes, donner un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium.

Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et aluminium). (**Zhishen et al, 1999**).

- Ajouter 1 ml de chaque extrait dans un tube à essai
- Ajouter 1 ml d'une solution de chlorure d'aluminium (02%).
- Laissez reposer une demi-heure. (30 min)
- L'absorbance est lue à 430 nm (**Nabti &Belhattab, 2016**).

I.3.5.2 Dosage des polyphénols totaux (PPT):

Les polyphénols ont été déterminés selon la méthode de Folin-Ciocalteu (**Singleton et al., 1999**)

Le réactif est composé d'un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀). Lors de l'oxydation des composés phénoliques, ce mélange est réduit, formant ainsi des oxydes bleus de tungstène et de molybdène (**Ribéreau-Gayon, 1968**). Cette teinte bleue, dont l'intensité varie en fonction de la concentration des composés phénoliques dans l'échantillon, présente une absorption maximale située entre 750 et 765 nm (**Bonnaillie et al., 2012**).

La mesure de la quantité totale de composés phénoliques s'effectue comme suit :

- Ajouter 200 µl de chaque extrait.
- Ajouter 1000 µl de réactif Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois dans l'eau distillée)
- Ajouter 800 µl d'une solution Na₂CO₃ (07.5%)

- Incuber les mélanges obtenus à la température ambiante pendant environ 30 minutes à l'abri de la lumière.
- La lecture de la densité optique à 760 nm. **(Belyagoubi, 2012).**

I.3.5.3. Dosage des tanins condensés (TC):

Pour doser les tannins condensés, la méthode de la vanilline a été utilisée **(A.Scalbert, 1992; B.Sun et al, 1998; P.Schofield et al., 2001).**

La méthode repose sur la réaction de la vanilline avec les unités des tanins condensés en milieu acide, formant un complexe coloré dont l'absorbance est mesurée à 500 nm. Cette réaction ne concerne que l'unité initiale du polymère de tanins. L'estimation des teneurs en tanins est effectuée selon la méthode de la vanilline, telle que décrite par Julkunen-Titto (1985).

- Ajouter 50 µl de chaque extrait
- Ajouté 600µl de mélange 4% vanilline et de méthanol (4%, v / v)
- Les extraits sont mélangé à l'aide d'un vortex
- Après, ajouter 300µl d'acide chlorhydrique concentré (HCl)
- Le mélange est laissé reposer pendant 15 minutes à température ambiante.
- L'absorbance est mesuré à 500 nm **(M.Thomas et al., 2014)**

I.3.6. Evaluation des activités antimicrobiennes :

I.3.6.1. Protocole de la Méthode de Diffusion en Puits sur Gélose

Méthode de diffusion sur gélose (méthode des puits)

Il s'agit de la méthode de base utilisée pour évaluer l'effet antimicrobien d'une substance.

Les boîtes de Petri contenant de la gélose Sabouraud additionnée de 2 % de glucose (pour les levures) ou de la gélose Mueller-Hinton (pour les bactéries) sont ensemencées de manière aseptique avec une suspension de 10 cellules/ml, obtenue à partir d'une culture jeune de levures ou de bactéries respectivement. L'ensemencement est réalisé par étalement à l'aide d'un écouvillon stérile.

Après séchage des boîtes, des puits sont réalisés au centre de la gélose à l'aide de l'extrémité supérieure d'une pipette Pasteur. Les cavités ainsi formées sont remplies avec une solution aqueuse des extraits végétaux à différentes concentrations (40, 20, 10 et 5 mg/ml), à raison d'environ 50 µL par puits.

Les boîtes sont ensuite incubées à 37°C pendant 48 heures pour les levures, et 24 heures pour les bactéries. L'activité inhibitrice est mise en évidence par la formation d'un halo d'inhibition autour des puits. Les résultats sont exprimés par la mesure du diamètre des zones

d'inhibition. Un produit est considéré comme actif si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 6 mm (**Bonev et al., 2008; Kiehlbauch et al., 2000**).



Photo 02: Photos de manipulation (photo originale).



Chapitre II: Résultat et discussion



II.1. Rendement d'extraction des composés phénoliques :

Le rendement d'extraits de feuilles des quatre extraits AM, BM, AA et BA d'espèce *Vitis vinifera* est calculé selon la règle générale (N.BEHIDJ-BENYOUNES et al.,2013) .

Le rendement de quatre extraits est exprimé dans le tableau suivant:

Tableau 03 : Rendement d'extraction.

La variété	AM	BM	AA	BA
Le rendement en (%)	13.5%	15,9%	17.1%	18,9%

Comme remarque générale concernant les résultats, nous constatons que les échantillons A et B extraits avec le solvant acétonique ont donné un rendement supérieur à celui de leurs homologues extraits avec le solvant méthanolique.

Test phytochimique :

Un test chimique préliminaire pour la détection des composés phénoliques présents dans *Vitis vinifera*, a été réalisé par le biais d'un screening phytochimique, qui repose sur la coloration ou la précipitation pour détecter la présence d'une substance particulière.

Les résultats du screening phytochimique sont présentés dans le tableau suivant (tableau 04):

Tableau 04 : Résultats des tests phytochimiques de l'extrait de la plante étudiée.

Échantillons	AM	BM	AA	BA
Phénol	++	+++	++	++
Flavonoïde	+++	+++	+++	+++
Tanin	+++	+++	+++	+++

- (+++): fort présente .
- (++) : moyenne présente .
- (+): faible présente .
- (-): absence.

On observe la présence de phénols, de flavonoïdes et de tanins en proportions généralement élevées dans tous les échantillons :

- Phénols : présents en grande quantité dans l'échantillon BM et en quantité moyenne dans les échantillons AM, AA et BA.
- Flavonoïdes : présents en grande quantité dans tous les échantillons.
- Tanins : présents en grande quantité dans tous les échantillons.

II.2. Dosage des composées phénoliques par la méthode colorimétrique

«Analyse quantitative »:

II.2.1. La teneurs en flavonoïdes totaux (FVT):

La teneur flavonoïdes totaux des échantillons a été obtenue par la méthode au trichlorure d'aluminium (AlCl₃).

Cette courbe représente la courbe d'étalonnage de la quercétine .

Les quantités des flavonoïdes ont été déterminées en normalisant la courbe d'étalonnage de la quercétine de manière à ce que :

$$Y = 34.575X - 0.1119, \text{ avec : } R^2 = 0.9923$$

La quantité de les flavonoïdes sur les échantillon sont exprimées en équivalents microgrammes de la quercétine par milligramme de matière sèche (µg EQ/ mg MS).

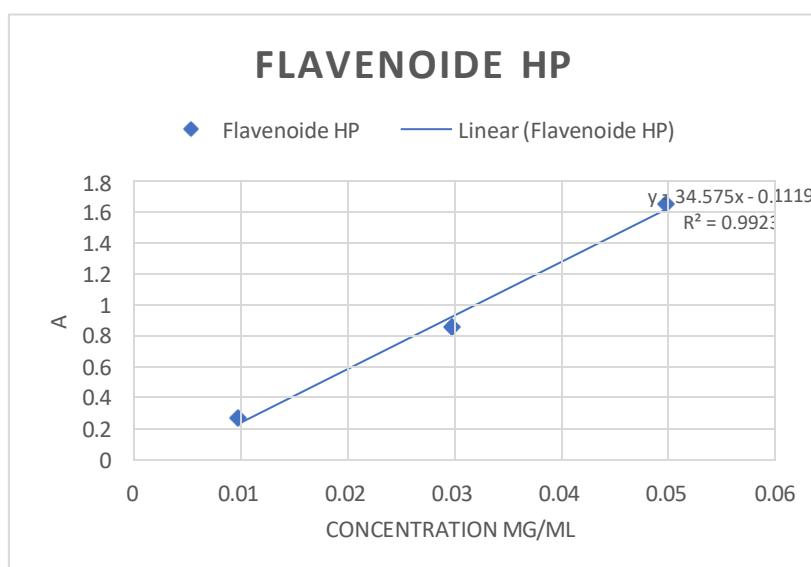


Figure 11: Courbe d'étalonnage de quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux (FVT)(mg/ml).

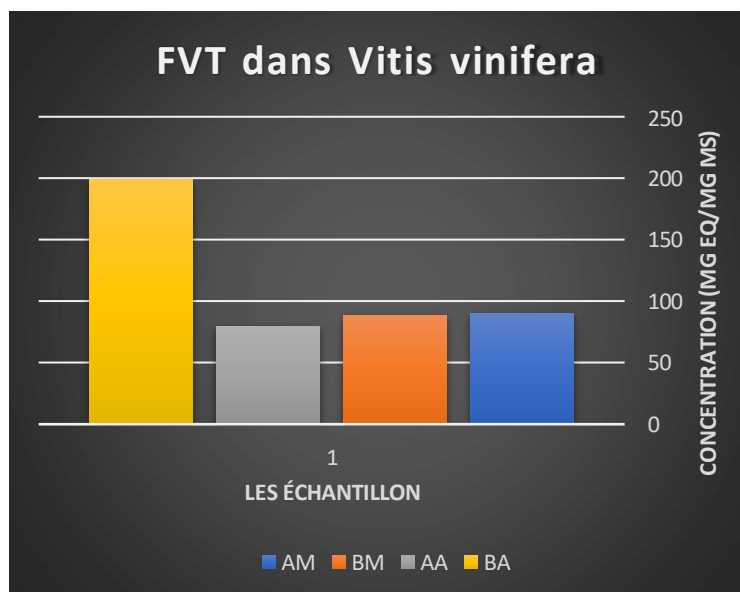


Figure 12 : Teneur en flavonoïdes totaux des variétés étudiées.

En ce qui concerne le graphique de la figure (11), , nous observons une différence significative entre l'échantillon ayant la plus grande quantité de flavonoïdes, qui est le BA avec une valeur de : $199 \pm 0,92$ ($\mu\text{g EQ/mg MS}$).

par rapport aux autres échantillons :

- AM = 90.4 ± 0.706 ($\mu\text{g EQ/mg MS}$)
- BM = 88.2 ± 0.68 ($\mu\text{g EQ/mg MS}$)
- AA = 79.3 ± 0.61 ($\mu\text{g EQ/mg MS}$)

II.2.2. teneurs des tanins condensés (TC):

Le dosage des tanins a été réalisé selon la méthode de la vanilline .

La courbe suivante représente la courbe d'étalonnage de la catéchine .

La quantité des tanins est exprimée par l'équation de la courbe de type :

$$Y = 1.1446X + 0.2979 \text{ avec : } R^2 = 0.9013$$

La quantité de les tanins sur les échantillon sont exprimées en équivalents microgrammes de la catéchine par milligramme de matière sèche ($\mu\text{g EC/ mg MS}$)

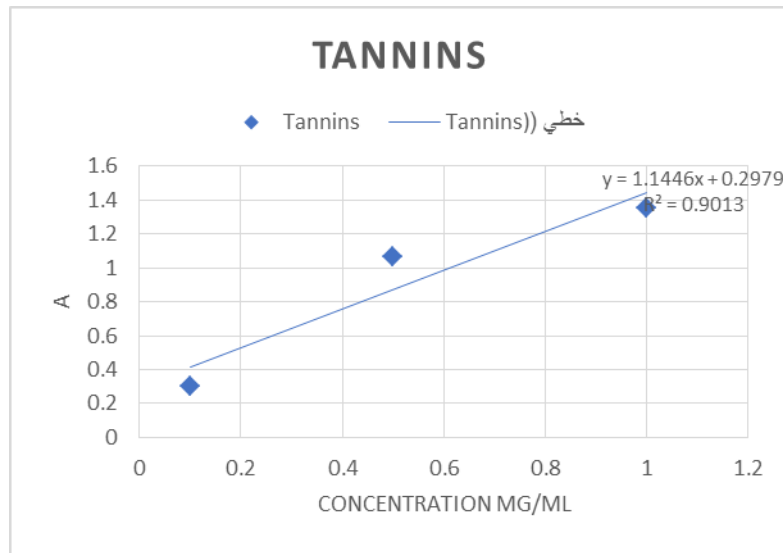


Figure13: Courbe d'étalonnage de catéchine pour le dosage des des tanins condensés (TC) (mg/ml).

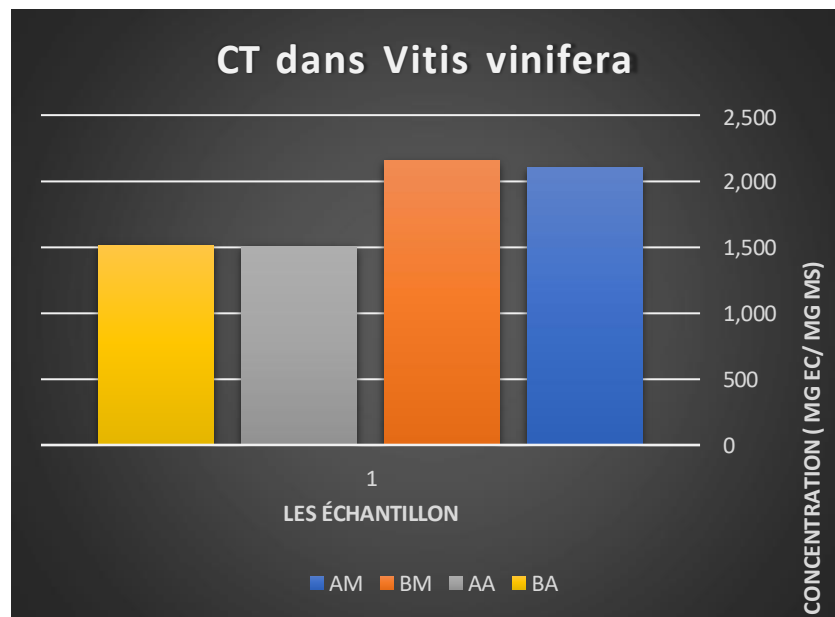


Figure 14: Teneur en tanins condensés (TC) totaux des variétés étudiées.

Dans le graphique (13), qui représente la quantité de tanin dans les échantillons, nous constatons qu'il n'y a pas de variation ou de différence significative entre les échantillons où la valeur la plus élevée est estimée être B :

- BM = 2159 ± 213 ($\mu\text{g CE/mg MS}$) = $2,159 \pm 0,213$ (mg CE/ mg MS)
- suivi de :
- AM = 2103 ± 207.6 ($\mu\text{g EC/mg MS}$) = 2.103 ± 0.2073 (mg EC/mg MS)

Ensuite :

– $BA = 151515 \pm 149.5 (\mu\text{g EC/mg MS}) = 1.515 \pm 0.1495 (\text{mg EC/mg MS})$

Et enfin la valeur la plus basse parmi les échantillons :

– $AA = 1508 \pm 148,8 (\mu\text{g CE/mg MS}) = 1,508 \pm 0,1488 (\text{mg CE/mg MS}).$

II.2.3. La teneur en polyphénols totaux PPT:

La teneur totale en polyphénols des échantillons a été obtenue par la méthode du réactif folin-ciocalteu.

La courbe montre l'absorbance en termes de concentration d'acide gallique (mg/ml).

Les quantités de polyphénols ont été déterminées en normalisant la courbe d'étalonnage de l'acide gallique de manière à ce que :

$$Y = 14.01X - 0.068, \text{ avec : } R^2 = 0.980$$

La quantité de polyphénols sur les échantillons sont exprimées en équivalents microgrammes d'acide gallique par milligramme de matière sèche ($\mu\text{g EAG/mg MS}$).

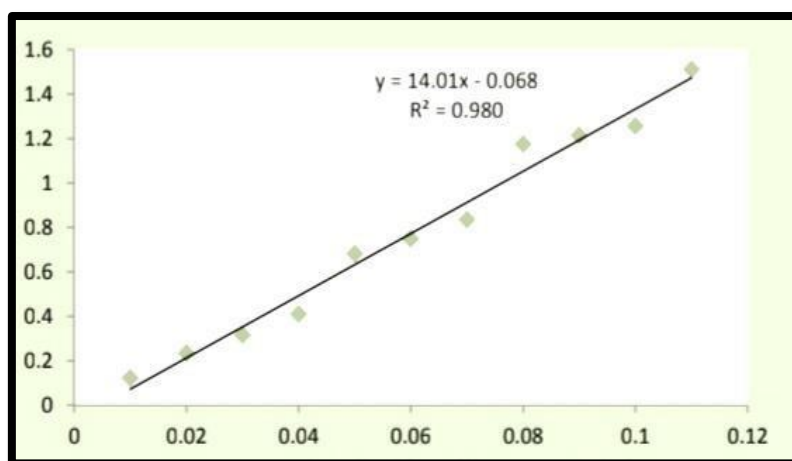


Figure15: Courbe d'étalonnage de l'acide Gallique pour le dosage des polyphénols totaux (PPT)(mg/ml).

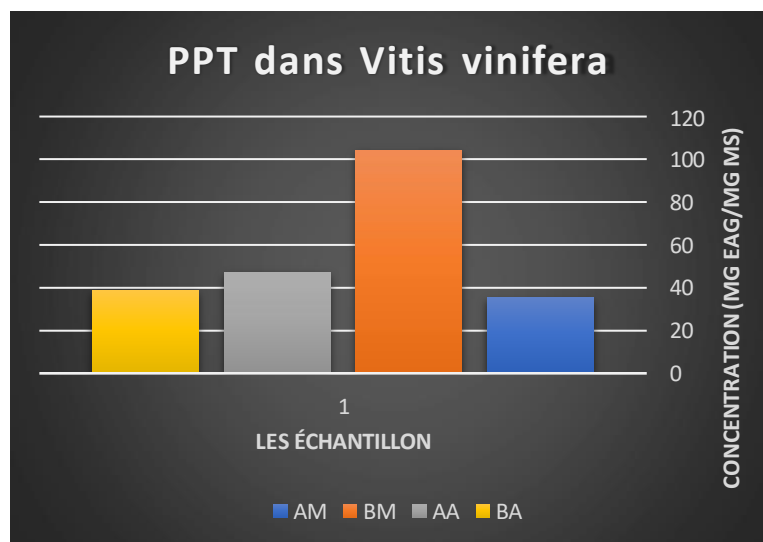


Figure 16 : Teneur en PPT totaux des variétés étudiées.

D'après le graphique de la figure (15), nous constatons un contraste évident entre l'échantillon BM et le reste des échantillons ; l'échantillon BM enregistre la plus grande quantité de polyphénols avec une valeur de $104,2 \pm 2,08$ ($\mu\text{g EAG/mg MS}$)

et nous observons une convergence dans les valeurs du reste des échantillons où nous trouvons :

- AM = 35.3 ± 0.71 ($\mu\text{g EAG/MS}$).
- AA = 47.1 ± 0.942 ($\mu\text{g EAG/mg MS}$).
- BA = 38.8 ± 0.779 ($\mu\text{g EAG/mg MS}$).

II.2.4. Discussion:

La variation des quantités de polyphénols extraites observée dans nos résultats peut être attribuée, comme l'ont indiqué **J.S. Boeing et al. (2014)**, aux différences de solubilité des composés phénoliques, lesquelles dépendent étroitement de la nature des solvants utilisés.

La nature du solvant utilisé pour l'extraction, ainsi que sa polarité, influencent fortement la quantité de polyphénols extraits. Étant donné que les polyphénols présentent une gamme de polarités allant du polaire au non polaire, leur extraction est généralement plus efficace avec un solvant polaire. Cela s'explique par la capacité accrue de ces solvants à établir des interactions, notamment des liaisons hydrogène, avec les groupes fonctionnels polaires des composés antioxydants, contrairement aux solvants non polaires (**X.Liu et al., 2007**)

Selon les résultats obtenus, il apparaît que les extraits méthanoliques renferment généralement une plus grande quantité de polyphénols que ceux extraits à l'acétone. Cette observation est en accord avec les travaux de **Falleh et al. (2008)**, qui ont montré que le

méthanol constitue un solvant approprié pour une extraction optimale des polyphénols, en raison de la forte solubilité des composés phénoliques dans les solvants polaires.

Comme l'a indiqué (A.Thouri *et al.*, 2017), les extraits d'eau et de méthanol ont montré un contenu phénolique plus élevé que l'extrait d'acétone.

La différence de quantités observée entre les échantillons A et B peut s'expliquer par la variabilité des teneurs en polyphénols chez les espèces végétales, laquelle est liée à la composition phénolique des extraits ainsi qu'à des facteurs génotypiques. En outre, les différences quantitatives et qualitatives du contenu polyphénolique constatées entre les deux plantes étudiées pourraient également être attribuées à l'influence des conditions climatiques (El-Waziry, 2007 ; Ebrahimi *et al.*, 2008).

Tout ce qui précède peut-être considéré comme une explication de la différence entre les quantités de composants phénoliques dans les échantillons AM, BM, AA et BA. Comme l'ont également mentionné Djeridane *et al.* (2005), la teneur en métabolites secondaires des plantes peut varier en raison d'un lien avec des conditions climatiques défavorables et les conditions de récolte.

II.3. Evaluation des activités antimicrobiennes:

Les résultats montrent l'effet des extraits de feuilles de *vitis vinifera*, dissous dans du méthanol (AM, BM) et dissous dans de l'acétone (AA, BA) sur les activités antimicrobiennes.

En ce qui concerne l'activité anti-Candida, aucun effet inhibiteur n'a été observé. En effet, les extraits méthanoliques et acétoniques des feuilles de *Vitis vinifera* n'ont montré aucune activité antifongique contre *Candida albicans*, aucune inhibition de la croissance fongique n'ayant été constatée aux concentrations testées.

En ce qui concerne les activités antibactériennes, on peut dire que les extraits ont un effet inhibiteur sur les bactéries utilisées, comme on le constate dans les cas suivants :

II.4.1 *Escherichia coli* ATCC 25922 :

Tableau 05: Evaluation de l'activité inhibitrice vis-à-vis *Escherichia coli*.

	40 mg/ml	20 mg/ml	10 mg/ml	5 mg/ml
AM	17	12	-	-
BM	9	-	-	-
AA	13	9	-	-
BA	11	-	-	-

(- : aucune inhibition)

Tous les extraits ont montré un effet inhibiteur sur *Escherichia coli* malgré une différence dans la valeur de la MIC, où l'on constate que :

- Pour l'échantillon A dans les deux extraits (AM, AA), nous constatons que la MIC = 20 mg/ml et, comme observé, qu'il possède la plus grande zone d'inhibition par rapport à l'échantillon B.
- Pour l'échantillon B dans les deux extraits (BM, BA), nous constatons que la MIC = 40 mg/ml et que sa zone d'inhibition est plus petite, BM possédant la plus petite zone, estimée à 9 mm.

II.4.2 *Pseudomonas aeruginosa* 27853 :

Tableau06: Evaluation de l'activité inhibitrice vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa*.

	40 mg/ml	20 mg/ml	10 mg/ml	5 mg/ml
AM	11	-	-	-
BM	11	7	-	-
AA	12	9	-	-
BA	11	-	-	-

(- : aucune inhibition)

Pour les bactéries étudiées, nous observons que les extraits testés présentent un effet inhibiteur, avec des zones d'inhibition similaires, estimées à environ 11 mm, à l'exception de l'extrait AA, qui montre une zone d'inhibition plus importante, atteignant 12 mm.

- Par ailleurs, la concentration minimale inhibitrice (CMI) a été déterminée comme suit: BM et AA présentent une CMI de 20 mg/mL, tandis que AM et BA ont une CMI de 40 mg/mL.

II.4.3. *Staphylococcus aureus* ATCC 25932 :

Tableau07: Evaluation de l'activité inhibitrice vis-à-vis *Staphylococcus aureus*.

	40 mg/ml	20 mg/ml	10 mg/ml	5 mg/ml
AM	26	21	16	-
BM	18	13	-	-
AA	-	-	-	-
BA	15	-	-	-

(- : aucune inhibition)

Nous observons que les extraits AM, BM et BA présentent un effet inhibiteur sur les bactéries, tandis que l'extrait AA ne montre aucun effet inhibiteur.

L'extrait AM se distingue par la concentration minimale inhibitrice (CMI) la plus faible, estimée à 10 mg/mL, ainsi que par la plus grande zone d'inhibition, évaluée à environ 26 mm.

L'extrait BM présente la deuxième plus faible CMI, soit 20 mg/mL, et une zone d'inhibition intermédiaire, estimée à environ 18 mm.

Enfin, l'extrait BA affiche la CMI la plus élevée, 40 mg/mL, et la plus petite zone d'inhibition, mesurée à 15 mm.

II.4.4. *Bacillus subtilis* ATCC 25973 :

Tableau 08: Evaluation de l'activité inhibitrice vis-à-vis *Bacillus subtilis*.

	40 mg/ml	20 mg/ml	10 mg/ml	5 mg/ml
AM	-	-	-	-
BM	15	-	-	-
AA	-	-	-	-
BA	8	-	-	-

(-: aucune inhibition)

Concernant la dernière souche bactérienne testée, aucune activité inhibitrice n'a été observée pour l'échantillon A, que ce soit dans le solvant méthanol ou acétone.

En revanche, un effet inhibiteur a été mis en évidence pour l'échantillon B (BM et BA), avec une CMI identique de 40 mg/m, mais une différence notable au niveau des zones d'inhibition.

L'échantillon BM (dissous dans le méthanol) présente la plus grande zone d'inhibition, estimée à 15 mm, tandis que l'échantillon BA (dissous dans l'acétone) montre une zone d'inhibition réduite, évaluée à 8 mm.

II.4.5. Discussion :

Les feuilles de la plante *Vitis vinifera* ont démontré une activité antibactérienne, comme cela a été observé dans notre propre expérience. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par **A. Waqar et al. (1990)**

Cette activité a également été confirmée par **K. Karunanithi et al. (2024)**.

Une grande partie de l'activité antimicrobienne des extraits végétaux est attribuée à leur teneur en composés phénoliques, principalement des flavonoïdes et leurs dérivés. (F.J. Alvarez-Martinez *et al.*, 2021)

Les revues menées par F. J. Álvarez-Martínez *et al.* (2020) et V. Ahluwalia *et al.* (2021) confirment que les polyphénols jouent un rôle central dans l'activité antibactérienne des extraits végétaux, en raison de leurs divers mécanismes d'action ciblant les structures et fonctions essentielles des bactéries.

Les résultats obtenus avec l'échantillon B, dans les deux solvants (méthanol et acétone), ont montré une activité antibactérienne notable.

De manière générale, ses performances se sont révélées supérieures à celles de l'échantillon A.

Cette différence dans les résultats peut être attribuée à la variation de la teneur en polyphénols entre les différents échantillons.

Des études menées par F. Mattivi *et al.* (2006) ont également démontré que la teneur en polyphénols de *Vitis vinifera* varie selon les cépages.

La différence entre les résultats obtenus pour un même échantillon selon le solvant utilisé (échantillon A dans le méthanol [AM] et l'acétone [AA], ainsi qu'échantillon B dans le méthanol [BM] et l'acétone [BA]) peut également s'expliquer par une variation de la teneur en polyphénols, liée à la nature du solvant d'extraction.

Les études de N.A. Do *et al.* (2013) et T. Samaniego *et al.* (2014) ont montré que le méthanol permet d'extraire une plus grande quantité de composés phénoliques comparé à l'acétone. Ce résultat concorde avec notre propre expérience, où une différence dans l'activité antibactérienne a été observée entre les extraits obtenus avec les deux solvants (AM et AA ; BM et BA), ce qui pourrait s'expliquer par la variation de la teneur en polyphénols liée au solvant utilisé.

L'absence d'activité anticandida observée peut s'expliquer par le fait que la concentration minimale inhibitrice (CMI) des extraits est probablement supérieure aux concentrations testées dans notre étude, c'est-à-dire supérieure à 40 mg/mL.

L'efficacité de *Vitis vinifera* contre *Candida* a été démontrée dans des études antérieures, notamment par M.A. Selka *et al.* (2016) et G. Simonetti *et al.* (2020).



Conclusion



Conclusion

Notre expérience visait à étudier l'activité antimicrobienne des extraits méthanoliques et acétoniques des feuilles de deux variétés de *Vitis vinifera* cultivées à El-Oued (A) et à Biskra (B). Nos résultats sont les suivants :

- Tous nos extraits (AM, BM, AA, BA) sont riches en composés phénoliques (phénols, tanins, flavonoïdes).
- Nous avons constaté que l'échantillon B, dans les deux solvants — le méthanol (BM) et l'acétone (BA) — contenait la plus grande quantité de polyphénols, à savoir :
- BM : quantité de phénols = $104,2 \pm 2,08$ ($\mu\text{g EAG/mg MS}$), quantité de tanins = 2159 ± 213 ($\mu\text{g CE/mg MS}$)
- BA : quantité de flavonoïdes = $199 \pm 0,92$ ($\mu\text{g EQ/mg MS}$)
- En ce qui concerne l'activité antimicrobienne, aucun effet inhibiteur n'a été observé sur *Candida albicans*.
- Un effet inhibiteur a été observé sur l'activité antibactérienne.
- Bien que l'échantillon A n'ait pas eu d'effet sur toutes les bactéries, il a enregistré les valeurs les plus élevées pour les bactéries sur lesquelles il a eu un effet:
- AM : *Escherichia coli* ATCC 25922 (17 mm), *Staphylococcus aureus* ATCC 25932 (26 mm)
- AA : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (12 mm)

Quant à l'échantillon B, dans les deux solvants, bien qu'il n'ait pas enregistré les valeurs les plus élevées, il a montré un effet inhibiteur sur toutes les bactéries.

Nous constatons également que l'extrait BM présente la zone d'inhibition la plus élevée avec une valeur de 15 mm pour la bactérie *Bacillus subtilis* ATCC 25973.

En conclusion, nous pouvons affirmer que les échantillons étudiés possèdent une activité antibactérienne avec des valeurs bonnes et quasi similaires, ce qui ouvre des perspectives pour l'utilisation des feuilles de vigne, une partie négligée dans les industries médicales et pharmaceutiques.



Reference



Référence

- Ahluwalia, V., Iqbal, N., Alam, S., Kumar, V., Thakur, L. K., & Kumar, J. (2021). Recent advancement in polyphenols as potential antibacterial agents: A comprehensive review. *Current Chinese Chemistry*, 1(2), Article e040821191852.
- Ahmad, W., Khan, M. I., Waqar, M., Khan, M. A., Khan, A., Ramazan, R., Wali, S., Ahmad, F., Khan, N., Yousaf, S., Zeb, M., Khan, A. U., Ur Rahman, M., & Faisal, S. (2014). In vitro antibacterial activity of *Vitis vinifera* leaf extracts against some pathogenic bacterial strains. *Advances in Biological Research*, 8(2), 62–67.
- Alkurd, A., Hamed, T. R., & Al-Sayyed, H. (2008). Tannin contents of selected plants used in Jordan. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, 4, 265–274.
- Álvarez-Martínez, F. J., Barrajon-Catalán, E., Encinar, J. A., Rodríguez-Díaz, J. C., & Micol, V. (2020). Antimicrobial capacity of plant polyphenols against gram-positive bacteria: A comprehensive review. *Current Medicinal Chemistry*, 27(15), 2576–2606.
- Álvarez-Martínez, F. J., Barrajon-Catalán, E., Herranz López, M., & Micol, V. (2021). Antibacterial plant compounds, extracts and essential oils: An updated review on their effects and putative mechanisms of action. *Phytomedicine*, 90, 153626.
- Ballhorn, D. J., Kautz, S., Heil, M., & Hegeman, A. D. (2009). Cyanogenesis of wild lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) is an efficient direct defence in nature. *Plant Signaling & Behavior*, 4(8), 735–745.
- Behidj-Benyounes, N., Dahmane, T., Aknouche, F., & Demmouche, K. (2013). Screening phytochimique et évaluation de l'activité antimicrobienne des alcaloïdes des feuilles de *Peganum harmala* L. récoltées dans la région de M'Sila. *Sciences & Technologie C*, (38), 27–37. Université Constantine 1.
- Blouin J, Guimberteau G (2000) Maturation et maturité des raisins: Edt Féret
- Bravo, L. (1998). Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56, 317–333.
<https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1998.tb01670.x>

- Brock, T. D. (1970). *Biology of Microorganisms*. Prentice-Hall.
- Camps, C. (2008). Étude transcriptomique de la réponse de la vigne (*Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon) au champignon ascomycète vasculaire *Eutypa lata*, responsable de l'eutypiose [Thèse de doctorat, Université de Poitiers]. Université de Poitiers.
- Cheynier, V. (2005). Polyphenols in foods are more complex than often thought. *American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1), 223S–229S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/81.1.223S>
- 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.
- Conrad, J., Vogler, B., Klaiber, I., Roos, G., Walter, U., & Kraus, W. (1998). Two triterpene esters from *Terminalia macroptera* bark. *Phytochemistry*, 48, 647–650.
- Croteau, R., Kutchan, T. M., & Lewis, N. G. (2000). *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*. In B. Buchanan, W. Gruissem, & R. Jones (Eds.), *American Society of Plant Physiologists* (pp. 1250–1316).
- Cruz-Ruiz, L., & Tawil, B. (2023). Microbiology in the modern era. *Journal of Applied Biotechnology and Bioengineering*, 10(2).
- Daffri, A. (2022). Agents antimicrobiens et résistances aux antibiotiques (Support pédagogique destiné aux étudiants de Licence L3 Microbiologie). Université Frères Mentouri-Constantine 1, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. (Années universitaires 2022–2025).
- Dar, K. K., Shao, S., Tan, T., & Lv, Y. (2020). Molecularly imprinted polymers for the selective recognition of microorganisms. *Biotechnology Advances*, 45, 107640.
- De Rijke, E., Out, P., Niessen, W. M. A., Ariese, F., Gooijer, C., & Brinkman, U. A. T. (2006). Analytical separation and detection methods for flavonoids. *Journal of Chromatography A*, 1112, 31–63.
- Demelin, E. (2012). *Le raisin et ses applications thérapeutiques* (Thèse de doctorat, Université de Limoges, Faculté de Pharmacie).
- Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna A., Stocker C., Vidal N., (2005). Antioxidant Activity Of Some Algerian Medicinal Plants Extracts Containing Phenolic Compounds. *Food Chem. Vol. (97)*: 654–660.
- Do, N. A., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Nutsupa, P., & Pham-Huy, L. A. (2013). Effect of extraction solvent on total phenol content, total

- flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(3), 296–302.
- Dykes, L., & Rooney, L. W. (2006). Sorghum and millet phenols and antioxidants. *Journal of Cereal Science*, 44, 236–241.
 - Earl, A. M., Losick, R., & Kolter, R. (2008). Ecology and genomics of *Bacillus subtilis*. *Trends in Microbiology*, 16(6), 269–275.
 - Ebrahimi, N.S., Hadian, J., Mirjalili, M.H., Sonboli, A., & Yousefzadi, M. (2008). Essential oil composition and antimicrobial activity of *Thymus caramanicus* at different phenological stages. *Food chemistry*, 110, 927–931.
 - Edreva, A., Velikova, V., Tsonev, T., Dagnon, S., Gürel, A., Aktaş, L., et al. (2008). Stress-protective role of secondary metabolites: Diversity of functions and mechanisms. *General and Applied Plant Physiology*, 34(1-2), 67–78.
 - El-Waziry, A.M. (2007). Nutritive value assessment of ensiling or mixing *Acacia* and *Atriplex* using in vitro gas production technique. *Res. J. Agric. Biol. Sci.* 3(6): 605-614.
 - Elie, F. (2022, décembre). Les phénols et les polyphénols. Article publié sur ResearchGate.
 - Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *C. R. Biol*, 331 (5) : 372-379.
 - Fasquelle, R. (1971). *Éléments de virologie médicale*. Flammarion
 - Filocamo, A., Bisignano, C., Mandalari, G., & Navarra, M. (2015). In vitro antimicrobial activity and effect on biofilm production of a white grape juice (*Vitis vinifera*) extract. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015.
 - Fondation du rein. (2020). La bactérie *E. coli*. <https://www.rein.ca>.
 - Gabor, M., Cody, V., Middleton, E. J., Harborne, J. B., Beretz, A., & Liss, A. R. (1988). *Plants flavonoids in biology and medicine II: Biochemical, cellular and medicinal properties* (pp. 1–15). New York.
 - Galet P (2000) *Dictionnaire encyclopédique des cépages*: Hachette
 - Ghedadba, N. (2021). *Métabolisme secondaire chez les végétaux* (Polycopie de cours, L3 Biotechnologie et génomique végétale). Université Batna 2, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département d'Écologie et Environnement.

- Goufo, P., Singh, R. K., & Cortez, I. (2020). A reference list of phenolic compounds (including stilbenes) in grapevine (*Vitis vinifera* L.) roots, woods, canes, stems, and leaves. *Antioxidants*, 9(5), 398.
- Guery, B., Kipnis, E., Béraud, G., & Faure, K. (2009). Pneumonie à *Pseudomonas aeruginosa* : aspects thérapeutiques. Dans MAPAR 2009 (pp. 206). CHRU Lille, Faculté de Médecine de Lille.
- Guignard, J. L. (1996). *Abrégé de biochimie végétale* (160 p.). Masson.
- Hamia, C., Guergab, A., Rennane, N. El H., Birache, M., Haddad, M., Saidi, M., & Yousfi, M. (2014). Influence des solvants sur le contenu en composés phénoliques et l'activité antioxydante des extraits du *Rhanterium adpressum*. *Sciences & Technologie C*, 6(1), 33–39. Université Amar Telidji Laghouat.
- Harborne, J. B., & Williams, C. A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55, 481–504. [https://doi.org/10.1016/s0031-9422\(00\)00235-1](https://doi.org/10.1016/s0031-9422(00)00235-1)
- Harris, L. G., Foster, S. J., & Richards, R. G. (2002). An introduction to *Staphylococcus aureus*, and techniques for identifying and quantifying *S. aureus* adhesins in relation to adhesion to biomaterials: Review. *European Cells and Materials*, 4, 39–60.
- Huglin P, Schneider C (1998) *Biologie et écologie de la Vigne*: Tec & doc, Paris
- Javillier, M., et al. (1972). *Traité de biochimie générale*, Tome III, fascicule III. Masson & Cie.
- Julkunen-Titto, R. (1985). Phenolic constituents in the leaves of northern willows: Methods for the analysis of certain phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 33(2), 213–217.
- Karkuzhali, K., Manivannan, N., & Venkatesan, S. (2024). Antimicrobial activity of crude metabolites of *Vitis vinifera* using methanol extract against the clinical pathogens. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 16(Suppl 2), S1186–S1190.
- Katalinic V., Mozina S.S., Generalic I., Skroza D., Ljubenkovic I., Klancnik A. Phenolic Profile, Antioxidant Capacity, and Antimicrobial Activity of Leaf Extracts from Six *Vitis vinifera* L. Varieties. *Int. J. Food Prop.* 2013;16:45–60.

- Kholadi, M. K. (2005, November). SIG pour le suivi de la remontée des eaux de la wilaya d'El Oued Souf [Conference paper]. Chahid Hamma Lakhdar University of El Oued.
- Ksouri, S. (2016). Mycologie : Étude des champignons d'intérêt médicale et vétérinaires et des méthodes d'identification. Université de 8 Mai 1945 Guelma, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de l'Univers et de la Terre, Département de Biologie.
- LABBANI. (2021). Métabolisme secondaire (Chapitre 3). Cours de Biochimie végétale, L3-BPV-FSNV/UFMC, Université Frères Mentouri Constantine 1.
- Lambin, S., & Germain, A. (1969). Précis de microbiologie. Masson & Cie.
- Le Monnier, A. (2024). Généralités sur les bactéries. DIU Pathologies infectieuses : Prévention, vaccination, traitement. Université Paris-Saclay, Groupe Hospitalier Paris Saint-Joseph.
- Liu X, Dong M, Chen X, Jiang M, Lv X, Yan G. Antioxidant activity and phenolics of an endophytic *Xylaria* sp. From *Ginkgo biloba*. *Food Chem.* 2007;105(2):548–554.
- Lodise, T. P., Jr., & Bidell, M. R. (2019). *Pseudomonas aeruginosa*. In IDSAP 2019 Book 2: MDR Gram-Negative Infections. American College of Clinical Pharmacy.
- Lonela, S. (2015). Les plantes médicinales. Yiesvlip Rv04 Bd Sans Traits Coupe, 52 p.
- Lutge U ; Klnge M, Bauer G. 2002. Botanique 3eme Ed : Technique et documentation. Lavoisier, Paris. p.211.
- Madi, A. (2009). Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (thym et sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques. Mémoire magister, Université Mentouri Constantine, Algérie.
- Maïs, C. C. U. C. A. (2017). L'étude phytothérapie des plantes médicinales dans la région de Relizane.
- Mansour, A. (2009). Investigation phytochimique de l'extrait n-butanol de l'espèce *Centaurea africana* [Mémoire de Magister, Université de Constantine], 8 p.
- Mattivi, F., Guzzon, R., Vrhovsek, U., Stefanini, M., & Velasco, R. (2006). Metabolite profiling of grape: flavonols and anthocyanins across 91 cultivars of *Vitis vinifera*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(20), 7692–7702.
- Mohammedi, Z. (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 De Tlemcen, Algérie.

- Muanda, F. N. (2010). Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques (Thèse de doctorat, Université Paul Verlaine-Metz, Spécialité : Chimie organique). Ecole doctorale SESAMES, UFR Sciences fondamentales et appliquées.
- Mueller, M., & Tainter, C. R. (2023, 13 juillet). Escherichia coli Infection. In StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL) : StatPearls Publishing.
- Newman D.J., Cragg G.M. 2012. Natural Products as Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. J. Nat. Prod. Vol. (75) : 311-335.
- Oulmi, L. (2017). Agents antimicrobiens et résistance aux antibiotiques (Support pédagogique destiné aux étudiants de Licence Microbiologie). Université des Frères Mentouri Constantine, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département de Microbiologie.
- Parihar, S., & Sharma, D. (2021). A brief overview on Vitis vinifera. Scholars Academic Journal of Pharmacy, 10(12), 297–302.
- Perron, K., Schrenzel, J., & Linder, P. (Orgs.). (2010, September 6–7). Des bactéries et des hommes: De la santé au développement durable [3es Journées de microbiologie]. Université de Genève, Faculté de Médecine & Faculté des Sciences. <https://www.unige.ch/public>.
- Rahmani, S. (2019). Polycopié de cours de Microbiologie Générale. Université Hassiba Ben Bouali Chlef, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département de Biotechnologie et des Sciences Agronomiques.
- Ripert, C. (2013). Mycologie médicale. Lavoisier.
- Sadou, N. (2019–2020). Techniques d'extraction des substances naturelles [Cours, Master 1 BV]. Université d'Annaba. https://elearning-deprecated.univannaba.dz/pluginfile.php/47848/mod_resource/content/1/extraction%20%20des%20SN.pdf
- Samaniego, T., et al. (2014). Comparison of different solvent systems for efficient extraction of polyphenols from cocoa beans. Journal of Food Science and Technology.
- Schafer, H., & Wink, M. (2009). Medicinally important secondary metabolites in recombinant microorganisms or plants: Progress in alkaloid biosynthesis. Biotechnology Journal, 4(12), 1684–1703.
- Selka, M. A., & al. (2016). Antifungal activity of methanolic extracts from Vitis vinifera leaves against Candida albicans.

- Sharafan, M., Malinowska, M. A., Ekiert, H., Kwaśniak, B., Sikora, E., & Szopa, A. (2023). *Vitis vinifera* (vine grape) as a valuable cosmetic raw material. *Pharmaceutics*, 15(5), 1372.
- Silva, T. (2020). Étude exploratoire de la dendrochronologie en vigne : Contribution pour l'étude de la croissance de ceps sains [Master's thesis, Amélioration des plantes]. HAL archives ouvertes.
- Simonetti, G., et al. (2020). In vitro antifungal activity of grape seed extracts against *Candida* spp.
- Stöckigt, J., Sheludko, Y., Unger, M., Gerasimenko, I., Warzecha, H., & Stöckigt, D. (2002). High-performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoretic-electrospray ionization mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups. *Journal of Chromatography A*, 967, 85–113.
- Su, Y., Liu, C., Fang, H., & Zhang, D. (2020). *Bacillus subtilis*: A universal cell factory for industry, agriculture, biomaterials and medicine. *Microbial Cell Factories*, 19, Article 173.
- Talapko, J., Juzbašić, M., Matijević, T., Pustijanac, E., Bekić, S., Kotris, I., & Škrlec, I. (2021). *Candida albicans*—The virulence factors and clinical manifestations of infection. *Journal of Fungi*, 7(2), 79. <https://doi.org/10.3390/jof7020079>
- Thomas, M., Emilie, D., Gaëtan, L. F., Marie, E. L., Claire, E. (2012). Antimicrobial, antioxidant and phytochemical investigations of sea buckthorn (*Hippophaë hamnoides* L.) leaf, stem, root and seed. *Food Chemistry* 131:754-760.
- Thouri, A., Chahdoura, H., El Arem, A., Omri, H., Hassin, B., & Achour, L. (2017). Effect of solvents extraction on phytochemical components and biological activities of Tunisian date seeds (var. Korkobbi and Arechti). *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17, 248.
- Wang, K., 2014. *Agrobacterium* protocols: Third edition. *Agrobacterium Protoc.* Third Ed. 2, 1–329.
- Weber, M., Weber, M., & Kleine-Boymann, M. (2004). Phenol. In *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. Wiley-VCH. https://doi.org/10.1002/14356007.a19_299.pub2
- Wink, M. (2008). Plant secondary metabolism: Diversity, function and its evolution. *Natural Product Communications*, 3(8).

- Wollgast, J., & Anklam, E. (2000). Review on polyphenols in Theobroma cacao: Changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. Food Research International, 33, 423–447.
- <https://www.institut-klorane.org>



Annexes



