REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou

Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques

Département de Biochimie-Microbiologie

MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de Master 2 en Sciences Biologiques

Option : Biotechnologie Microbienne

Thème

EXTRACTION ET CARACTERISATION DES POLYSACCHARIDES HYDROSOLUBLES DES FEUILLES DE VIGNE *MUSCAT D'ALEXANDRIE*

Réalisé par :

M^elle^ LARBI Djamila — **M^elle^ AMROUS Sarah**

Proposé et dirigé par :

M^me^ BENAHMED DJILALI Adiba — **Maître de Conférences classe (A) à l'UMMTO**

Devant le jury composé de :

M^r^ SADOUDI R. — **Président à l'UMMTO**

Mme BEN AZOUZ K. — **Maître Assistante (A) à l'UMMTO**

2017/2018

Remerciements

Mes remerciements les plus sincères et les plus chaleureux s'adressent :

A « ALLAH » le tout puissant qui permis d'être ce que nous sommes aujourd'hui. Car l'homme propose mais « ALLAH » dispose. Seigneur, veuillez toujours Diriger nos pas.

Nous tenons à adresser nous très sincères remerciements à Notre promotrice Madame « BENAHMED DJILALI ADIBA » qui nous a guidé dans notre travail, Merci pour nous avoir accordé votre temps, Merci d'avoir été très patiente avec nous, Merci pour d'avoir mis votre expérience à notre profit.

Nous tenons à présenter notre sincère et vif remerciement aux membres de Jury, qui ont accepté de juger Notre travail Mme BENAZOUZ et Mr SADOUDI

On tient également à remercier tous le personnel des laboratoires communs (I et II) et microbiologie du l'UMMTO ainsi que le personnel des laboratoires communs et de recherche de l'Université M'HAMED BOUGARA de Boumerdès pour leur aide dans la réalisation de ce travail sur tout Messieurs « NABIEV MOUHAMED » et BELMOUNAH , ainsi à ceux et celles qui, de loin ou de près ont contribué à l'élaboration de ce travail.

Merci à tous.

Dédicace

Que ce travail témoigne de mes respects

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon

Soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui

S'est toujours sacrifié pour me voir réussir, mon père

LARBI ALI

Et A la lumière de mes jours, Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et mes profonds sentiments envers, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ;

maman que j'adore

SEDDI FATEMA

En témoignage de ma profonde affection. Qu'ils sachent que ce travail est en partie le fruit de leur soutien ; je leur suis très reconnaissant. Leur fierté à mon égard aujourd'hui est pour moi la meilleure des récompenses

Mes remerciements sont particulièrement adressés au meilleur homme de ma vie

RAMDANI AMAR

, mon fiancé, qui est la personne la plus important à mon cœur, de m'avoir soutenu dans mes moments les plus difficiles et patiemment réconforté et encouragé durant ces quatre années, qui ne pourront que rester inoubliables pour nous. Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et mes profonds sentiments envers vous. Je vous remercie de m'avoir donné tant d'amour et de tendresse « je suis très fière d'être avec vous »

A tous mes frères : Mona- Nasser-Younes-Salma-Assai. Atouts ma 2éme famille : Mama Malika - papa Mohand –Samir-Mohand-Mourad-Karima-Samia-Sarah-Rayane-Yanis.

Et a tous la famille : LARBI et RAMDANI sans exceptions

Et tous mes AMIES

« Ce Mémoire à vous tous »

Djamila

Dédicace

Je commence ma dédicace au nom du ***dieu*** *et le salut sur* ***Mohamed*** *le messager de dieu.*

Que ce travail témoigne de mes respects à l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, mon père ***Mohamed.***

Et à la lumiére de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon coeur, ma vie et mon bonheur ; maman que j'adore ***Sadia,*** *je remercie de m'avoir donné tant d'amour et de tendresse « je suis très fière d'être votre fille ».*

Je dédie ce modeste travail également

A la prunelle des mes yeux, l' homme de ma vie ***Brahim*** *qui était toujours à mes côtés « tu es et tu resteras toujours le pilier de ma vie ». Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect,mon amour et mes profonds sentiments envers vous.*

A mes soeurs et mon frère bien aimés ; dont la présence à mes côtés m'a été d'un soutien solide durant mon parcours : ***Lylia et son mari Merzeuk, Zina et son mari Sid- Ali, Nassim, Liza,*** *courage p'tites sœurs, vous aussi vous allez vous en sortir.*

A mon neveux : ***Ali***

A ma belle mère ***Hassina,*** *et mon beau père* ***Bouàlem.*** *Mes beaux frères :* ***Nabil, Smail, Sid-Ali, Yakoub, Aymane,*** *et mes belles soeurs :****Hizia, Nawal, Hassiba, sara, Imane.***

Les petits : ***Sami, Adam, Djaouad, Maram, Assil, Rina.***

A mes chèrs amis ***Chahra, Ouiza, Nassima, Lydia, Fatiha, Hamza, Youva, Farah, Nadia.***

A ma chère binôme et ma soeur ***Djamila*** *pour avoir m'accompagné et me supporte.*

A mes oncles et tantes, a mes cousines et cousins

Tous ceux qui m'aiment, et tous ce que j'aime

Sarah

Glossaire

Glossaire :

- **Acide ascorbique :** est un acide organique ayant des propriétés antioxydantes.
- **Acide galacturonique :** est un composé chimique qui fait partie de l'acide uronique. On retrouve de l'**acide galacturonique** dans la pectine des fruits.
- **Acide hyaluronique :** est un constituant naturel du derme qui agit comme une éponge en captant et maintenant l'eau. Sa quantité et sa qualité diminuent avec l'âge.
- A**cides nucléiques :** sont des macromolécules, c'est-à-dire de grosses molécules relativement complexes.
- **Acide téichoïque :** est un acide qui permet au peptidoglycane de s'attacher à la membrane des bactéries.
- A**cides uroniques :** sont des composés chimiques obtenus par oxydation du dernier carbone des oses simples.
- **Aconitine** :Alcaloïde contenu dans la racine d'un aconit, utilisé comme analgésique
- **Agar-agar :** désigne un mucilage fabriqué essentiellement au Japon, à partir d'une algue rouge, et qui est utilisé en bactériologie comme milieu de culture, dans le domaine industriel comme produit d'encollage et dans le domaine pharmaceutique comme laxatif.
- A**lcaloïde :** dénomme de manière générique diverses molécules à bases azotées, le plus souvent hétérocycliques, très majoritairement d'origine végétale.
- A**lginates :** sont des polysaccharides obtenus à partir d'une famille d'algues brunes.
- **Allopathie :** désigne la médecine classiquement employée dans les pays occidentaux. De fait, le terme allopathie englobe également les traitements à base de plantes, d'huiles essentielles, etc.
- **Analgésique :** (ou antalgique) est un médicament qui prévient ou diminue la sensation de douleur.
- **Anesthésie :** est un acte médical par lequel toutes les sensations, et particulièrement celle de la douleur, sont supprimées.
- **Angiospermes** : sont des végétaux dont les organes reproducteurs sont condensés en une fleur et dont les graines fécondées sont enfermées dans un fruit.
- **Anthocyanes :** sont des pigments naturels des feuilles, des pétales et des fruits, situés dans les vacuoles des cellules, solubles dans l'eau, allant du rouge orangé au bleu.

- **Antipaludiques :** sont des médicaments actifs vis-à-vis de l'infection de l'organisme par quatre espèces d'hématozoaires du genre Plasmodium.
- **Arabinogalactanes :** sont des molécules appelées polysaccharides.
- **Athérosclérose :** est une forme d'artériosclérose, dans laquelle des plaques d'athérome se forment au niveau de la couche interne (l'intima) des artères.
- **Atropine** : Alcaloïde toxique des feuilles de belladone, utilisé en médecine.
- **β-glucanes :** sont des fibres alimentaires visqueuses, fermentescibles et solubles qu'on trouve naturellement dans l'avoine, l'orge, les champignons, les levures, les bactéries et les algues.
- **Biocarburant** :Carburant de substitution aux produits pétroliers, d'origine végétale (éthanol, ester de colza, de tournesol).
- **Carraghénane :** (ou carraghénine) est un polysaccharide (galactane) extrait d'algues rouges servant d'agent d'épaississement et de stabilisation dans l'industrie alimentaire.
- **Chitine** :Substance organique (téguments des arthropodes, membranes de certains champignons).
- **Chloroquine :** est un antipaludéen, médicament indiqué dans le traitement et la prévention du paludisme (malaria).
- **Codéine** :Alcaloïde dérivé de la morphine, extrait de l'opium.
- **Collagène :** est une protéine extracellulaire présente chez les vertébrés qui forme des fibres insolubles.
- **Coumarine :** est une substance naturelle organique aromatique. Son odeur de foin fraîchement coupé a attiré l'attention des parfumeurs sur elle dès le XIX^{e} siècle.
- **Cytokinines** :sont indispensables à la formation de la plante. Elles engendrent la formation des bourgeons, sous réserve d'un taux d'auxine pas trop élevé.
- **Cytosol** : aussi nommé hyaloplasme, correspond à la partie liquide du cytoplasme.
- **Dextrane :** est un dérivé du glucose. Il est produit naturellement par des microbes vivant dans le sol.
- **Dioïque**: Un organisme est **dioïque** lorsque les organes mâles et les organes femelles sont portés par des individus séparés, ainsi, les organismes **dioïques** sont dits unisexués.
- **Eau bidistillée :** est une eau qui, comme son nom l'indique, a été distillée deux fois successivement. En principe, elle ne contient donc aucune impureté.

- **Ellagitanins** :ou tanins ellagiques, sont des polyphénols de la famille des tanins.
- **Flavonoïdes :** sont des métabolites secondaires des plantes
- **Fucane :** est un polymère à base de fucose.
- **Galactane :** est un polyoside (polymère d'oses) composé exclusivement de monomères de galactose.
- **Gallotanins** : sont des tanins formés d'unités galloyles ou de leurs dérivés meta-depsidiques
- **Gélatine** :Substance protéinique extraite, sous forme de gelée, de certains tissus animaux.
- **Gibbérelline** : Famille d'hormones végétales qui favorise la croissance des plantes.
- **Glucide** :Composant de la matière vivante formé de carbone, d'hydrogène et d'oxygène
- **Glucoside**: Substance d'origine végétale constituée de glucose lié à une fraction non glucidique.
- **Glycine :** (Gly ou G) est un acide aminé qui entre dans la composition des protéines.
- **Glycogène** :Substance glucidique stockée dans le foie et les muscles, formant une réserve importante de glucose pour l'organisme
- **GlycosAminoGlycanes :** (GAG ou glycoaminoglycanes) sont des macromolécules glucidiques formant d'importants composants des matrices extracellulaires des tissus conjonctifs
- **Héparine :** est une molécule qui a une action anticoagulante sur une protéine du sang. Produite naturellement par l'organisme par des cellules du système immunitaire.
- **Hermaphrodite :** qualifie un être vivant portant les organes reproducteurs des deux sexes, mâle et femelle.
- **Homogalacturonanes :** sont la principale chaîne qui compose les pectines
- **Hydrocolloïdes :** sont des macromolécules hydrosolubles qui, en solution aqueuse, gênent la mobilité de l'eau et déterminent ainsi le comportement rhéologique du produit.
- **Hypnotique :** est un médicament qui déclenche le sommeil.
- **Maladie cryptogamique :** Maladie d'une plante reçue d'un champignon.
- **Maladie thromboembolique veineuse :** (MTE ou MTEV) est causée par la formation d'un caillot, ou thrombus, dans la circulation sanguine..

- **Métabolite primaire :** est un type de **métabolite** qui est directement impliqué dans la croissance, le développement et la reproduction normale d'un organisme ou d'une cellule.

- **Métabolite secondaire :** est une molécule qui, par exclusion, n'appartient pas au métabolisme primaire. Ce dernier est indispensable à la nutrition, il assure la croissance, le développement d'un organisme.

- **Météorologie :** est une science qui a pour objet l'étude des phénomènes atmosphériques tels que les nuages, les précipitations ou le vent .
- **Morphine** :Substance tirée de l'opium, douée de propriétés soporifiques et calmantes.
- **Ose réducteur :** est un type d'ose possédant un groupe aldéhyde .

- **Pédoclimat** : Climat interne du sol, caractérisé par les conditions saisonnières de température, d'hydromorphie, d'aération, de pression partielle en CO_2.
- **Peptidoglycane :** est un composant de la paroi bactérienne maintenant la forme des cellules et assurant une protection mécanique contre la pression osmotique. **Plante dicotylédone** est une plante angiosperme dont la graine dispose, comme son nom l'indique, de deux cotylédons.
- **Polyphenols** :Composé phénolique d'origine végétale, aux propriétés antioxydantes.
- **Polysaccharide** :Glucide naturel, formé par la condensation de plusieurs sucres simples (oses).
- **Protéine** :Grosse molécule complexe d'acides aminés, constituant essentiel des matières organiques et des êtres vivants.
- **Protéoglycane :** est la combinaison d'une protéine et d'un glycosaminoglycane.
- **Quinine :** est un alcaloïde utilisé pour traiter le paludisme (malaria), combiné à un autre médicament.
- **Racine adventive :** se dit d'une racine ou de radicelles apparaissant directement sur la tige, de façon accidentelle, fortuite et inhabituelle.
- **Rhamnogalactoronanee I** :Le RG-I est une famille de polysaccharides pectiques .
- **RG-II :** est un galacturonane substitué qui représente 10 à 11 % de la pectine et dont la structure complexe est très conservée au sein des espèces végétales
- S**accharose** : est un glucide composé d'une molécule de glucose associée à une molécule de fructose par une liaison glycosidique.

- **Saponines :** sont des molécules naturellement produites par des plantes ou des animaux, dont le rôle n'est pas encore clairement cerné.
- **Saponoside :** (ou **saponine**) est un hétéroside généralement d'origine végétale, ayant des propriétés moussantes, capable d'agir sur la perméabilité des membranes cellulaires.
- **Sennoside :** est un dérivé de l'anthraquinone utilisé comme laxatif.
- **Solution tampon** :permettant de maintenir le pH d'un liquide, d'une substance.
- **Stéroïdes** : sont un groupe de lipides dérivant de triterpénoïdes, majoritairement le squalène.

- **Strychnine :** Poison violent, alcaloïde toxique extrait de la noix vomique
- **Sucre :** est une molécule de saccharose (glucose + fructose).
- **Tanins :** sont des substances végétales de la famille des polyphénols, le plus souvent hydrosolubles, d'origine végétale et qui possèdent la capacité de précipiter les protéines, alcaloïdes et polysaccharides, à partir de leur solution aqueuse.
- **Taxol** :Terpène extrait de plusieurs espèces d'if, aux propriétés cytotoxiques.

- **Terpènes :** sont une classe d'hydrocarbures, produits par de nombreuses plantes, en particulier les conifères.
- **Vigne** ou **Vigne cultivée :** est une espèce d'arbrisseaux sarmenteux de la famille des Vitaceae. Elle est **cultivée** pour ses fruits en grappes.
- **Vigne sauvage** : la **Vigne des bois** ou la **Lambrusque** (*Vitis vinifera* subsp. *sylvestris*) est une sous-espèce de liane forestière de la famille des *Vitaceae*. Cette sous-espèce de *Vitis vinifera* a une longue durée de vie.
- **Vinblastine** :C'est un poison du fuseau mitotique qui inhibe la polymérisation de la tubuline en microtubules, ce qui bloque la division cellulaire provoquant préférentiellement la mort de la cellule tumorale.
- **Vincristine :** est un alcaloïde extrait de la pervenche de Madagascar utilisé comme traitement de chimiothérapie.
- **Vitamine P :** (ou quercétine) est l'ancien nom de la vitamine C2. Il s'agit en réalité d'une famille de vitamines (bioflavonoïdes) qui donnent leur couleur aux fruits et aux légumes. La vitamine P intervient dans l'absorption de la vitamine C.

- **Viticulture :** est l'activité agricole consistant à cultiver une certaine variété de vigne produisant un fruit pour la consommation humaine

Liste des abréviations

Liste des abréviation

$AlCl_3$: Trichlorure d'Aluminium

Cd : Cadmium

CH_3COONa^- : Acétate de sodium

CPG : Chromatographie en Phase Gazeuse

Cu : Cuivre

Cr : Chrome

DO : Densité Optique

EAG : Equivalent d'Acides Gallique

E.Coli : Escherichia Coli

FAO : Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture

Fe : Fer

$FeCl_3$: Chlorure de fer

GAG : GlycosAminoGlycane

HCl : Acide chlorhydrique

H_2SO_4 : Acide Sulfurique

$H_3PM_0O_{40}$: Phosphomolybdique

$H_3PW_{12}O_{40}$: Acide phosphotungstique

J.C : Jésus Christ

K: Potassium

KOH : Hydroxyde de potassium

LDL : Lipoprotéines de Faible Densité

MADR : Ministère de l'Agriculture et du Développement rurale

Mg : Miligramme

M : Molarité

MS : Masse sèche

Mg : Magnésium

Mn : Manganèse

Na : Sodium

Na Hyal : Hyaluronate de sodium

NaOH : Hydroxyde de sodium

$Na_2SO_4H_2O_2$: Sodium anhydre

Pb : Plomb

PH : Potentiel d'hydrogène

SiC : Carbure de Silicium

TCs : Tanin Condensés

USA : États-Unis d'Amérique

USDA : Département de l'Agriculture des États-Unis

V/V: Volume /volume

W_8O_{23} : Oxyde de tungstène

Zn : Zinc

Liste des Figures

Fig.01 : feuilles de vigne fossile 04

Fig.02 : Famille des vitacées complétés par REYNIER, (2007) 07

Fig.03 : Les racines de la vigne 08

Fig.04 : Bourgeon de la vigne..... 09

Fig.05 : rameaux de la vigne..... 10

Fig.06 : Les fleurs de la vigne 10

Fig.07 : les fruits de la vigne (*Muscat d'alexandrie*)..... 11

Fig.08 : les feuilles de la vigne 12

Fig.09 : Structure générale des flavonoïdes..... 18

Fig.10 : Classification des tanins selon leur structure chimique 19

Fig.11 : Différentes expérimentations réalisées 31

Fig.12 : diagramme de dosage des polyphénols totaux 42

Fig.13: Etapes de dosage des flavonoïdes 43

Fig.14 : Etapes d'extraction des tanins par solvants..... 44

Fig.15: Protocole d'extraction des polysaccharides hydrosolubles à partir de la

de la poudre de feuilles de *Muscat d'alexandrie* 48

Fig.16 : Distribution granulaire de la poudre des feuilles de *Muscat d'alexandrie* *63*

Fig.17 : Résultat final du test de gonflement de la poudre de feuilles de raisin analysée 64

Fig.18 : Spectre d'absorption IR des polysaccharides hydrosolubles extraits de feuilles *Muscat d'alexandrie*..... *66*

Liste des tableaux

Tab I : Activités pharmacologiques et biologiques de certaines classes de composés phénoliques 21
Tab II : Origine des principaux polysaccharides 23
Tab III : Souches utilisées dans notre étude microbiologique 30
Tab IV : Résultats des tests phytochimiques effectués sur la poudre des feuilles de *Muscat d'alexandrie* *54*
Tab V : Résultats de quelques paramètres physico-chimiques caractérisant la poudre de *Muscat d'alexendrie* *56*
Tab V I : Composition chimique de la poudre des feuilles de *Muscat d'alexandrie* *57*
TablVII : Résultats des dosages des PPT et des flavonoides dans les extraits de la poudre des feuilles *Muscat d'alexandrie* *58*
Tab VIII : Rendement d'extraction des tanins à partir des feuilles sèche de *Muscat d'alexandrie* *59*
Tab IX: Rendement d'extraction des polysaccharides hydrosolubles des feuilles sèches de *Muscat d'alexandrie* *60*
Tab X : PH et acidité des polysaccharides hydrosolubles extraits de la poudre des feuilles de *Muscat d'alexandrie* 61
Tab XI: Rendement d'extraction de la matière grasse à partir des feuilles sèches de *Muscat d'alexandrie* *61*
Tab XII : Acides gras des feuilles de *Muscat d'alexandrie* *62*
Tab XIII : Résultats de l'indice de gonflement de la poudre des feuilles étudiées 64
Tab XVI: Résultats des tests de gélification des polysaccharides hydrosolubles extraits à partir des feuilles de *Muscat d'alexandrie* *65*
Tab XVII : Principales bandes caractéristiques des groupes fonctionnels des polysaccharides extraits de feuilles de *Muscat d'alexandrie* par spectroscopique Infra-Rouge 67
Tab XVIII : Diamètres (mm) des zones d'inhibition (moyenne ± ET) exprimés pour les différents extraits de la poudre de *Muscat d'alexandrie* *68*

Sommaire

Sommaire

Résumé

Abstract

Glossaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale 01

Revue bibliographique

Chapitre I :Généralité sur la vigne

I.1. Historique 04

I.2. Importance de la vigne 05

I.2.1. Place de la viticulture dans le monde 05

I.2.2. Place de la viticulture en Algérie 05

I.3. Définition 06

I.4. Systématique 06

I.5.Organes de la vigne 08

I.6. Exigences de la vigne 13

I.7 Rôle des feuilles 15

I.8 Utilisation des feuilles 15

I.9 Vertus de la feuille de vigne 15

Chapitre II : Généralités sur les métabolites secondaires

II.1. Les alcaloïdes 16

II.1.1. Rôles des alcaloïdes 16

II.2. Les polyphénols 17

II.2.1. Classification des polyphénols 17

II.2.1.1. Les flavonoïdes 18

II.2.1.2. Les tanins 18

II.2.2. Rôles des composés phénoliques 20

Chapitre III : Généralités sur les polysaccharides

III.1 Aperçu sur les polysaccharides 22

III.2. Classification 23

III.2.1. Selon leur source 23
III.2.1.1 D'origine animale 24
III.2.1.2 D'origine algale 24
III.2.1.3D'origine bactérienne et fongique 24
III.2.1.4 D'origine végétale 25
III.2.1.4.1Classification selon leurs fonctions 25
a) Les polysaccharides de réserve 25
b) Les polysaccharides de structure 26
c) Polysaccharides exsudats (gommes et mucilages) 27
III.3 Application des polysaccharides 28

Partie expérimentale

Chapitre IV : Matériel et méthodes

IV.1. Cadre de l'étude 29
IV.2. Objectifs de l'étude 29
IV.3. Matériel 29
IV.3.1. Matériel végétal 29
IV.3.1.1 Caractéristiques de la variété Muscat d'Alexandrie 29
IV.3.1.2 Méthodologie de séchage des feuilles de vigne 30
IV.3.2. Matériel biologique 30
IV.3.3 Appareillages et réactifs 30
IV.4. Méthodes 31
IV.4.1. Analyse phytochimique 32
IV.4.2.Caractérisation physico-chimique 34
IV.4.3.Dosage des polyphénols totaux 41
IV.4.4Dosage des flavonoïdes 43
IV.4.5. Extraction des tanins par des solvants 44
IV.4.6. Indice de gonflement 45
IV.4.7. Extraction de la matière grasse par Soxhlet 45
Esterification 47
IV.4.8. Analyse de la granulométrie 48
IV.4.9. Extraction des polysaccharides hydrosolubles 48
IV.4.9.1. Protocole de gélification 50
IV.4.9.2.Analyse des groupements fonctionnels par Infra-Rouge 51

IV.4.10. Activité antimicrobienne 51

Chapitre V : Résultats et discussion

V.1 Résultats d'analyse phytochimique des feuilles de Muscat d'alexandrie 54

V.2 Résultats de la caractérisation physico-chimique 56

V.3 Résultat de la composition chimique 57

V.4. Résultats de l'analyse quantitative des composés phénoliques 58

V.5 Résultats d'extraction des polysaccharides hydrosolubles 60

V.6. Résultats d'extraction de la matière grasse 60

V.7. Résultats des analyses rhéologiques 63

V.7.1 La granulométrie 63

V.7.2 Résultats de l'indice de gonflement 64

V.7.3 Test de gélification 65

V.8. Résultats des groupements fonctionnels analysés par l'Infra-Rouge 66

V.9. Résultats de l'activité antibactérienne 68

Conclusion 71

Références bibliographiques

Annexes

Introduction générale

L'Algérie recèle d'un patrimoine végétal important par sa richesse et sa diversité dans les régions côtières, les massifs montagneux, les hauts-plateaux, la steppe et les oasis sahariennes : on y trouve plus de 3000 espèces végétales. Parmi ces ressources naturelles les plantes médicinales occupent une large place et jouent un grand rôle dans l'économie nationale. Elles sont utilisées dans différents domaines : industrie alimentaire, conserverie, pharmaceutique, et phytothérapie (DURAFFOURD, 1997).

En outre, notre pays recèle plusieurs espèces végétales connues et d'autres sont méconnues par la population locale et dans le monde. En effet, près de 80% de la population a recours aux plantes médicinales par manque d'accès aux médicaments prescrits. Mais aussi parce que les plantes ont pu démontrer une réelle efficacité (BENAISSA, 2008).

Parmi ces espèces on trouve la vigne ou *Vitis vinifiera* trop cultivée en Algérie surtout la région de Tizi-Ouzou connait une forte production (DSAT, 2017).

La vigne est une plante sarmenteuse, vivace ou pérenne qui peut demeurer en place plusieurs dizaines d'années, de 40 à 60 ans en moyenne, dans les conditions normales de culture (GALET, 1988). Cette plante a longtemps été utilisée pour soulager les symptômes de l'insuffisance veineuse (jambes lourde) et sont excellents contre les varices. Elle traite également les problèmes liés à la fragilité capillaire, aide à lutter contre les troubles de la ménopause, elle rétablie une bonne circulation du sang et lutte contre les hémorragies. En outre, elle est conseillée en cas de diarrhées chroniques.

Cette première possède des substances actives qui sont de deux ordres : les produits du métabolisme primaire, substances indispensables à la vie de la plante, résultant de la photosynthèse, le second type renferme des substances issues du métabolisme secondaire, celui-ci résume le métabolisme d'assimilation de l'azote (ZABEIROU, 2001).

Ces substances sont aussi très exploitées par l'Homme dans les différents domaines : dans le domaine culinaire comme colorants et arômes, dans le domaine agricole comme herbicides et dans le domaine médicinal comme antibiotiques, antioxydants, drogues…. etc. (BRUNETON, 1993 ; KRIEF, 2003).

Ainsi que, les métabolites primaires aussi peuvent jouer le rôle de principes actifs citant le cas des polysaccharides végétaux qui sont largement utilisés en pharmacopée traditionnelle (WARRAND, 2004 ; BRUDIEUX, 2007).

Notamment, les polysaccharides sont les macromolécules les plus répandues dans la nature (végétaux, animaux et même chez les microorganismes) (WARRAND, 2004). Chez les végétaux il existe des polysaccharides de structure, de réserve et les fibres alimentaires (solubles et insolubles). Ces macromolécules sont les éléments structuraux majeurs de la paroi des végétaux (ex : cellulose, Carraghénanes, alginates). Ils présentent une variabilité structurale et une richesse de propriétés physico-chimiques, que l'on ne rencontre chez aucune autre classe d'organismes (WARRAND, 2004).

Des études récentes se focalisent sur l'application des substances bioactives (pepetides et polysaccharides dérivés des aliments) dans la production des produits laitiers et ce afin de résoudre plusieurs problèmes d'ordre biologique ou technologique citant des exemples l'incorporation des fibres comme agents de texturation dans les yaourts (OLIVEIRA et *al*. 2011) et l'extrait de caroube dans les glaces (GULER-AKIN, GONCU et *al*, 2016), la poudre de jujube comme prébiotique dans la fabrication d'un yaourt fonctionnel (BENAHMED DJILALI et *al* 2018).

Notre travail fait partie de projet de recherche de notre promotrice qui s'inscrit dans le cadre de la valorisation des ressources agricoles en vue mettre sur le marché des substances bio à différentes utilisations (alimentaire et pharmaceutique).

L'objectif principal de cette étude est la caractérisation (phytochimique, biochimique et biologique) de la biomasse des feuilles de la vigne variété *Muscat d'alexendrie* ainsi l'extraction de ses polysaccharides hydrosolubles et leur analyse.

Le présent manuscrit, s'articule autour de trois parties :

- La première consiste en une revue bibliographique dans laquelle sont détaillés les chapitres suivants :
  - ✓ Généralités sur la vigne ;
  - ✓ Généralités sur les métabolites secondaires ;
  - ✓ Généralités sur les polysaccharides.
- La deuxième partie est une étude expérimentale, elle même constitue deux parties:

- ✓ La première dans laquelle sont présentés les tests suivants : screening phytochimique, dosage colorimétrique (spectrophotométrique), granulométrie, analyse des groupements fonctionnels par Infra-Rouge et test d'activité antimicrobienne de la poudre de feuilles de la vigne variété *Muscat d'alexendrie*. En outre, une description détaillée de la méthode d'extraction des polysaccharides hydrosolubles des feuilles de la vigne variété *Muscat d'alexendrie* et leur analyse.
- ➢ La dernière partie concerne les résultats obtenus des analyses réalisées avec leur discussion.

Ce travail s'achève par une conclusion et perspective d'investigation.

Revue Bibliographique

Chapitre I : Généralité sur la vigne

I.1. Historique

L'histoire de la vigne accompagne depuis longtemps celle de l'homme (COMPS, 2008). Les premières traces de ceps de vigne, découvertes dans l'actuelle Géorgie, datent de plus de 7000 ans (ROWLEY et RIBAUT, 2003). Ainsi que, la présence des restes de pépins de vigne cultivée a été motionnée dans la même région à la même période (WINKLER, 1965). Les Grecs, au cours de leurs nombreux voyages, implantèrent la vigne dans tout le bassin méditerranéen et louèrent les bienfaits de vin. Quelques siècles plus tard, les Romains poursuivirent le développement de la viticulture (MEHEUT et GRIFFE, 1997). 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'Atlantiques (COMPS, 2008).

Le genre *Vitis* semble avoir émergé à l'ère tertiaire, plus précisément à la période paléocenique. COMPS (2008) indique que, la plus ancienne fossile connue d'une feuille de vigne existe en Sorbonne, classée comme *Vitis balbianaqui* a été attribuée à 65 millions d'années. D'autres feuilles fossiles (Figure 1), de sarments et de graines de l'ère tertiaire et quaternaire ont été trouvées en Europe, Amérique du nord et même au Japon. Ainsi, il est admis que le passage de la vigne sauvage à la vigne cultivée a eu lieu autour de 6000 ans avant J.C (AMARAL, 2000).

a) **b)**

Figure 01 : feuilles de vigne fossiles

a) : Feuille de vigne fossile du *Pliocène sezannensis ; b) :* Feuille fossilisée de *Vitis previniferasap* provenant du plateau du Coiron, en Ardèche.

I.2. Importance de la vigne

I.2.1. Place de la viticulture dans le monde

Les vitacées sont surtout inter- tropicale. La majorité des surfaces viticoles mondiales sont situées en Europe (57,9%), le reste étant réparties entre l'Asie (21,3%), l'Amérique (13,0%), l'Afrique (5,2%) et l'Océanie (2,7%) (FELLAK et ZAOUALI, 2012). En effet, selon un rapport de l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO) concernant le marché mondial du fruit, le raisin représente 14,6% de la production mondiale de fruits, c'est le deuxième le plus cultivé après l'orange. Selon le rapport de mois de juin 2014 du département de l'agriculture des USA (USDA), la production mondiale de raisin de table est en croissance, ainsi l'année 2013/2014 est supérieure d'environ un demi-million de tonnes par rapport à la Campagne précédente, pour atteindre 16,5 millions de tonnes. Malgré sa grande importance économique dans le contexte mondial, la vigne n'est pas un modèle d'étude privilégié, et est finalement assez peu étudiée en regard de son importance économique. La vigne ne mobilise pas des moyens de recherche importants permettant d'aboutir rapidement à des avancées fondamentales dans la connaissance du végétal (KHALEM, 2017).

I.2.2. Place de la viticulture en Algérie

En Algérie le secteur viticole constitue un point important de la politique Agricole (SADI ALI et SEKHER, 2009), on rencontre la culture de la vigne à différents niveaux géographiques favorables à son adaptation (AIT EL-HOCINE et GUETITECHE, 1990).

Il est à signaler que, le développement de la viticulture en Algérie est inscrit comme l'un des priorités du Ministère de l'Agriculture et du Développement rurale (MADR) ce qui a mené à une évolution moyenne de la production et des rendements (SADI ALI et SEKHER, 2009) qui lui constitue la 4ème culture pérenne sur le plan de surface et représente le 2ème poste à l'exportation (SARAOUI, 2006).

La vigne est implantée partout où elle trouvait le climat physique et humain propice à son développement. Comme dans les vieux pays de civilisation méditerranéenne. L'Algérie offre par ses caractéristiques pédoclimatiques (nature du sol et ensoleillement) les conditions optimales pour la production de raisin.

Les régions de production de raisins sont sur tout situées au Nord du pays. On citera parmi ces régions : Arzew, Mostaganem, Mascara, Sidi-Bel-Abbès, et Tlemcen à l'ouest, Boufarik, Médéa, Blida, Chéraga, Tipaza et Tizi-Ouzou pour le centre. Selon les estimations de

la FAO, le vignoble Algérien s'étend sur une superficie de 69220 ha pour une production de 650000 tonnes [Site 1]

I.3. Définition

La vigne est une plante sarmenteuse, vivace ou pérenne qui peut s'adapter à tout types de sols du plus fertile aux sols pauvres et aux climats pluvieux au semi-arides. Sa résistance à la sécheresse lui offre la possibilité de satisfaire ses besoins en eau de 350 à 400mm de pluies par an et bien repartie, qui peut demeurer en place plusieurs dizaines d'années 40 à 60 ans moyenne dans les conditions normales de culture. (HALOUANE, 2007)

I.4. Systématique

La vigne spontanée ou cultivée est une plante dioïque, angiosperme et dicotylédone. Appartient à la famille des *vitacées* (Figure 02) qui comprend 19 genres. Parmi lesquels, seul le genre *Vitis* contient les espèces utilisées pour la production viticole (GALET, 2000).

La vigne est ainsi positionnée par GALET (1993) comme suit :

Embranchement : *Phanérogames*

Sous embranchement : *Angiospermes*

Classe : *Dicotylédones*

Ordre : *Rhamnales*

Famille : *Vitacées*

Genre : *Vitis*

Espèce : *Vitis vinifera*

Le genre *Vitis* est divisé en deux sections ou sous genres. Les vrais vignes (*Euvitis*) et *Muscadinia* qui se distinguent en fonction des caractéristiques anatomiques, cytologiques et morphologiques (REYNIER, 2007).

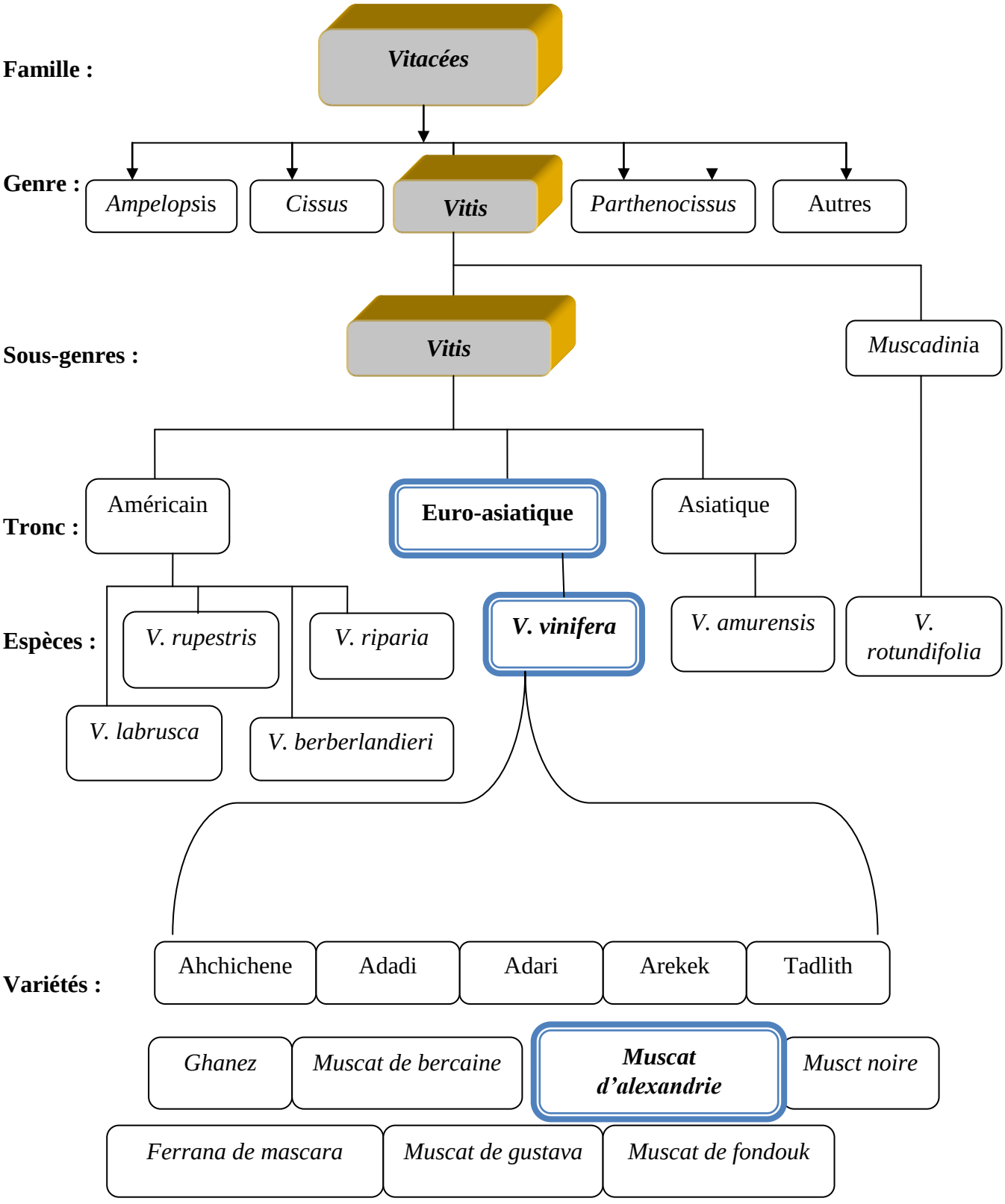


Figure 02 : Famille des *vitacées* complétés par REYNIER, (2007).

I.5.Organes de la vigne

La vigne est constituée d'organes nettement différenciées, elle est formée de deux parties, une partie souterraine appelée porte-greffe, constitue le système racinaire qui colonise le sol et le sous-sol et une partie aérienne appelée greffon, formée d'un tronc qui se divise en bras portants des bois de taille (GIRARD, 2001 ; RAYNIER, 2005).

I.5.1 Les racines

Les racines d'une souche de vigne sont des racines adventives (HUGLIN et SCHNEIDER, 1998) constituant avec la partie enterrée de la tige, la partie souterraine, nées en majeure partie sur le nœud inférieur de la bouture ou greffe. Dans des conditions chaudes et humides on peut observer le développement des racines adventives aériennes (HUGLIN, 1986).

La fonction principale de ces racines (Figure 3) est l'ancrage et la stabilisation de la charpente aérienne de la vigne au sol mais également de puiser dans le sol l'eau et les matières minérales nécessaire à cette dernière. Elles produisent également des hormones de croissance : gibbérelline et cytokinines et constituent un organe de réserve en accumulant les grains d'amidon synthétisés au niveau des feuilles (GALET, 2000).

Figure03 : Les racines de la vigne (MAHBOUB, 2017).

I.5.2 Les bourgeons

Sont des embryons de rameaux, constitués par un cône végétatif termine par un méristème et muni d'ébauches de feuilles et d'inflorescences (RAYNIER, 1991).

Selon RIBEREAU-GAYON et PEYNAUDE (1971), les bourgeons sont axillaires, c'est-à-dire qu'ils naissent obligatoirement à l'aisselle des feuilles. Ils sont destinés à assurer la pérennité de la vigne d'une année à l'autre par leur croissance en donnant des rameaux, des feuilles, des inflorescences et de nouveaux bourgeons (GALET, 2000) (Figure 04).

Ils entrent en activité au printemps : c'est le débourrement. Ils se développent en donnant naissance à des rameaux, qui prennent le nom de sarments après l'aoûtement, à la fin de l'été.

Sur un rameau en croissance on observe plusieurs types de bourgeons :

- ✓ Bourgeon terminal
- ✓ Le prompt- bourgeon
- ✓ Bourgeon latent
- ✓ Les bourgeons de la couronne
- ✓ Les bourgeons de vieux bois (MAHBOUB, 2017).

Figure 04 : Bourgeon de la vigne

I.5.3 Les rameaux

Les rameaux ou sarments annuels de la vigne (Figure 05) sont grêles, cylindriques ou aplatis, peuvent atteindre annuellement une longueur de 8 à 10m, Ils assurent le transport de la sève.

Au début de la période végétative, les rameaux longs ont un aspect herbacé, ils sont verts, flexibles, riche en eau et ils sont composés d'une succession d'entrenœuds, séparés par des nœuds plus ou moins renflés (RIBEREAU et PEYNAUD, 1980). Selon HUGLIN et SCHNEIDER (1998) et GALET (2000), de l'extérieur l'aoûtement, autrement dit la maturation, se remarque par le passage graduel de la couleur de l'écorce du vert à différentes teintes de brun formant ce qu'on appelle écorce qui cette dernière se dessèche et devient rugueuse, plus tard à la fin de l'hiver, l'écorce peut se détacher sous forme de lanières fibreuses ou comme de fines peaux d'oignons (MAHBOUB, 2017).

Figure 05 : rameaux de la vigne (MAHBOUB, 2017)

I.5.4 L'inflorescence

L'inflorescence est une grappe composée de bouquets de fleurs, qui porte des ramifications plus ou moins nombreuses et plus ou moins longues, dont les dimensions et les ramifications dépondent de l'espèce, de la variété, de sa position sur le rameau et de la vigueur. Chaque inflorescence se trouve au niveau d'un nœud, vers la base du rameau à l'opposé d'une feuille (VIDAUD, 1993) et apparait peu après l'éclatement des bourgeons et sa croissance se poursuit jusqu'à la viraison (GALET, 1988).

I.5.5 Les fleurs

Les fleurs de la vigne (Figure 6) sont groupées en une inflorescence dont la charpente est très ramifiée et qui porte de 100 à 200 fleurs ou plus. La richesse en fleurs dépend de la vigueur et des facteurs nutritionnels (BESSIS et BUGNON, 1968).

Ils sont le siège de la pollinisation et de la fécondation à la fin du printemps. Elles sont très petites variant de 2 à 7 mm, hermaphrodites, généralement vertes, fixées par le pédicelle sur l'extrémité d'une ramification de l'inflorescence (BOUANEM, 1999).

Figure 06 : Les fleurs de la vigne (MAHBOUB, 2017).

I.5.6 La grappe

C'est un nom réservé à l'inflorescence fécondée (GALET, 1988). Elle est constituée d'un axe principal et des axes secondaires formant la rafle qui porte les baies (REYNIER, 1991).

La forme de la grappe à maturité est déterminée par la forme initiale de l'inflorescence ainsi que pour le nombre et le volume des baies, ce qui permet de distinguer des grappes cylindriques, coniques, pyramidales, ailés et rameuses (RIBEREAU et PEYNAUD, 1971).

I.5.7 La baie

Après la fécondation et après les différents processus de développement de la fleur, elle finit par devenir un grain de raisin (baie).

La baie se rattache à la grappe par un pédicelle court renflé à son sommet en un bourrelet, sur lequel s'insère le grain (GALET, 1988).

Elle présente des couleurs, des formes et des tailles très variables d'un cépage à l'autre, ainsi que, parfois, des saveurs fortes agréables (exemple, *Muscat d'alexandrie*) (VIDAUD, 1993).

La baie est constituée de 3 éléments :

- La pellicule ou peau du grain de raisin ;
- La pulpe qui représente sa masse principale et constitue la matière première du moût ;
- Les graines ou pépins de raisin.

Le raisin est le fruit de la vigne, arbrisseau grimpant dont une variété seulement est cultivée **(**Figure 07) .

Figure 07 : les fruits de la vigne (*Muscat d'alexandrie*)

I.5.8 Les feuilles

Les feuilles de vigne sont caduques, alternées (Relation phyllo toxique ½) et simples longuement pétiolées (BRETAUDEAU, 1990) (Figure 08). Chez toutes les espèces de vigne cultivées elles présentent comme caractères communs :

- ✓ Chaque feuille est constituée de deux parties : le pétiole et le limbe (RIBEREAU et PEYNAUD, 1980), où s'insère cinq nervures principales qui se ramifient en nervures secondaires qui a leur tour vont encore se subdiviser une ou deux fois ;
- ✓ L'existence d'une dentelure sur le pourtour du limbe ;

- ✓ La présence des lobes séparés par des sinus ;

Généralement, les feuilles fournissent d'excellents critères pour la détermination et la classification des espèces et de cépages (GALET, 1993).

Comme beaucoup d'autres espèces, la feuille de vigne est dorsiventrale. La face ventrale (ou abaxiale) est la face supérieure, tournée vers le rameau. C'est la plus verte et là plus plane, cette partie est utilisée pour se protéger de la chaleur et du froid.

Concernant, la face dorsale (ou adaxiale) est la face inférieure, tournée vers l'extérieur. Elle est d'une couleur verte plus Pale, cette partie est celle qui favorise la transpiration et les échanges gazeux réalisés par la photosynthèse.

Les nervures y font saillie. Pour les cépages dont la feuille présente une villosité, selon les cas, c'est l'unique face pourvue de poils épidermiques ou, quand les deux faces sont pubescentes, c'est celle où ils sont les plus denses.

La taille de la feuille varie de 50 à 500 cm², suivent la vigueur, les espèces et les cépages. Est leur nombre augmente jusqu'à l'arrête de la croissance à la fin d'été.

Figure 08 : les feuilles de la vigne (MAHBOUB, 2017).

I.6. Exigences de la vigne

La vigne est une espèce qui préfère les climats semi arides et subtropicaux avec des étés secs et chauds sans précipitation et des hivers frais (WALALI et *al*, 2003).

Les principales exigences de la vigne sont :

I.6.1 La température

La vigne est essentiellement une culture développée dans les régions chaudes et tempérées. C'est une plante exigeante de la chaleur, craignant les fortes gelées de l'hiver et les gelées de printemps (AIT EL-HOCINE et GUETITECHE, 1990).

Globalement, pendant les repos hivernaux, les variations de température sont sans action sur la vigne. Sauf les températures très basses qui provoquent les gelées d'hiver et entraînent la destruction des cépages (AIT BRAHAM et MEKLICHE, 2007).

La température nécessaire pour permettre le débourrement est variable selon les cépages, l'altitude et les années, en Algérie cette température est de 13,5°C (REYNIER, 1986).

I.6.2 La lumière

La vigne est une plante héliophile qui nécessite un ensoleillement entre 1500 et 1600 heures/an **(**SIMON et *al.*, 1992), car ses fleurs nouent mal à l'ombre ou par temps brumeux. Les années de grande insolation donnent des raisins sucrés, peu acides. D'après GALET (1988), la vigne exige beaucoup de lumière. La quantité de lumière solaire durant la période végétative est un facteur dominant sur la composition chimique du raisin augmentant la richesse en saccharide et diminuant l'acidité.

I.6.3 La pluie

La pluie est un élément important de climat, car l'eau est l'un des déterminants majeurs du développement de la vigne, de la croissance et de la composition du fruit (DELOIRE, 2008). Elle protège les organismes contre l'échauffement par son évaporation.

Dans le sol, l'eau joue un rôle primordial sur les modalités de l'alimentation minérale des plantes.

Au moment de la floraison et la nouaison, la vigne est besoin entre 400 et 500mm d'eau.

D'après LEBON (2005), la sécheresse provoque des pertes de rendements importantes .

Selon ATTIA (2007), l'alimentation hydrique de la vigne doit être suffisante pour la croissance et le développement de la plante. Cependant, une faible alimentation hydrique est souhaitable durant la maturation, ce qui favorise l'accumulation des sucres dans les baies.

I.6.4 Exigences édaphiques

La vigne est une culture dont on attend des performances au travers d'une valorisation des milieux pauvres du point de vue agronomique. HUGLIN et SCHNEIDER (1998), ont montré que, la vigne s'adapte à une large gamme de sol, depuis les sols secs, pauvre jusqu'aux sols argilo-calcaires (KHALEM, 2017).

I.6.5 Le vent

Les vents sont aussi des éléments importants du climat, car ils modifient, dans un sens favorable ou non, les autres éléments météorologiques. Par exemple au printemps un léger vent empêche la formation des gelées nocturnes, mais les vents violents du début du printemps sont

dommageables en détachant les jeunes rameaux de la souche entraînant des pertes de récolte importantes et rendant difficile la taille de la souche l'année suivante.

Au moment de la floraison une légère brise (6 à11 Kms/h) favorise la dissémination du pollen (AIT BRAHEM et MEKLICHE, 2007), alors qu'à la maturation les vents d'ouest souvent trop humides sont redoutables car, favorisant le développement des maladies cryptogamiques (GALET, 1988), mais pendant l'été, les vents violents dessèchent l'air et le sol provoquant le folletage et couchent les jeunes souches en les secouant furieusement (GALET, 2000).

I.6.6 La rosée

La rosée joue un rôle double pour la vigne : dans certaines régions telles que l'Algérie où il ne pleut pas beaucoup, la rosée fournit une partie de l'eau nécessaire à la végétation mais malheureusement les feuilles abondement mouillées constituent un milieu favorable au développement du mildiou (GALET, 1988).

I.6.7 Les gelées

Les gelées interviennent selon les saisons, en fonction de l'intensité du froid et de l'état de la végétation. Elles peuvent entrainer la perte de l'état de la récolte surtout quand elles parviennent à la sortie des grappes (HADBI, 1985).

I.6.8 L'altitude

Selon GALET (1993), la température moyenne de l'air décroît lorsqu'on s'étale en altitude, d'environ 0,6°c par 100 mètre d'élévation, ce qui entraîne un retard de 2 à 3 jours dans la végétation. En montagne, la durée de la période favorable est abrégée et les raisins sont plus acides (AIT BRAHAM et MEKLICHE, 2007).

I.7 Rôle des feuilles

Les feuilles jouent un rôle physiologique primordial, car elles constituent le siège de la photosynthèse et des réactions métaboliques. Elles permettent l'élaboration des sucres qui s'accumulent dans les raisins et des nombreux autres processus physiologiques parmi lequel celui d'induction et initiation florale.

I.8 Utilisation des feuilles

Le feuillage ne peut, lui, être utilisé qu'après l'automne car c'est à cette période que les feuilles atteignent leur maturité. Elles sont ensuite séchées et conservées dans un lieu frais, à l'abri de toute lumière. Très bénéfiques pour la santé, les feuilles de vigne de variétés *Muscat d'alexandrie* sont riches en tanins hydrolysables et une quantité très faible des polyphénols (KHALEM, 2017).

I.9 Vertus de la feuille de vigne

- La feuille de vigne est connue pour soulager les symptômes de l'insuffisance veineuse (jambes lourde) et sont excellents contre les varices. Elle traite également les problèmes liés à la fragilité capillaire (hémorragie, saignement de nez, hémorroïde, ecchymose et pétéchies (taches rouges sur la peau).
- Elle aide à lutter contre les troubles de la ménopause, elle rétablie une bonne circulation du sang et lutte contre les hémorragies.
- Elle est conseillée en cas de diarrhées chroniques.
- Elle est indiquée dans les affections congestives conjonctivales et oculaires.
- Elle est un remède rafraîchissant, diurétique et laxatif. Il est préconisé dans la constipation, l'arthritisme, le rhumatisme, la goutte, l'obésité, les maladies de la peau, les maladies du foie, les problèmes de l'appareil urinaire, l'hypertension et l'artériosclérose.
- Elle est aussi un bon remède contre la cataracte [Site 2].

Chapitre II : Généralités sur les métabolites secondaires

Les plantes ont une importance capitale pour la survie de l'homme et des différents écosystèmes. Elles renferment une part importante des composés qui interviennent dans l'ensemble des réactions enzymatiques ou biochimiques ayant lieu dans l'organisme. On distingue ainsi deux groupes de métabolites : les métabolites primaires et les métabolites secondaires (HARTMANN, 2007).

- ✓ **Les métabolites primaires** : sont des molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie (EPIFANO et *al.*, 2007).
- ✓ **Les métabolites secondaires** : ont une répartition limitée dans les différentes espèces de végétaux. Ils ont des fonctions très importantes pour la survie et la propagation des plantes qui les produisent, comme signaux chimiques, pour défendre leur producteur contre les herbivores et les pathogènes. Comme ils participent à des réponses allopathiques (compétition entre les plantes pour la germination et croissance) (JEAUN et *al.*, 2005).

On peut classer les métabolites secondaires en trois grands groupes : les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activité en biologie humaine (KRIEF, 2003).

II.1. Les alcaloïdes

Un alcaloïde est une substance organique azotée relativement stable d'origine végétale (MAURO, 2006), et de distribution restreinte à caractère alcalin et présentant une structure moléculaire hétérocyclique complexe. Ils existent à l'état de sels et ils sont bio synthétiquement formés à partir d'un acide aminé. (REYNIER, 2007)

Les alcaloïdes existent rarement à l'état libre dans la plante, le plus souvent ils sont combinés à des acides organiques ou à des tanins (ROUX et CATIER, 2007).

II.1.1. Rôles des alcaloïdes

Ils possèdent une activité pharmacologique significative. Bien que beaucoup d'entre eux sont employés pour leurs propriétés analgésiques (comme la morphine, la codéine), dans la cadre de protocoles de sédation (anesthésie, atropine) souvent accompagnés des hypnotiques, ou comme agents antipaludéens (quinine, chloroquinine) ou agents

anticancéreux (taxol, vinblastine, vincristine), mais certains d'entre eux soient toxiques (comme la strychnine ou l'aconitine) (ZENK et JUENG, 2007).

II.2. Les polyphénols

Le terme « *polyphénols* » est fréquemment utilisé dans le langage courant et même dans des articles scientifiques ou de vulgarisation pour désigner l'ensemble des composés phénoliques des végétaux donc la désignation générale « composés phénoliques » concerne à la fois les mono, les di et les polyphénols dont les molécules contiennent respectivement une, deux ou plusieurs fonctions phénoliques (FLEURIET et *al.*, 2005).

Les composés phénoliques forment un groupe diversifié de métabolites secondaires (HATTENSCHWILER et VITOUSEK, 2000), d'un poids moléculaire élevé (HARBONE, 1994). Ces molécules constituent le groupe majoritaire le plus important dans le règne végétal.

Les différentes parties de la plante possèdent des quantités en polyphénols variables selon l'espèce végétale et le groupe phénolique considéré (BAMFORTH, 2000).

Ils sont constitués des composés chimiques aromatiques contenant au moins une fonction phénol, c'est-à-dire d'un noyau aromatique lié à un ou plusieurs groupement(s) hydroxyle(s), en plus d'autres constituants, modifié(s) ou non (LATTANZIO et *al.*, 2006).

II.2.1. Classification des polyphénols

Une classification de ces substances a été proposée par HARBORNE en 1980. On peut distinguer les différentes classes des polyphénols en se basant d'une part, sur le nombre d'atomes constitutifs et d'autre part, sur la structure de squelette de base.

Deux principales classes sont largement répandues :

- Les flavonoïdes.
- Les tanins.

II.2.1.1. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont désignés sous le nom de vitamine P (P étant la première lettre de mot perméabilité), en raison de leur efficacité à normaliser la perméabilité des vaisseaux sanguins (NIJVELDT et *al.*, 2001).

Ces premiers renferment une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (SEYOUM et *al*., 2006), ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles (GUIGNARD,1996 ; MEDIC et *al.*, 2003). À l'état naturel les flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme d'hétérosides (GHESTEM et *al.*, 2001 ; BRUNETON, 1999) (Figure09).

Les flavonoïdes peuvent être subdivisés en plusieurs classes dont les plus importantes sont : flavones, isoflavandiols, flavonols, flavondiols, aurones, chalcones, anthocyanins (EFFENDI et YAJUN, 2008).

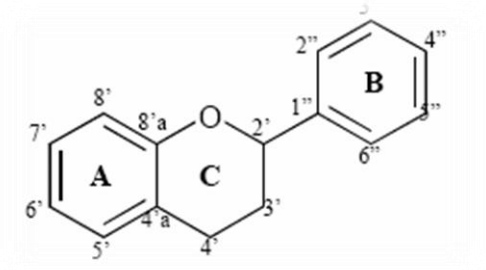


Figure 09 : Structure générale des flavonoïdes

II.2.1.2. Les tanins

Les tannins (ou tanins) sont des substances polyphénoliques hydrosolubles de structure variée, de saveur astringente (HURABIELLE, 1981) naturellement produits par les plantes qui ont la propriété de transformer la peau fraîche en un matériau imputrescible : le cuir. Cette propriété de tannage provient de la création de liaisons entre les molécules de tannins et les fibres de collagène de la peau, et à leur aptitude à se combiner à des macromolécules (protéines, polysaccharides...) et à d'autres polymères organiques tels que des glucides, des acides nucléiques, des gélatines, des stéroïdes et des alcaloïdes pour former un précipité (BRUNETON, 1999).

Ils sont très répondus dans le règne végétal, mais ils sont particulièrement abondants dans certaine famille comme les *Conifères*, les *Fagacée*, les *Rosacée* (GHESTERM et *al.*, 2001). Ils peuvent exister dans divers organes : l'écorce, les feuilles, les fruits, les racines et les grains (KHANBABE et REE, 2001).

On distingue habituellement chez les végétaux supérieurs trois groupes de tanins différents par leur structure aussi bien que par leur origine biogénétique : les tanins hydrolysables, les tanins non hydrolysables (condensés) et les tanins complexes (BRUNETON, 1999) comme nous montre la Figure10.

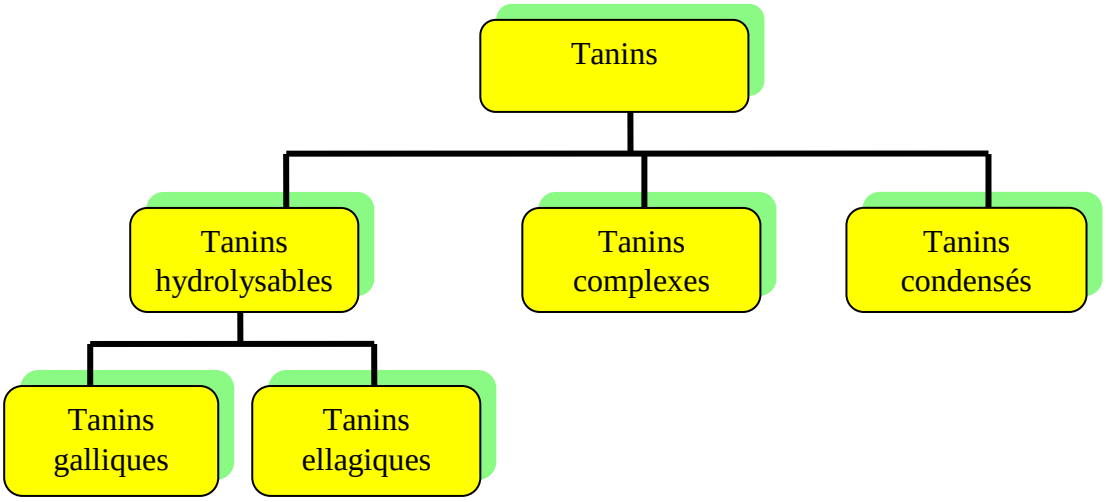


Figure 10 : Classification des tanins selon leur structure chimique (WILFRED et RALPH, 2006).

➢ ***Les tanins hydrolysables***

Les tanins hydrolysables sont des polyesters d'un sucre (majoritairement le glucose) et d'un nombre variable de molécules d'acides phénols qui sont considérés comme des non flavonoïdes (éllagitanine, gallotanins) (DELLUC, 2004). Comme leur nom l'indique, ces tanins subissent facilement une hydrolyse acide et basique, ils s'hydrolysent sous l'action enzymatique et de l'eau chaude (CONRAD et *al.*, 1998).

Selon la nature des tanins hydrolysables on distingue :

- Tanins galliques : ils donnent par l'hydrolyse des oses et de l'acide gallique.
- Tanins ellagiques : ils sont scindés par les enzymes en oses et en acides ellagiques (PARIS et HURABIELLE, 1981).

➢ ***Les tanins condensés***

Les tanins condensés (TCs), ou proanthocyanidols sont des polyphénols appartenant à la famille des flavonoïdes, cette dernière famille est présente chez la vigne (MUELLER-HARVEY et MC ALLAN, 1992 ; BRUNETON, 1999).

Sont chimiquement définis comme étant des oligomères ou des polymères d'unités de flavonoïdes et le plus importants les flavanediols 3,4 et le flavon-3-ol (catéchine) qui est l'unité de base de TCs (BRUNETON, 1999 ; SCHOFIELD et *al*, 2001).

- ***Les tanins complexes***

Sont à la fois des tanins hydrolysables et des tanins condensés. Dans ce cas le tanin hydrolysable qui peut être gallique ou ellagique est lié à une ou plusieurs unités Flavon-3-ol qui sont caractéristiques de tanins condensés (BRUNETON, 2009).

II.2.2. Rôles des composés phénoliques

Les composés phénoliques possèdent des propriétés biologiques diverses d'où leur utilisation en thérapeutique.

Ils participent dans la protection contre certaines maladies en raison de leur interaction possible avec de nombreuses enzymes et de leur propriétés antioxydants (FLEURIET et *al.*, 2005)

En outre, Un certain nombre de molécules polyphénoliques ont été testés cliniquement comme des antiagrégants plaquettaires, ou hypotenseurs avec des résultats moins probants (MARTIN et ANDRIANTSITOHAINA, 2002).

Certains composés sont dotés de certaines activités résumées dans le tableau (I).

Tableau I : Activités pharmacologiques et biologiques de certaines classes de composés phénoliques

Certaines classes des polyphénols	Activités	Références
Flavonoïdes	Anti tumorales	(STAVRIC et MATULA, 1992)
	Anti carcinogènes	(DAS et *al*., 1994)
	Anti-inflammatoires	(BIDET et *al*., 1987)
	Hypotenseurs et diurétiques	(BRUNETON, 1993)
	Antioxydants	(ARUOMA et *al*., 1995)
Tannins	Antioxydant	(OKUDA et *al*., 1983)
	Antibactérienne et anti-inflammatoire	(MOTA et *al*., 1985)
	Anti tumoral	
	Anti diarrhéique	(PAOLINI et *al*., 2003)
	Digestibilités des protéines	
Tannins galliques	Antioxydants	(OKUDA et *al*., 1983)

Chapitre III :

Généralités sur les polysaccharides

III.1 Aperçu sur les polysaccharides

Les polymères naturels peuvent être généralement divisés en différentes catégories, y compris les polysaccharides, les protéines et les acides nucléiques. Les polysaccharides sont définis comme des structures glucidiques polymériques (YANG et *al*., 2015).

Les polysaccharides sont constitués d'un ou plusieurs types de molécules mono-saccharidiques. Ils renferment les mêmes oses sont nommés les glycines (IGNAT, 2012).

Ces substances sont présentes chez tous les êtres vivants, dans les végétaux comme l'amidon, la cellulose, les hémicelluloses et les pectines ; dans les animaux comme le glycogène et l'acide hyaluronique, la chitine existe aussi chez les insectes et les crustacés ; et dans les microorganismes (bactéries, champignons, algues) comme le xanthane, β-glucanes, les carraghénanes (RUFF, 2008). Elles sont classées sur la base de leur origine (c.-à-d. animal ou végétal), leur composition chimique, leur solubilité dans l'eau ou leur digestion dans le système gastro-intestinal humain, leurs sources, leurs applications et leur nature (soit de réserve ou structuraux).

Selon la composition chimique, les polysaccharides sont classés en deux types :

- Les Homopolysaccharides (ou homopolyosides), qui sont constitués d'un seul type d'unité.
  - Par exemple la cellulose, le glycogène et l'amidon sont des polymères de glucose ;
  - La chitine est un polymère de N-acétylglucosamine.
- Les Hétéropolysaccharides (ou hétéropolyosides), sont constitués de plus d'un type de monosaccharides tel que :
  - Les glycosaminoglycanes des protéoglycans ;
  - Les gammes, hémicellulose et mucilage des végétaux (CHRISTIAN, 2002)

Les polysaccharides sont composés de longues molécules droites ou ramifiées à glucides simples ayant pour formule générale :

- [Cx (H2O) y)] n- (où y est généralement x - 1). La longueur de la chaîne, le nombre et le type d'unités latérales et la charge chimique de la molécule influent sur les propriétés fonctionnelles, comme la viscosité, la capacité de rétention d'eau et la réticulation

Les constituants participant à la construction des polysaccharides peuvent être très divers : hexoses, pentoses, anhydrohexoses, éthers d'oses et esters sulfuriques

III.2. Classification

III.2.1. Selon leur source

Le tableau (02) résume les différentes origines des polysaccharides.

Tableau II : origine des principaux polysaccharides (SANDRINE, 2004)

Origine	Polysaccharides
Végétale	Amidon Cellulose Pectines Gomme
Algale	Alginates Agars Carraghénanes Fucanes
Animale	Héparine Chondroitine
Microbienne	Dextranes Xanthanes

III.2.1.1 Origine animale

Les polysaccharides bioactifs issus d'animaux appartiennent à la famille des glycosaminoglycane (GAG) (LIU et *al* ., 2015) et sont issus des protéoglycanes. Parmi ces polysaccharides on trouve :

- Le chitosane est trouvé dans les exosquelettes des arthropodes (FRANCIS SUH et MATTHEW, 2000).
- Le glycogène est aussi d'origine animale. Il est le plus important de biopolymère polyosidique qui permet la mise en réserve d'énergie chez les animaux (WEINMAN et MEHUL, 2004).
- L'héparine est un polymère fortement lié aux protéines formant ainsi un protéoglycanes à l'état natif. Il s'agit d'une molécule à activité anticoagulante immédiate. Il est utilisé dans le traitement curatif et préventif des maladies thromboemboliques (BOUAL, 2009 in MURRAY et *al*., 1999).

III.2.1.2 Origine algale

Les algues sont riches en polysaccharides sulfatés, dont certains sont devenus des additifs de valeur dans l'industrie alimentaire en raison de leurs propriétés rhéologiques comme agents gélifiants et épaississants. En outre, des polysaccharides sulfatés possèdent un certain nombre d'activités biologiques, dont des activités anticoagulante, antivirale, et immuno-inflammatoire qui peuvent trouver un intérêt dans les aliments (nutritifs) et des applications cosmétiques et pharmaceutiques (JIAO et *al*., 2011).

III.2.1.3Origine bactérienne et fongique

Les micro-organismes produisent une grande variété d'exopolysaccharides ayant des caractéristiques physiques et chimiques uniques. Ces exopolysaccharides peuvent être des homopolysaccharides ou des hétéropolysaccharides (SINGH et *al.,* 2015).

Globalment, la biomasse fongique représente un pourcentage majeur de (jusqu'à environ 75%) de polysaccharide. Ces biopolymères assurent un rôle de soutien ou forment une gaine protectrice autour du mycélium. Le principal représentant de ces polymères fongiques est la chitine (DELTTRE, 2005). De même les bactéries synthétisent plusieurs types de polysaccharides qui peuvent être classés en trois grands groupes selon leur localisation dans la cellule :

- Un groupe rassemble les polysaccharides du cytosol, ils servent de source de carbone et d'énergie à la cellule.

- Un groupe concerne les constituants de la paroi tels que les acides téichoïques et les peptidoglycanes.
- Un groupe qui réunit les polysaccharides élaborés par la cellule est secrétés dans le milieu (NICKLIN et *al*., 1999 ; DELATTRE, 2005).

III.2.1.4 Origine végétale

Les polysaccharides des végétaux appartiennent à trois groupes principaux ; les polysaccharides de structures (propriétés biomécanique) qui composent la paroi pectocellulosique des cellules (cellulose, hémicellulose, pectines), les polysaccharides de réserve (amidon, caroube, inuline) constituant des formes de stockage de carbone, les polysaccharides exsudats (gomme arabique) et enfin les mucilages (DELATTRE, 2005).

III.2.1.4.1Classification selon leurs fonctions

a) Les polysaccharides de réserve

- **L'amidon**

L'amidon est la principale réserve glucidique des végétaux et l'aliment glucidique le plus important pour l'homme. Il peut présenter jusqu'à 30 ou 60% du poids sec d'un tissu végétal (). Il est abondant dans les graines et les tubercules mais aussi largement répondu dans beaucoup de cellules végétales (BERRADA, 2009).

L'hydrolyse enzymatique de l'amidon par une amylase conduit à la formation du maltose : l'amidon est donc un polymère d'α-glucose en liaisons 1→4.

L'amidon est stocké sous forme de granules de semi-cristallines discrètes chez les plantes supérieures, et se compose de deux éléments principaux à savoir l'amylose linéaire et l'amylopectine fortement ramifié (CAI et *al*., 2015).

- **Fructanes**

Les fructanes sont des polymères qui se composent principalement ou exclusivement de fructose liés par une liaison β-(2→1) ou β-(2→6) à une molécule de glucose terminal (SIMS, 2003) synthétisés à partir du saccharose. Ils présentent une grande diversité de structure selon l'espèce végétale qui les synthétise et constituent une forme de réserve glucidique au même titre que le saccharose et l'amidon (POLLOCK et CAIRN, 1991 ; HINCHA et *al*., 2007).

Ce sont des glucides hydrosolubles, tout comme les sucres simples tels que le glucose, le fructose et le saccharose. Ils jouent un rôle dans la protection des plantes contre la

sécheresse, le froid et l'hypersalinité par la protection des lipides membranaires au cours de la phase de transition exprimée par les cellules au moment de stress (RITSEMA et SMEEKENS, 2003).

b) Les polysaccharides de structure

- **Cellulose**

La cellulose est une molécule stable, c'est le constituant principal de la paroi cellulaire des végétaux (PARIS et HURABIELLE, 1981) représentant 15 à 30% de la masse sèche de la paroi primaire (BRETT, 2000). Cette molécule est un polymère non ramifié constitué de résidus de D-glucose unis exclusivement par des liaisons β (1→4).

On peut l'utiliser pour fabriquer de l'alcool en fermentant les résidus de biomasse et ainsi produire du biocarburant.

La molécule n'est pas digérée par l'homme, mais est utile au bon fonctionnement des intestins puis qu'elle forme des fibres végétales. Les herbivores et les termites ne peuvent pas digérer la cellulose, mais utilisent des enzymes provenant de microorganismes pour la digérer (WEINMAN et MEHUL, 2004).

- ***Hémicelluloses***

Les hémicelluloses représentent, après la cellulose, les polysaccharides de la matrice. Elles peuvent être ramifiées et constituent parfois des molécules de réserve. De plus, leur structure dépend de leur origine variétale, du tissu ou du type cellulaire, de l'âge des cellules et de leur localisation dans la paroi végétale. Elles diffèrent de la cellulose par l'hétérogénéité de leur composition monosaccharidiques (BRUDIEUX, 2007 ; BENHAMOU, 2009 ; ABOUGHE, 2010).

- ***Les pectines***

Les pectines sont des macromolécules de nature glucidique, d'origine exclusivement végétale. Ce sont les principaux constituants de la lamelle moyenne des parois cellulaires. Elles sont essentiellement composées d'acides galacturoniques (DELATTRE, 2005). Elles forment alors un véritable ciment biologique (ciment pectique) qui rattache les cellules les unes aux autres (PRAT et *al*., 2002). Elles se retrouvent également des pectines dans la matrice des parois primaires et en plus faible quantité dans les parois secondaires des cellules.

Les pectines sont abondantes dans les fruits tels que la pomme et le citron où leur nature évolue avec l'âge des tissus : d'abord insolubles elles assurent la rigidité des tissus, elles sont ensuite dégradées en sucres et en acides par voie enzymatique au cours du mûrissement.

La variabilité structurale des pectines en fait l'un des polysaccharides pariétaux les plus complexes. On peut les diviser en deux sous catégories :

- ✓ Les substances pectiques acides (homogalacturonane, rhamnogalacturonaneI et II)
- ✓ Les substances pectiques neutres (arabinanes, galactanes, arabinogalactanes)

Les deux substances sont associées de manière covalente au sein de la macromolécule pectique (DELATTRE, 2005).

L'intérêt des pectines en pharmacie est lié à leur hydrosolubilité. Elles constituent une préparation épaississante du contenu gastrique, un régulateur du transit ; assez rapidement fermenté, elles favorisent la croissance bactérienne, augmentant ainsi le volume fécal. Elles sont utilisées dans le traitement symptomatique des régurgitations du nourrisson dans des diarrhées. En diététique, l'utilisation régulière des pectines a démontré son efficacité dans le contrôle de la cholestérolémie et la prévention des maladies cardiovasculaires. Elles sont surtout employées en industrie agroalimentaire comme agent stabilisant et gélifiant des confitures, des gelées, des desserts glacés, des sauces, etc (BRUNETON, 1999).

c) Polysaccharides exsudats (gommes et mucilages)

Les gommes et les mucilages sont des substances entre lesquelles il n'y a pas de différence chimique précise (GUIGNARD, 1996). Il est difficile de résoudre le problème de savoir si un exsudat de plante ou un extrait doit être nommé gomme (collante) ou mucilage (visqueux, gluant) (DELATTRE, 2005).

Les deux sont des hydrocolloïdes végétaux très proches et difficilement dissociables. Ce sont des polymères d'un monosaccharide ou monosaccharide mixte et beaucoup d'entre eux sont combinés avec des acides uroniques (JANI et *al*., 2009).

- **Les gommes**

Les gommes végétales en contact de l'eau forment des gels ou des solutions colloïdales et que l'on regroupe parfois sous le vocable d'hydrocolloïdes (MERGHAME, 2009). Ces composés d'association de monosaccharides liés via des liaisons glycosidiques (WARRAND, 2004), contenant des acides uroniques. Les gomme sont insolubles dans les solvants organiques ce qui les différencie des résines .

La viscosité de la gomme varie en fonction de la période de récolte : elle est faible en période de pluies et élevée en période sèche. Le calibrage de la gomme tient compte de plusieurs variables physico-chimiques dont la viscosité (BRUNETON, 1999).

- **Mucilages**

Les mucilages sont généralement des dérivés pectiques, un polysaccharide acide qui forme des gels dans la matrice extracellulaire , ou des xylanes et renferment le plus souvent des oses neutres (xylose, arabinose, galactose, rhamnose,...) et des acides uroniques (acide galacturonique, acide glucuronique). Il est présent dans toutes les parois cellulaires (DELATTRE, 2005).

Leur rôle réside dans l'aptitude à retenir l'eau. Cette particularité leur confère de nombreuses applications industrielles dans le secteur des biomatériaux, du cosmétique et de l'alimentaire. Elles sont d'une grande utilité en usage externe et usage interne ; ils sont très appréciés pour leur action adoucissante (plaies, infections). En usage interne, cas d'affections pulmonaires (ZABEIROU, 2001).

III.3 Application des polysaccharides

Les polysaccharides natifs sont non toxiques, biocompatibles, biodégradables, hydrosolubles et, on la capacité de gonflement (YANG et *al*., 2015). Ceux-ci ont des propriétés qui sont largement exploitées dans différents secteurs industriels, aussi bien en industrie agro-alimentaire (comme agents texturants) que dans le domaine pharmaceutique (substances biocompatibles, thérapeutiques). En effet, les interactions polysaccharides-protéines ont un rôle primordial dans de nombreux processus physiologiques et pathologiques (thrombose, inflammation, métastases, stérilité…) (ROGER, 2002). Parmi les propriétés rhéologiques, il existe des hydrogels et des cryogels obtenus à partir de mélanges entre une protéine et un polysaccharide, qui permettent leur manipulation dans des conditions de techniques de culture cellulaire. Les hydrogels et les cryogels ne présentent pas de cytotoxicité. Ils assurent la viabilité cellulaire dans des milieux de culture standards, le hyaluronate de sodium (NaHyal) et le gellane comme exemple (IGNAT, 2012).

Une large gamme de polysaccharides a déjà trouvé des applications dans la santé humaine, à savoir le chitosane, la cellulose, les alginates, le dextrane, l'amidon, l'acide hyaluronique, l'héparine, le K-carraghénane, les pectines et la gomme d'agar **(**PERSIN et *al*., 2011).

Chapitre IV : Matériel et méthodes

IV.1. Cadre de l'étude

Notre étude expérimentale a été réalisée au niveau des laboratoires pédagogiques des analyses physicochimiques (I et II) et microbiologique de l'Université Mouloud MAMMERI Tizi-Ouzou (UMMTO) et l'Unité de Recherche de l'Université de Boumerdès.

IV.2. Objectifs de l'étude

Les objectifs ambitionnés à travers cette étude sont :

- ✓ L'analyse phytochimique et la caractérisation physico-chimique de la poudre des feuilles de *Muscat d'alexandrie.*
- ✓ Extraction et analyse des polysaccharides hydrosolubles à partir de la poudre étudiée.
- ✓ Evaluation de l'activité antimicrobienne des composés phénoliques, polysaccharides hydrosolubles et les tanins extraits de la même poudre.

IV.3. Matériel

IV.3.1. Matériel végétal

Cette étude à été réalisée sur les feuilles de *Muscat d'Alexandrie,* récoltées au niveau de la région de Timisart à Tizi-Ouzou à la fin de la saison durant la période allant du mois de Novembre jusqu'au moins de Décembre 20017.

Cette espèce de vigne est renommée aussi Muscat Romain ou de Muscat à gros grains. Cette variété proviendrait d'Egypte, elle est retrouvée partout dans le monde, excepté en Asie (sauf au Japon). Sa superficie sur le plan mondial serait de l'ordre de 90 000 ha, toutes utilisations comprises, avec moins d'un tiers comme raisins de table. Il existe une mutation rose de cette variété qui est le "*Red Hanepoot*" (présent en Californie dans le "Flame Muscat").

IV.3.1.2 Méthodologie de séchage des feuilles de vigne

Les feuilles sèches contiennent souvent une quantité non négligeable d'eau qui doit être éliminée. La récolte des feuilles a été faite au hasard, après sont lavées séchées à l'air libre à l'abri de lumière et d'humidité.

Une fois séchées, on procède à l'opération de broyage, tamisage à l'aide d'un tamis de porosité de 500µm, la poudre obtenue a été conservée dans des flacons en verre couvert de papier aluminium jusqu'à leur utilisation.

IV.3.2. Matériel biologique

Les tests de l'activité antimicrobienne des tanins, des extraits phénoliques et polysaccharidiques de la poudre des feuilles de *Muscat d'alexandrie* sont effectués sur 2 souches bactériennes pathogènes de référence, une levure et une moisissure (annexe 07).

Tableau III : Souches utilisées dans notre étude microbiologique

Souches	Type	Code
Escherichia coli	Bactérie Gram Négatif	*ATCC 25922*
Staphylococcus aureus	Bactérie Gram Positif	*ATCC 25923*
Candida albicans	Levure	/
Aspirgillus niger	Moisissure	/

IV.3.3 Appareillages et réactifs

Pour les différentes expériences, l'ensemble des appareillages, solvants, réactifs chimiques et milieux de culture est cité dans les annexes (01).

IV.4. Méthodes

- Le schéma ci-dessous regroupe quelques expérimentations réalisées pour la caractérisation de la poudre de feuilles de raisin.

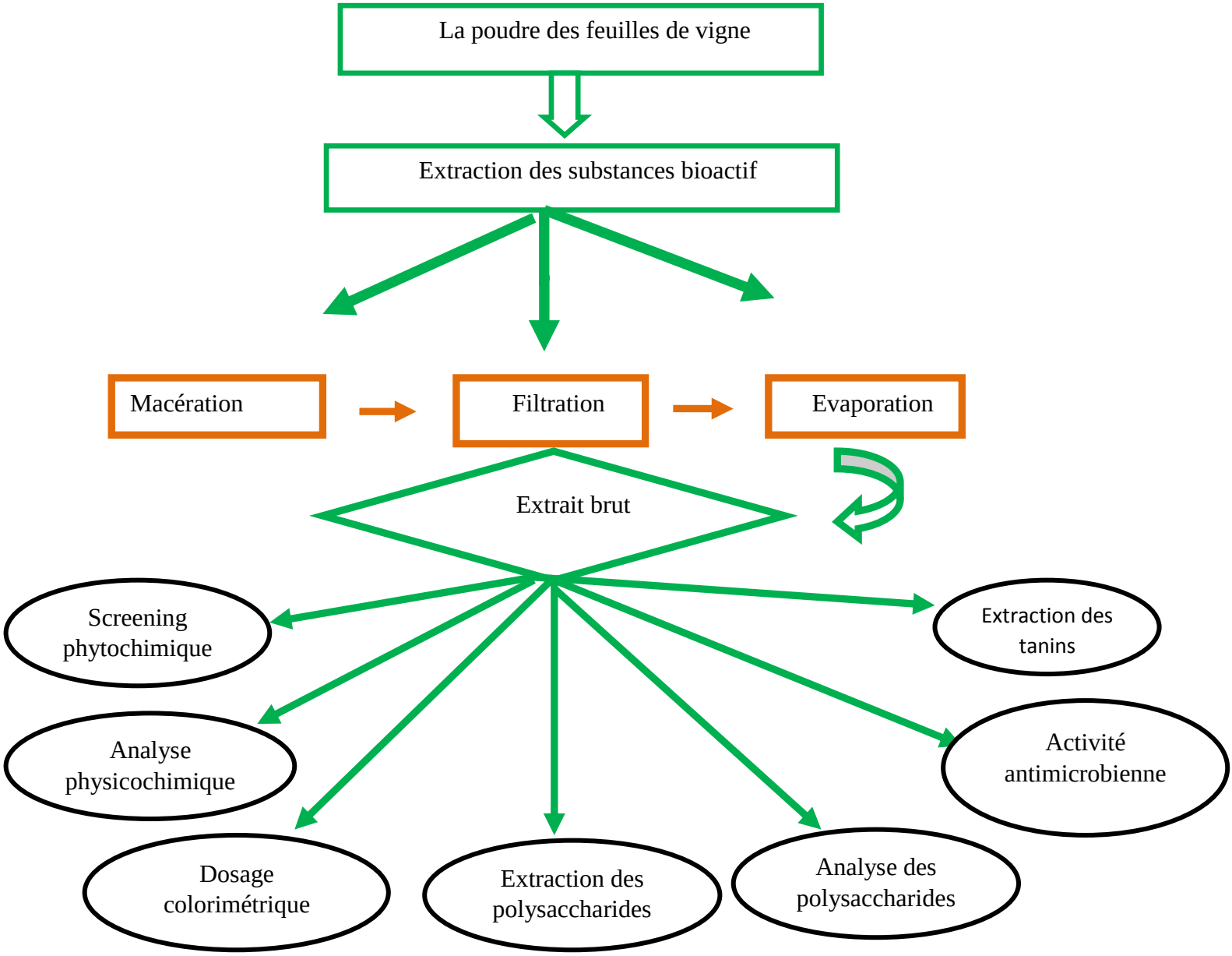


Figure 11 : Différentes expérimentations réalisées

IV.4.1. Analyse phytochimique

La mise en évidence des différentes classes des métabolites secondaires constituants la poudre des feuilles de *Muscat d'alexandrie* a été faite selon les méthodes standards de screening phytochimique (DOHOU *et al*., 2003 ; KUMAR *et al*., 2010).

C'est une analyse qualitative basée sur des réactions de précipitation et / ou de coloration qui permettent la révélation des métabolites secondaires

IV.4.3.1. Préparation de l'infusé

- 20 g de la poudre de feuilles de la vigne sont macérés dans 100 ml d'eau distillée ;
- Porter le mélange à l'ébullition pendant 15 min puis on filtre ;
- Le filtrat est ajusté à 100 ml d'eau distillée.

L'infusé ainsi obtenu a été utilisé pour la recherche des différents composés chimiques :

- ***Les anthocyanes***

Introduire dans un erlenmeyer 5 ml de l'infusé, puis on ajoute quelques gouttes d'HCl.

Une réaction positive donne une coloration rouge en présence des anthocyanes.

- ***Les tanins***

Quelques gouttes de la solution de $FeCl_3$ (5%) sont ajoutées à 5 ml de l'infusé.

La présence des tanins est révélée par une coloration bleue noire de la solution.

- ***Les tanins galliques***

On sature le filtrat par l'acétate de sodium (CH_3COONa), puis on lui ajoute quelques gouttes de $FeCl_3$.

La réaction est dite positive lorsque la coloration bleue foncée apparait.

- ***Les flavonoïdes***

5ml d'HCl, un copeau de Mg et 1 ml d'alcool iso butanol sont ajoutés à 5 ml de l'infusé.

La réaction est dite positive lorsque la coloration est rouge oranger.

- ***Les saponosides***

Dans deux tubes à essai fermés, on met dans l'un 5 ml d'HCl, dans l'autre 5 ml NaOH ;

On introduit dans chacun deux à trois gouttes de l'infusé, ensuite on l'agite verticalement pendant 30 secondes et laisser reposer 15 min.

Une réaction positive est déterminée par la présence ou non d'une mousse persistante.

Deux cas sont possibles :

1er cas : en présence des saponines stéroïdiennes, on obtient dans les deux tubes, le même volume de la mousse.

2emecas : Si la plante contient des saponines tri terpéniques, en milieu basique il y'aura formation d'une mousse quelque fois plus grande par stabilité et par volume.

- ***Les quinones libres***

2 ml d'HCl (1N) et 20ml de chloroforme sont ajoutés à 2 g de la poudre végétale, puis on laisse le mélange pendant 3 heures. Après filtration, on ajoute 5 ml d'ammoniaque (1/2).
La réaction est positive lorsque la coloration rouge violette apparait.

- ***Les quinones combinées***

5 ml d'H_2SO_4 (2N) ont été ajoutés à 2g de la poudre, on porte le mélange à reflux pendant 2 heures. Le mélange est filtré à l'aide d'un papier filtre, 20 ml de chloroforme sont ajoutés au filtrat, puis évaporer à sec, reprise par l'ammoniaque.
La réaction est dite positive lorsqu'une coloration rouge se manifeste.

- ***Les alcaloïdes***

20 ml d'ammoniaque (1/2) et 50 ml de mélange éther –chloroforme (3/2) ont été ajoutés à 5g de la poudre. Le filtrat est épuisé par HCl (2N).
L'identification des alcaloïdes a été réalisée grâce au réactif de Dragendroff qui donne un précipité rouge.

- ***Les glucosides***

Quelques gouttes d'H_2SO_4 ont été ajoutées à 2g de la poudre des feuilles de vigne.
Une coloration rouge brique ensuite violette se manifeste en présence de glucosides.

- ***Les coumarines***

20 ml (éthanol / eau distillée) sont ajoutés à 2g de la poudre. Bouillir le mélange pendant 15 min à reflux puis filtrer et laisser refroidir.
L'identification des coumarines se fait par l'ajout de 10 gouttes de la solution KOH (10%) à 3 ou 5 ml de filtrat et quelques gouttes d'HCl à 10% jusqu'à l'obtention d'un milieu fortement acide.
L'apparition d'un trouble indique la présence des coumarines.

- ***Les sennosides***

On introduit 2,5 g de la poudre de fruit dans une fiole conique plus 50 ml d'eau distillée plus 2ml d'HCl concentré. Chauffage au bain-marie pendant 15 min. Refroidir puis ajouter 40 ml d'éther.
On sépare la phase organique éthérée de la phase aqueuse. On sèche la phase éthérée sur sulfate de sodium anhydre ($Na_2SO_4H_2O$), ensuite on évapore. Lorsque le résidu est refroidi, on lui ajoute 5 ml d'ammoniaque (1/2).

La présence des sennosides est identifiée par une coloration jaune ou orange de la solution. Le chauffage de cette solution au bain- marie pendant 2 min donne une coloration violette rouge.

IV.4.2.Caractérisation physico-chimique

IV.4.2.1. Détermination de l'humidité (NFV03-903)

Le taux d'humidité est la quantité d'eau présentée à la fois sous forme libre et sous forme liée à des composés chimiques dans les cellules, tel que les hydrates de carbone et les protéines

Principe

Le séchage a été réalisé dans une étuve avec ventilation d'air de type Mammert à 105± 03°C.

Mode opératoire

La détermination de la teneur en eau se fait de la manière suivante :

- Peser les capsules en aluminium ;
- Tarer les capsules ;
- Peser dans chaque capsule 10g de l'échantillon, et les placer dans l'étuve pendant 1 heure ;
- Retirer les capsules de l'étuve, les placer dans un dessiccateur, après refroidissement, on les pèse, l'opération est répétée chaque 15 minute jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

Expression des résultats

La teneur en eau a été déterminée selon la formule suivante :

$$H(\%)\frac{M1-M2}{P}\times 100 \quad \text{.....(01)}$$

Soit :

H(%) : humidité

M_1 : masse de la capsule + la matière fraiche avant séchage en g ;

M_2 : masse de la capsule + la matière après séchage (g) ;

P : masse de la prise d'essai en g.

Matière sèche % : 100- H% .....**(02)**

IV.4.2.2. Mesure de pH (NF V 05-108,1997)

Principe

La détermination du pH par la méthode potentiometrique a été réalisée à l'aide d'un pH mètre.

Mode opératoire

- 4g de l'échantillon sont solubilisés dans 100ml d'eau distillée chaude ;
- Broyer le mélange et laisser refroidir ;
- Etalonner le pH mètre en utilisant une solution tampon ;
- Prélever un volume V de l'échantillon suffisamment important pour permettre l'immersion de l'électrode ;
- Noter ensuite la valeur du pH.

Remarque

Il faut rincer l'électrode avec l'eau distillée avant chaque mesure puis sécher à l'aide du papier absorbant.

IV.4.2.3 Détermination de la teneur en cendres (NF V 05-113,1972)

Par définition, le taux de cendres représente la quantité totale en sels minéraux présents dans un échantillon.

Principe

Chaque échantillon est calciné à 550°C dans un four à moufle jusqu'à obtention des cendres blanchâtres de poids constant.

Mode opératoire

- Dans des creusets en porcelaine, peser 10g de l'échantillon ;
- Placer les creusets dans un four à moufle fermé; la température est augmentée progressivement de manière à éviter une calcination violente de produit ce qui entrainerait des pertes maintenues à une température de 550°±15°C jusqu'à obtention d'une couleur blanchâtre de poids constant ;
- Retirer les creusets du four et les mettre à refroidir dans le dessiccateur, puis les peser.

Expression des résultats

La teneur en cendres est calculée par la formule suivante :

$$MO\% = \frac{M1-M2}{P} \times 100 \quad \text{.....(03)}$$

Soit :

MO : matière organique en (g) ;

M_1 : masse de creuset + la prise d'essai en (g) ;

M_2 : masse de creuset après incinération en (g) ;

P : masse de la prise d'essai (g).

$$Tc\% = 100 - MO\% \quad \text{.....(04)}$$

Soit :

Tc : Taux de cendres.

IV.4.2.4. Détermination des éléments minéraux (NFV05-113, 1972)

Principe

La minéralisation est la mise en solution des éléments suivants (Na, K, Mn, Fe, Zn, Cu, Cr, Ni, Cd, Mg, Pb).

Le but de la minéralisation est la reprise de cendres obtenues précédemment sous forme liquide (AUDIGIE et *al*., 1978).

Mode opératoire

- Après calcination de 10,5g de matière sèche (la poudre) récupérer les cendres obtenues ;
- Humecter lentement les cendres par 3 ml d'eau bi distillée et 3 ml d'acide chlorhydrique concentré pour assurer une franche réaction acide ;
- Chauffer sur une plaque chauffante douce sans dépasser 250°C jusqu'à apparition des premières vapeurs ;
- Laisser reposer quelques minutes ;
- Ajouter 1 ml d'eau bi distillée puis filtrer sur un papier filtre sans cendres dans une fiole jaugée de 100 ml, rincer 3 à 4 fois à l'eau bi distillée de 30 à 40°C ;

- Incinérer le papier filtre et son contenu pendant une demi-heure à 550°C au maximum dans le four à moufle ;
- Ressortir après refroidissement les capsules ;
- Humecter une deuxième fois par 5 ml d'acide chlorhydrique 37% ;
- Mettre les capsules pour une deuxième fois sur la plaque chauffante jusqu'à apparition des premières vapeurs ;
- Ajouter 1ml HCl ;
  - Ajouter 1 ml d'eau bi distillée puis filtrer sur un papier filtre sans cendres dans la même fiole jaugée 100 ml et laver avec de l'eau tiède ;
  - Amener à100 ml, complétant au trait de jauge après refroidissement avec l'eau bi distillée ;
  - Mettre 20 ml de cette solution dans des tubes à essai.
  - Réaliser l'atomisation à l'aide d'un atomiseur à flamme, la concentration de chaque élément est déterminée à l'aide d'une courbe d'étalon.

IV.4.2.5 Détermination de l'acidité titrable *(NF V 05-101,1974)*

Le principe de cette méthode consiste en un titrage de l'acidité avec une solution d'hydroxyde de sodium NaOH (0,1N) en présence de phénophtaléine comme indicateur de couleur.

Mode opératoire

- Peser 10g de l'échantillon ;
- Placer l'échantillon dans une fiole conique, puis on ajoute 70ml d'eau distillée récemment bouillie et refroidie, puis mélanger jusqu'à l'obtention d'un liquide homogène ;
- Chauffer le contenu au bain marie pendant 30mn ;
- Refroidir, transvaser quantitativement le contenu de la fiole conique dans une fiole jaugée de 100ml et compléter jusqu'au trait de jauge avec l'eau distillée, bien mélanger puis filtrer.
- Prélever 10ml du filtrat dans 10ml d'eau distillée ;
- Ajouter trois gouttes de phénolphtaléine et tout en agitant, titrer avec de la solution d'hydroxyde de sodium 0,1N jusqu'à l'obtention d'une couleur rose persistante pendant 30 secondes.

Expression des résultats

L'acidité titrable est calculée par la formule suivante :

$$A(\%) = \frac{175 \times V1}{V0 \times M} \quad \text{.....(06)}$$

Soit :

M : masse prélevée en gramme ;

V_0 : volume en ml de la prise d'essai ;

V_1 : volume en ml de la solution NaOH à 0,1N.

IV.4.2.6. Dosage des sucres

Pour ce dosage, on met en évidence trois catégories de sucres à savoir : les sucres totaux, les sucres réducteurs et le saccharose. Avant de commencer les dosages, on prépare les solutions de Fehling A et B et les deux filtrats (1) et (2) de compositions suivantes :

- ***Filtrat(1)***
  - Peser 10g de l'échantillon dans un bécher de 100ml ;
  - Ajouter 2,5ml d'acétate de plomb,
  - Remplir jusqu'au 2/3 du volume de bécher avec l'eau distillée ;
  - Agiter à plusieurs reprises et laisser reposer pendant 15min ;
  - Ajuster avec d'eau distillée à 100ml ;
  - Homogénéiser et filtrer sur un papier filtre et récupérer le filtrat.
- ***Filtrat (2)***
  - Prélever 50ml du filtrat(1) et ajouter 5ml d'HCl concentré ;
  - Chauffer le mélange au bain marine à 70°C pendant 5 min ;
  - Neutraliser avec NaOH (10N) en présence de phénolphtaléine à 1%.
- ***Dosage des sucres totaux***

Mode opératoire

- Prélever 5ml de la solution Fehling A et 5ml de la solution Fehling B;
- Ajuster jusqu'à 100ml avec l'eau de robinet ;
- Chauffer le contenu jusqu'à ébullition durant 2mn ;
- Titrer par le filtrat(2) obtenu jusqu'à la disparition de la couleur bleue ;

- Ajouter 2 gouttes de bleue de méthylène jusqu'à ce que la coloration bleue soit remplacée par une coloration marron cuivrée ;
- Noter le volume de filtrat(2) V_2.

Expression des résultats

La quantité des sucres totaux dans la prise d'essai est donnée par la formule suivante :

$$S_T = \frac{500}{V \times (V2 - 0{,}05)} \times 10 \quad \text{.....(07)}$$

Soit :

S_T : quantité des sucres totaux (g/100ml) ;

V : volume de la prise d'essai ;

V_2 : volume du filtrat(2) dépensé pour le titrage.

❖ ***Dosage des sucres réducteurs***

Mode opératoire

- Introduire 5ml de la solution Fehling A et 5ml de la solution Fehling B dans un bécher de 500ml ;
- Ajuster jusqu'à 100ml avec l'eau de robinet ;
- Chauffer le contenu jusqu'à l'ébullition durant 2mn ;
- Titrer par le filtrat(1) jusqu'à ce que la teinte bleue disparaitre ;
- Ajouter 2 gouttes de bleu de méthylène et continuer le titrage jusqu'à ce que la coloration bleue devienne rouge brique;
- Arrêter le titrage et noter le volume du filtrat(1) dépensé V_1.

Expression des résultats

La quantité de sucres réducteurs dans la prise d'essai est donnée par la formule suivante :

$$S_R = \frac{240}{V \times (V1 - 0.05)} \quad \text{.....(08)}$$

Soit :

S_R : quantité des sucres réducteurs (g/100ml) ;

V : volume de la prise d'essai (ml) ;

V_1 : volume du filtrat(1) utilisé au titrage.

❖ ***Taux de saccharose***

La quantité de saccharose est calculée selon la formule suivante :

$$S = (S_T - S_R) \times 0 \cdot 95 \quad \text{.....(09)}$$

Soit :

S : quantité de saccharose en g/l ;

S_T : quantité des sucres totaux en g/l ;

S_R : quantité des sucres réducteurs en g/l.

IV.4.2.7. Dosage de l'acide ascorbique

Le dosage direct par méthode iodométrique a été adopté.

Principe

Cette méthode est basée sur la réaction d'oxydation de l'acide ascorbique par l'iode en milieu acide.

Mode opératoire

- Prendre 50ml de filtrat ;
- Ajouter 3ml de l'acide sulfurique (H_2SO_4) à 0,1N et quelques gouttes d'amidon à 0,5% comme indicateur coloré ;
- Titrer le mélange par une solution d'iode à 0,05% jusqu'à l'apparition de la couleur bleue.

Expression des résultats

La quantité d'acide ascorbique que contient 1l de filtrat est donnée par la formule suivante :

$$Y = N \times 20 \times 4 \quad \text{D'acide ascorbique par litre} \quad \text{.....(10)}$$

Soit :

N : nombre de ml d'iode versés ;

Y : la quantité de la vitamine C dans l'échantillon (mg/l).

IV.4.3. Dosage des polyphénols totaux

Principe

Les polyphénols ont été déterminés par spectrométrie selon la méthode de Folin-ciocalteu (SINGLETON et *al.*1999). Ce réactif de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3 PW_{12} O_{40}$) et l'acide phosphomolybdique ($H_3 PMo O_{40}$).

Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-ciocalteu en un complexe ayant une couleur constitue d'oxyde de tungstène ($W_8 O_{23}$) et de molybdène ($Mo_8 O_{23}$), l'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés (BIOZOT et CHARPENTIER, 2006).

Mode opératoire

Le matériel végétal broyé (10g) est soumis à une extraction par macération dans deux solvants, l'eau distillée et l'éthanol (50 ml) pendant 72 h puis les extraits sont filtrés.

Les étapes respectées pour le dosage des polyphénols sont présentées dans le diagramme suivant :

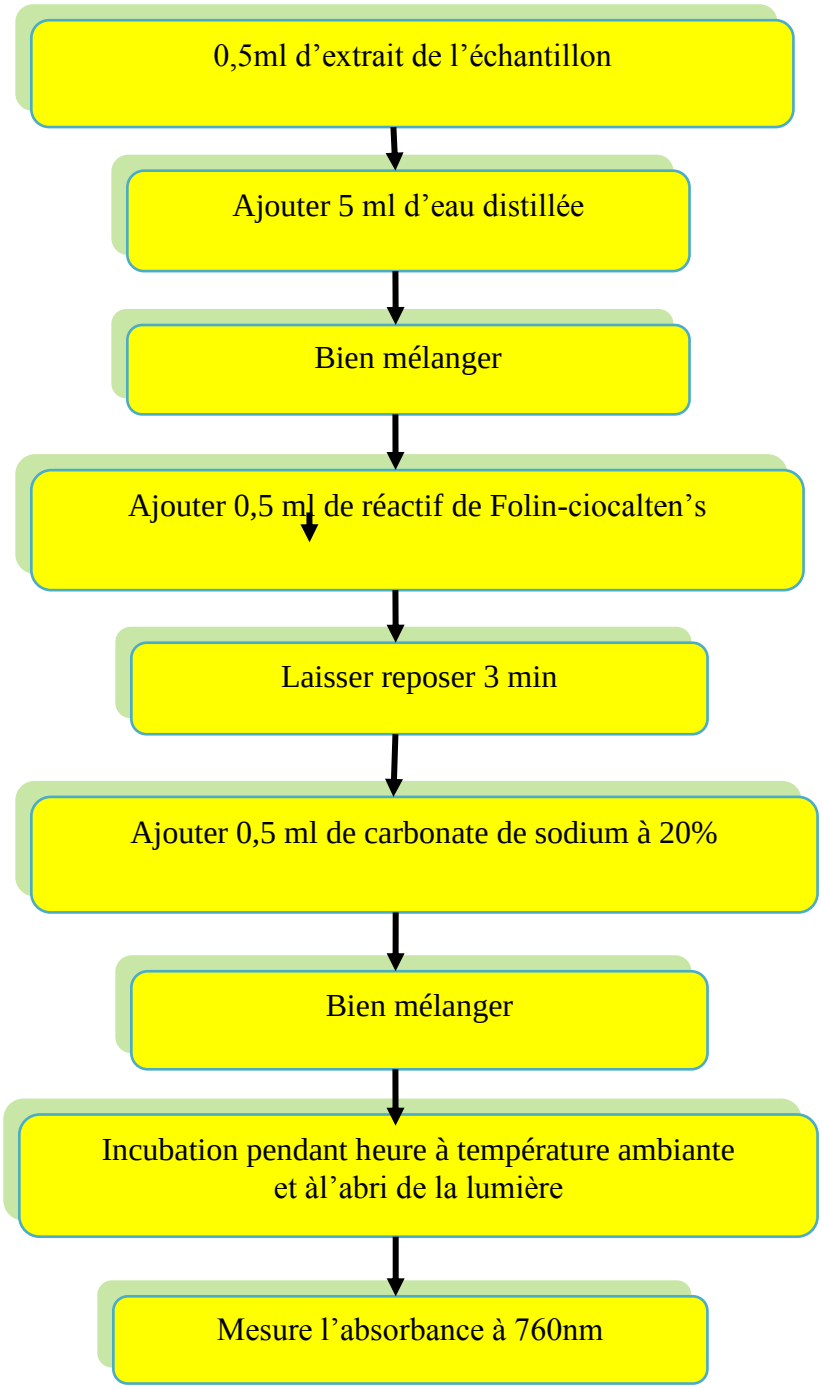


Figure 12 : diagramme de dosage des polyphénols totaux (SINGLETON *et al.*1999)

- ***Courbe d'étalonnage***

La concentration en composés phénoliques totaux est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard d'étalonnage.

Une courbe d'étalonnage a été établie en utilisant l'acide gallique comme standard (annexe 03).

Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en milligramme d'Equivalent d'Acide Gallique par gramme de matière sèche de feuilles utilisées (mg EAG /g MS).

IV.4.4 Dosage des flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ décrite par KOSALEC *et al* ., (2004) a été adoptée pour quantifier les flavonoïdes dans les différents extraits de la poudre des feuilles de vigne (aqueux et ethanolique).

Le diagramme ci-dessous montre les différentes étapes respectées pour doser les flavonoïdes.

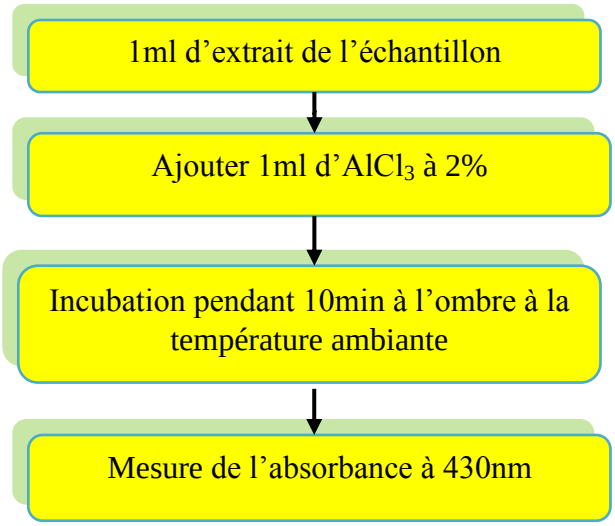


Figure 13 : Etapes de dosage des flavonoïdes (KOSALEC *et al*., 2004)

- ***Courbe d'étalonnage***

La quantification des flavonoïdes se fait en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée en utilisant la quercetine comme un flavonoïde standard (annexe 04).

Expression des résultats

La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme d'équivalent de quercetine par gramme de poids sec de l'extrait.

IV.4.5. Extraction des tanins par des solvants

Dans cet essai l'extraction a été faite en réalisant deux types de macération ; la première, dans l'éther diéthylique pour éliminer les phénols, les catéchines et l'acide oxybutyrique, la deuxième, dans le méthanol pour récupérer l'extrait méthanolique des tanins (BRUNETON, 1999 ; BIAYE, 2002). Les étapes sont présentées dans le diagramme ci-dessous.

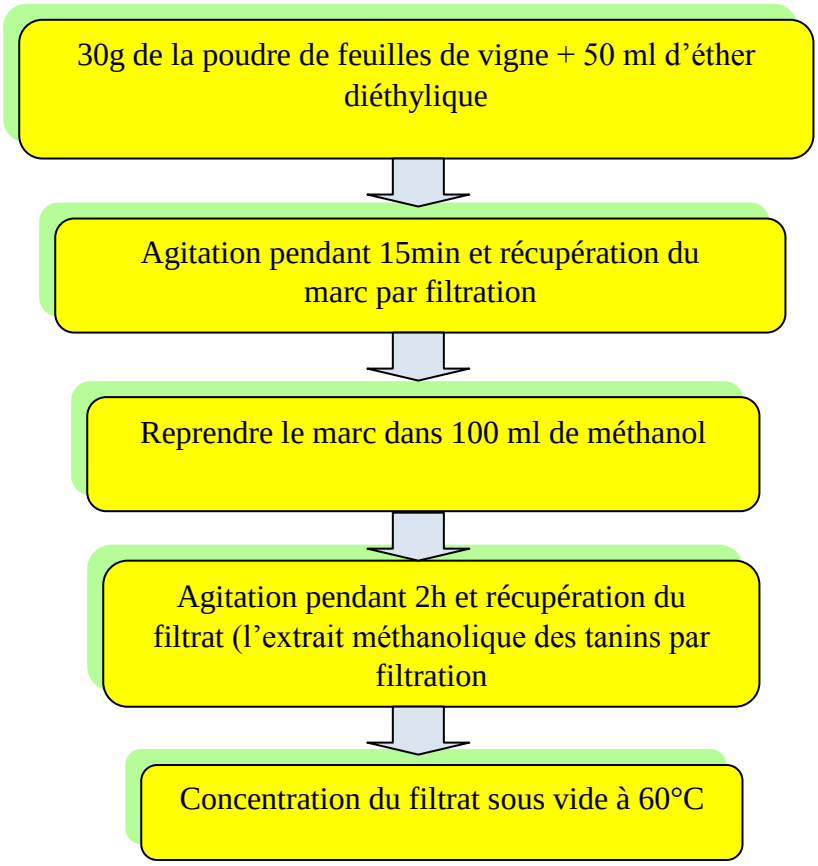


Figure 14 : Etapes d'extraction des tanins par solvants (BIAYE, 2002).

Expression des résultats

Le rendement d'extraction désigne la masse de l'extrait déterminée après évaporation du liquide, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de l'échantillon soumis à l'extraction. Le rendement est calculé selon la formule donnée par FALLEH et ses collaborateurs en 2008.

$$R(\%) = \frac{Mext}{Méch} \times 100 \quad \text{.....(11)}$$

Soit :

R(%) : rendement en pourcentage ;

Mext : la masse de l'extrait après évaporation du solvant en g ;

Méch : la masse de l'échantillon utilisé en g.

L'extraction a été réalisée en triplicat, la moyenne des trois essais a été calculée pour chaque extrait.

IV.4.6. Indice de gonflement

Principe

L'indice de gonflement est le volume, en millilitres, qu'occupe 1g de poudre gonflée dans l'eau, y compris le mucilage qui y adhère. Ce paramètre confirme la présence des polysaccharides (mucilages, gommes) dans la poudre végétale.

Mode opératoire

- Dans une éprouvette graduée à bouchon rodé, de 20 cm de hauteur sur 20 mm de diamètre, introduire 1g de poudre pulvérisée.
- Humecter la drogue avec 1ml d'alcool et ajouter 25 ml d'eau.
- Agiter énergiquement toutes les 10 min pendant 1h.
- Laisser reposer pendant 3h.
- Mesurer le volume occupé par la poudre. Effectuer 3 essais simultanément.

L'indice de gonflement est donné par la moyenne des 3 essais.

$$\mathbf{IG = (V1 + V2 + V3)/3} \quad \text{..... (12)}$$

IG : Indice de gonflement.

V1, V2, V3 : Les volumes occupés par la poudre dans les trois essais.

Les plantes à mucilages possèdent un indice de gonflement supérieur ou égal à 10 (PARIS,2007).

IV.4.7. Extraction de la matière grasse par Soxhlet

La méthode de Soxhlet est la méthode de référence utilisée pour la détermination de la matière grasse dans les aliments solides déshydratés. C'est une méthode gravimétrique, puisqu'on pèse l'échantillon au début et la matière grasse à la fin de l'extraction.

Principe

Le principe consiste à effectuer une extraction par un solvant organique à l'aide de dispositif Soxhlet d'une capacité de 250 ml. La poudre est épuisée en matière grasse par le passage des

solvants. On estime qu'une extraction est totale au bout de 6 heures. Le solvant utilisé est : l'Hexane. Une fois l'extraction terminée les solvants sont éliminés à l'aide d'un Rota vapeur.

Cette extraction repose sur le principe suivant : les composés apolaires comme les corps gras sont insolubles dans les composés polaires comme l'eau, mais solubles dans les solvants apolaires tels que l'Hexane. Le point d'évaporation de l'Hexane étant inférieure à celui des matières grasses à extraire, il est donc très facile de les séparer par chauffage.

Mode opératoire

- Peser 38g de la poudre des feuilles de *Muscat d'alexandrie*.
- Introduire l'échantillon dans une cartouche en cellulose qui est perméable au solvant et la couvrir avec du coton sec.
- Mettre la cartouche dans l'appareil extracteur de "Soxhlet". Ce dernier est muni d'un réfrigérant par le haut, d'un ballon et d'un chauffe ballon par le bas.
- Verser la quantité nécessaire de solvant (250 ml d'Hexane).
- Conduire le chauffage dans des conditions telles que le débit du reflux soit au moins de 3 gouttes à la seconde. Le solvant va s'évaporer puis réfrigéré, et le liquide tombe sur la substance à épuiser d'une façon à ce que la cartouche soit immergée. Lorsque la partie intermédiaire est suffisamment remplie de solvant, le siphon s'amorce et le solvant contenant la substance à extraire retourne dans le ballon chargé en lipides.
- Après la durée nécessaire, on récupère la cartouche, d'une part, et le solvant et l'extrait, d'une autre part.
- La solution obtenue est passée dans le Rota Vapeur pour chasser par distillation la majeure partie du solvant, ce qui permet de récupérer les lipides seuls (la température d'ébullition des lipides est plus élevée que celle de l'Hexane qui s'évapore le premier).
- Eliminer les dernières traces du solvant en chauffant le ballon pendant 20 mn à 103°C.
- Peser le ballon.

  Remarque : Il est important de rajouter quelques grains de carborundum (cristal de carbure de silicium SiC) ou de pierre ponce dans le mélange pour éviter une élévation de la température sans ébullition.

Expression des résultats

La teneur en matière grasse totale exprimée en pourcentage de masse de produit, est donnée par la formule suivante :

$$MG = \frac{(M2 - M1)}{M0} \times 100 \quad \text{.....(12)}$$

Soit :

MG : la matière grasse en pourcentage.

M_0 : la masse en gramme de la prise d'essai.

M_1 : la masse en gramme du ballon.

M_2 : la masse en gramme du ballon plus le résidu.

- **Estérification**

Le profil d'acides gras des feuilles de *Muscat d'alexandrie* a été déterminé par la chromatographie-phase gazeuse (C.P.G) au niveau de l'ENSA El-Harrach (Alger). Les conditions opératoires respectées pour cette analyse mentionnées dans l'annexe (09)

- **Principe**

Les esters méthyliques se forment par transestérification dans une solution méthanolique d'hsydroxyde de potassium comme phase intermédiaire avant la saponification.

Cette méthode rapide est applicable aux huiles ayant une teneur en acides gras libres inférieure à 3,3%. Les acides gras libres ne sont pas estérifiés par l'hydroxyde de potassium. Les esters éthyliques d'acides gras se transestérifient plus lentement que les esters glycéridiques et il est possible qu'ils ne se méthylent que partiellement.

- **Mode opératoire**

Dans une éprouvette à bouchon vissant de 5 ml, peser environ 0,1 g de l'échantillon d'huile. Ajouter 2 ml d'heptane ou hexane et agiter. Ajouter 0,2 ml de la solution méthanolique 2 N d'hydroxyde de potassium, boucher à l'aide du bouchon muni d'un joint en PTFE, bien fermer et agiter énergiquement pendant 30 secondes. Laisser reposer jusqu'à ce que la partie supérieure de la solution devienne claire. Décanter la couche supérieure, qui est celle qui contient les esters méthyliques. La solution d'heptane est prête pour l'injection dans le chromatographe.

Remarque : Il est conseillé de maintenir la solution au réfrigérateur jusqu'au moment de l'analyse chromatographique. Il n'est pas recommandé de stocker la solution pendant plus de 12 heures.

IV.4.8. Analyse de la granulométrie

Principe

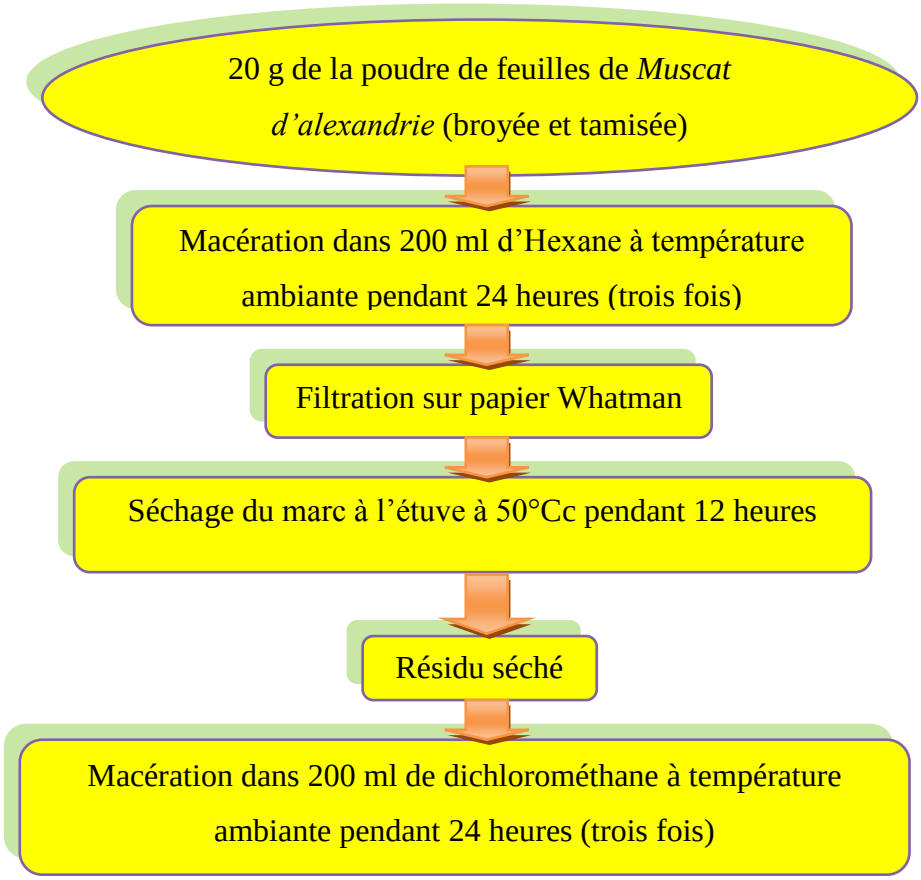
C'est une méthode indirecte qui consiste à déterminer la répartition granulométrique par la technique de diffraction de la lumière laser après mise en suspension de l'échantillon dans un dispersant (MASTERSIZER 2000).

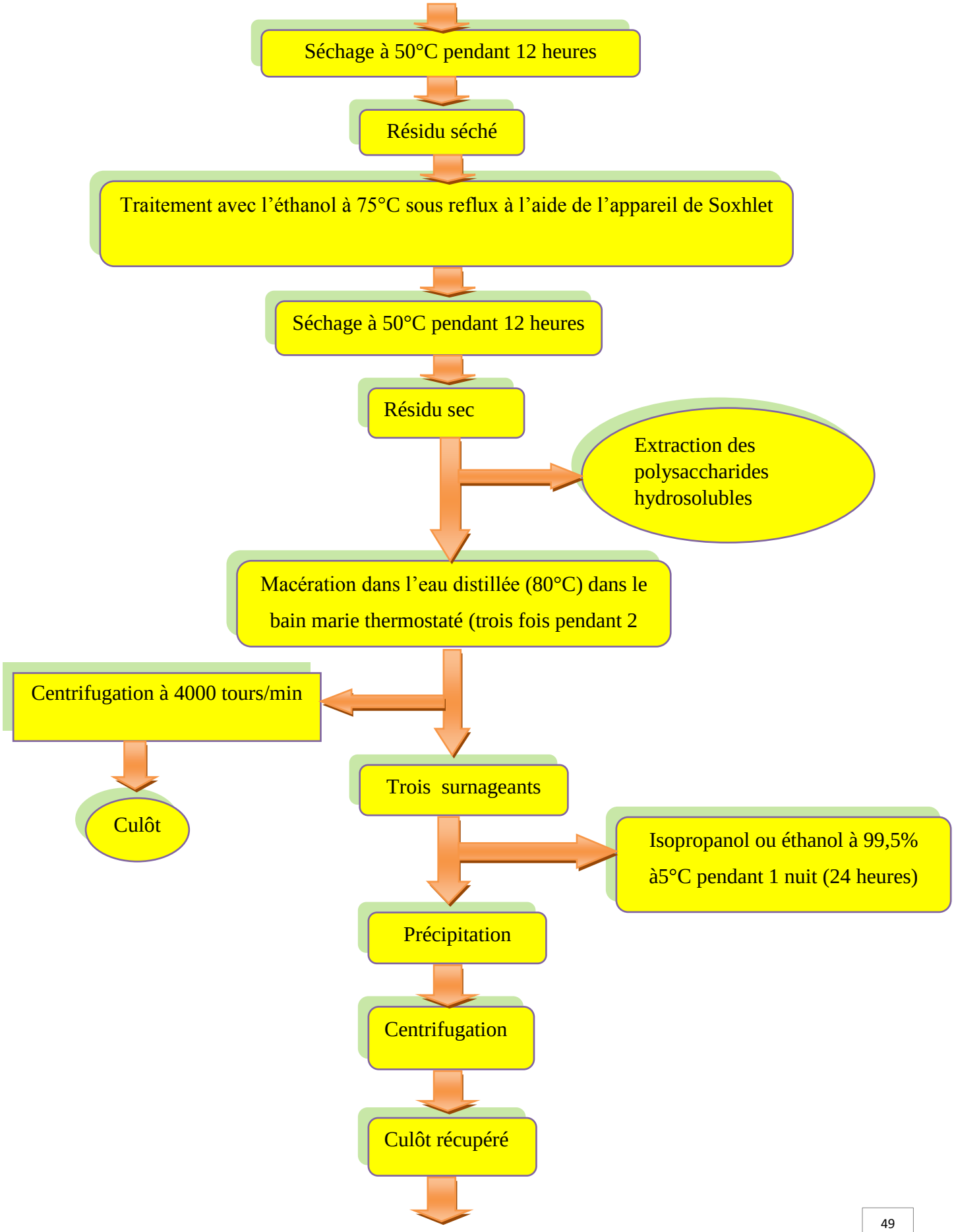
Les particules passant devant un faisceau de laser, provoquant une déviation de la lumière.

La quantité de la lumière déviée est proportionnelle à la taille des particules. Ce type d'appareil permet de mesure des particules sphériques à partir de 0,05µm. Cette analyse a été réalisée à la faculté des Sciences de l'Ingénieur de l'Université de Boumerdes.

IV.4.9. Extraction des polysaccharides hydrosolubles

Les différentes étapes d'extraction des polysaccharides hydrosolubles à partir des feuilles de *Muscat d'alexandrie* sont décrites sur la figure (15).




Séchage à 50°C pendant 12 heures
Résidu séché
Traitement avec l'éthanol à 75°C sous reflux à l'aide de l'appareil de Soxhlet
Séchage à 50°C pendant 12 heures
Résidu sec
Extraction des polysaccharides hydrosolubles
Macération dans l'eau distillée (80°C) dans le bain marie thermostaté (trois fois pendant 2
Centrifugation à 4000 tours/min
Culôt
Trois surnageants
Isopropanol ou éthanol à 99,5% à5°C pendant 1 nuit (24 heures)
Précipitation
Centrifugation
Culôt récupéré

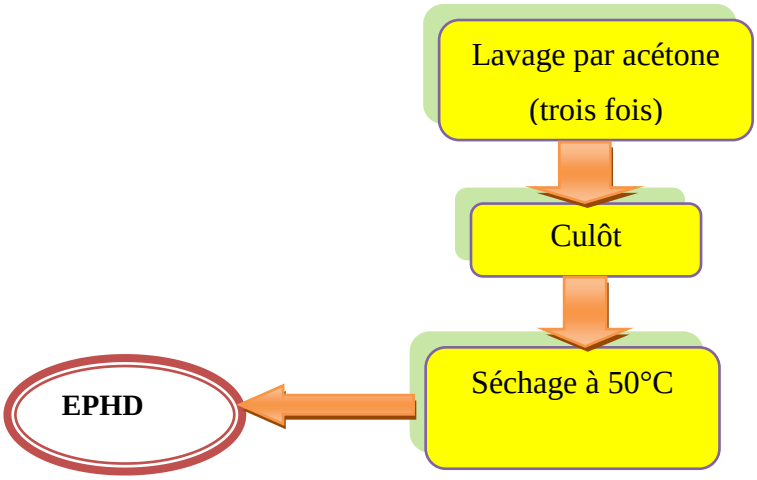


Figure 15: Protocole d'extraction des polysaccharides hydrosolubles à partir de la de la poudre de feuilles de *Muscat d'alexandrie*.

Expression des résultats

Le rendement d'extraction désigne la masse de l'extrait polysaccharidique par rapport à la masse initiale de l'échantillon soumis à l'extraction. Le rendement brut est calculé selon la formule suivante :

$$R(\%) = \frac{Mpoly}{Méch} \times 100 \quad \text{.....(13)}$$

Soit :

R(%) : rendement en pourcentage ;

Mpoly : la masse de l'extrait polysaccharidique en g ;

Méch : la masse de l'échantillon utilisé en g.

IV.4.9.1Protocole de gélification

Trois types de gels ont été préparés à savoir :

Gel 1: Introduire 0,2g de la poudre de polysaccharides hydrosolubles dans un bécher, puis ajouter 4ml d'eau, puis on chauffe le mélange à 60°C avec agitation.

Gel 2 : 4ml d'une solution sucré (10%) sont ajoutés à 0,2 g de la poudre des polysaccharides hydrosolubles puis on chauffe le mélange à 60°C avec agitation.

Gel 3 : Mettre dans un bécher 0,2g de la poudre de polysaccharides hydrosolubles, puis ajouter 4 ml de solution à base de carraghénane (4%) puis on chauffe le mélange à 60°C avec agitation

IV.4.9.2. Analyse des groupements fonctionnels par Infra-Rouge

La spectrométrie Infra-Rouge est une méthode d'analyse physique rapide, simple à mettre en œuvre et ne nécessitant que peu de quantité de matière à analyser. Basée sur l'excitation des molécules par des radiations Infra-Rouge, elle est employée tout aussi facilement sur des échantillons bruts ou purifiés.

L'absorption des rayonnements de nombres d'ondes comprises entre 4000 et 400cm^{-1} en tant qu'énergie de vibration moléculaire modifie à la fois des états de rotation et de vibration des molécules (BERTRAND et DUFOUR, 1987).

Les profils des spectres IR ainsi que les intensités relatives des bandes d'absorption obtenues lors de l'analyse des polysaccharides de même structure sont similaires.

Certains groupements ou liaisons, considérés comme marqueurs peuvent révéler la présence de molécules associées (acides féruliques, lignines, protéines) ou de certaines catégories de polysaccharides et notamment les fonctions acides carboxyliques des acides galacturoniques, qui peuvent révéler la présence des pectines (KACURAKOVA et *al*., 2000).

Le spectre IR des polysaccharides hydrosolubles des feuilles de *Musca td'alexandrie* a été réalisé au niveau du laboratoire de Hasnaoua.

IV.4.10. Activité antimicrobienne

L'activité Antimicrobienne a été évaluée sur :

- ✓ Les extraits phénoliques (aqueux et éthanoïques) ;
- ✓ Les extraits polysaccharidiques (aqueux et éthanoïques);
- ✓ Les tanins.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne de notre extrait à été faite sur 4 souches microbiennes. Pour évaluer cette activité, nous avons adapté la méthode de diffusion sur un milieu gélosé en utilisant des disques stériles en cellulose selon la méthode décrite par BENJELALI et *al*., (1986).

Le principe de la méthode repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu solide dans une boite de Pétri, avec création d'un gradient de concentration après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible. L'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre

d'inhibition la souche sera qualifiée de sensible, très sensibles, extrêmement sensible ou résistante.

- **Préparation des milieux de culture**

Les milieux de culture utilisés pour réaliser cette activité suivante :

La gélose Mueller Hinton(MH) a été utilisée pour les souches bactériennes, la gélose Sabouraud a été utilisée pour les souches fongiques. La composition des deux milieux est présentée dans l'annexe (06).

- **Préparation des disques**

Des disques de papier Wattman de 6mm de diamètre ont été préparés, ensuite sont mis dans un tube à essai, le tube est stérilisé dans un autoclave et conserver jusqu'à leur utilisation.

- **Préparation des prés cultures**

Les souches bactériennes ont été cultivées dans des boites Pétri contenant de la gélose nutritive et incuber pendant 18 à 20 h à 37°C. De même, la souche fongique a été cultivée dans un boite de Pétri contenant le milieu Sabouraud et incubée à 28°C pendant 5 à 7 jours. À la fin de l'incubation, on obtient des cultures jeunes de colonies isolées.

- **Standardisation des suspensions bactériennes**

A l'aide d'une pipette Pasteur, nous avons prélevé quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques que l'on mise dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9% de sel (NaCl). La suspension bactérienne est bien homogénéisée.

L'absorbance (densité optique) de chaque suspension est mesurée à une longueur d'onde de 620nm et doit être comprise entre 0,08 et 0,1 ; cela selon BENHAMMOU et *al*., (2008).

- **Mise en évidence de l'activité antibactérienne par la méthode des disques**

Les disques préparés sont imbibés de 10 µl de chaque extrait. Par ailleurs, la gélose de Mueller-Hinton stérile a été coulée dans des boites de Pétri de 90 mm de diamètre jusqu'à une épaisseur de 4 mm puis laissée refroidir.

Des boites de Pétri stériles préalablement coulées, sont ensemencées par écouvillonnage à l'aide d'un écouvillon chargé de la suspension bactérienne, en tournant chaque fois la boite d'environ 60° de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries.

A l'aide d'une pince stérile, les disques de papier filtre contenant les produits à tester sont déposés à la surface de la gélose.

L'activité antimicrobienne est déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques après la durée d'incubation à la température de germe testé.

- **Lecture**

La lecture se fait par la mesure des diamètres des zones d'inhibition et peut être symbolisée par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis de l'extrait (PONCE et *al*, 2003).

- Souche non sensible (-) ou résistante : diamètre < à 8 mm ;
- Souche sensible (+) : diamètre compris entre 9 et 14 mm ;
- Souche très sensible (++) : diamètre compris entre 15 et 19 mm ;
- Souche extrêmement sensible (+++) : diamètre > à 20 mm.

Chapitre V :

Résultats et discussion

V.1 Résultats d'analyse phytochimique des feuilles de *Muscat d'alexandrie*

L'analyse phytochimique des feuilles de *Muscat d'alexandrie* est une étape préliminaire et d'une grande importance, puisqu'elle révèle la présence des constituants bioactives responsables des vertus thérapeutiques. Les résultats de cette analyse sont portés dans le tableau suivant et l'annexe (2).

Tableau IV : Résultats des tests phytochimiques effectués sur la poudre des feuilles de *Muscat d'alexandrie*

Métabolites secondaires	Quantité dans les feuilles
Anthocyanes	-
Tanins	+++
Tanins galliques	+++
Flavonoïdes	-
Saponosides	-
Quinones libres	-
Quinones combinées	-
Alcaloïdes	+++
Glucosides	-
Coumarines	-
Sennosides	-

(+++) : Abondance ; (++) : Moyen ; (+) : Faible ; (-) : Absence

Nous constatons d'après ces résultats que les feuilles de la vigne étudiée sont très riches en tanins, tanins galliques et alcaloïdes. Néanmoins, les autres composés sont quasiment absents.

En comparant ces résultats à ceux signalés par AMARA., MELOUK, (2016) caractérisant une autre variété de vigne *Vitis vivifera sylvestris*, ont trouvé les mêmes composés (tanins, tanins galliques, alcaloïdes) et ont noté l'absence des flavonoïdes et saponosides.

En effet, la composition chimique et le rendement varient suivant divers conditions de l'environnement climatique, la localisation, l'origine géographique et la période de récolte (SVOBODA et HAMPSON, 1999).

Selon REYNIER (1991), une variété de vigne soumise à des environnements différents aura un comportement différent est donnera lieu à une production différente en métabolites secondaires tant en quantité qu'en qualité. Les types et les concentrations des métabolites secondaires dépendent d'un certain nombre de facteurs : le stade de maturation, le sol, les conditions climatiques, la culture de la vigne et le traitement auquel est soumise (BOUSTITA et *al*. 2007).

Les résultats de cette analyse nous a donné une bonne prévision concernant l'activité biologique des feuilles de vigne.

V.2 Résultats de la caractérisation physico-chimique

Les résultats de quelques paramètres physico-chimiques de la poudre de feuilles de *Muscat d'alexendrie* sont présentés dans le tableau V. Ils sont présentés sous forme de la moyenne de deux essais ± l'écart-type (ET).

Tableau V : Résultats de quelques paramètres physico-chimiques caractérisant la poudre de *Muscat d'alexendrie*

Paramètres		Teneurs (moyenne ± ET)
pH à 20°C		4,70±0,275
Humidité(%)		10,74 ± 1,046
Taux de cendres (%)		01,88 ± 0,185
Acidité titrable (g/ 100g)		11,84 ± 0,155
Vitamine C (mg/l)		-
Sucres (g/l)	Sucres totaux	3,37 ± 0,152
	Sucres réducteurs	0,23 ± 0,137
	Saccharose	2,98 ± 0,141

Les résultats présentés dans le tableau (V) démontrent que, la valeur de pH enregistrée est acide de même la valeur de l'acidité titrable est élevée. L'acidité peut s'expliquer d'une part par la richesse en acides organiques (ELYAH, 2003) et d'autre part le stade de récolte des feuilles.

La poudre des feuilles récoltées présente une humidité plus au moins élevée (10,74%). Cette humidité est liée à la période d'entreposage. Pour mieux conserver les constituants actifs de cette poudre il serait intéressent de réaliser au préalable un séchage doux des feuilles à l'air libre dans un endroit sombre, abrité, et bien aéré. La température ne devant pas dépasser les 37°C (NOGARET-EHRHART, 2003).

CATIER et ROUX, (2007) déclarent qu'une plante médicinale mal conservée perd en parties sa valeur thérapeutique, il faut donc éliminer au cours du stockage l'action d'un certains nombre de facteurs parmi lesquels : l'humidité (propice à la détérioration des principes actifs et au développement de moisissures).

Selon ROSEMONT (2017), le séchage est l'une des méthodes privilégiées pour conserver des herbes durant de longues périodes, tout en préservant leurs propriétés.

V.3 Résultat de la composition chimique

Les résultats d'analyse de la composition chimique des feuilles de *Muscat d'alexandrie* sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau V I : Composition chimique de la poudre des feuilles de *Muscat d'alexandrie*

Minéraux	Teneur (ppm)
Na	5039,532
Zn	26,5124
Fe	47,240
Pb	10,78
K	1714,330
Cd	-
Cr	-

Les résultats présentés dans le tableau (VI) révèlent que la poudre des feuilles de *Muscat d'alexandrie* contiennent des teneurs élevées en macro-éléments essentiels à l'organisme (sodium et potassium). Ces feuilles peuvent répondre à des désordres que l'être humain souffre.

En effet, le sodium maintien la pression osmotique du liquide extracellulaire et l'équilibre hydrique, il intervient dans la transmission de l'influx nerveux et la contraction musculaire. Le potassium règle la teneur en eau de la cellule, il joue un grand rôle dans la transmission de l'influx nerveux et dans la contractilité cardiaque.

D'autre part, on observe des teneurs relativement faibles en zinc, fer et plomb. En ce qui concerne la toxicité par les métaux lourds, les feuilles analysées ne présentent aucune surdose en métaux toxiques (chrome et cadmium).

Cette variation en composition minérale peut être attribuée à la nature du microclimat, de la composition du milieu de culture et de l'espèce elle-même.

Nous pouvons conclure de cette analyse que la feuille de *Muscat d'alexandrie* peut être potentiellement utilisée pour traiter certaines carences en minéraux.

V.4. Résultats d'analyse quantitative des composés phénoliques

Les résultats des teneurs en PPT et en flavonoïdes sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau VII : Résultats de dosage des PPT et des flavonoïdes des extraits de la poudre des feuilles *Muscat d'alexandrie*

Extraits	Ethanolique	Aqueux
Teneur en polyphénols totaux (mg EAG/ gMS)	16,27 ± 0,128	17,57 ± 0,222
Teneur en flavonoïdes (mg EQ/ g MS)	12,55 ± 0,689	10,23 ± 0

Il ressort du tableau (VII) que, les deux solvants d'extraction utilisés donnent presque les mêmes taux en PPT. Selon JAKOPIC et *al*, (2009), l'efficacité de l'extraction des composés phénoliques dépend du type de solvant et les taux élevés en polyphénols sont obtenus utilisant le méthanol, l'éthanol et leurs mélanges appropriés avec l'eau.

La petite variation peut être expliquée par les conditions expérimentales au laboratoire, type d'extraction (macération, infusion …..), le degré de pureté et le volume d'alcool utilisé. Il est à signaler que, le réactif de Folin-Ciocalteu n'est pas spécifique aux polyphénols. Cependant, beaucoup de composés peuvent réagir avec ce réactif (TAWAHA et *al*., 2007).

L'extrait éthanolique contient la meilleure teneur en flavonoïdes que l'extrait aqueux.

Les taux d'extraction des composés phénoliques (PPT et flavonoïdes) sont affectés par la taille de grain de la poudre de feuilles de raisin qu'est de l'ordre de 498,474µm.

En générale, plus la taille des particules est petite plus le transfert de matière est meilleur. Néanmoins, cette théorie n'est pas valable dans le cas de notre poudre.

Ceci peut s'expliquer par plusieurs facteurs tels que : la nature biochimique des particules et la structure des particules (la perméabilité).

Les résultats d'extraction des tanins à partir des feuilles de *Muscat d'alexandrie* sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau VIII : rendement d'extraction des tanins à partir des feuilles sèche de *Muscat d'alexandrie.*

Matière sèche (g)	Rendement d'extraction en tanins (%)	Couleur
30g	7%	Vert foncé

Les tanins obtenus présentent l'aspect d'une gelée colorée en vert foncé en utilisant le méthanol comme solvant d'extraction. Le rendement en tanins est de 7 % est plus au moins faible, malgré que SUN et *al* (2007), ont suggéré que, le méthanol comme un meilleur solvant d'extraction des tanins.

Le rendement en tanins obtenu est faible à celui que présentent les feuilles de la variété *Vitis vinefira sylvestris* (12,33%) (AMARA et MELOUK, 2016).

La teneur en tanin varie avec l'espèce végétale et ces variations peuvent être liées d'une part au degré de maturation et d'autre part au site de récolte (BONNER, 1974).

V.5 Résultats d'extraction des polysaccharides hydrosolubles

L'extraction des polysaccharides hydrosolubles à partir des feuilles de *Muscat d'alexandrie* en utilisant l'hexane et dichlorométhane a permis d'éliminer la fraction de la chlorophylle des feuilles. Notons bien que nous avons obtenu un rendement d'extraction de 2,66% de la masse de poudre des feuilles sèche (Tableau IX).

Tableau IX: rendement d'extraction des polysaccharides hydrosolubles des feuilles sèches de *Muscat d'alexandrie.*

Matière sèche (g)	Rendement d'extraction(%)	Couleur
30	2,66 ± 0,577	Jaune claire

Le rendement obtenu est faible à cause des conditions d'extraction. Ceci peut être dû au pH et la température des milieux d'extraction qui influencent sur le rendement massique d'extraction (EBRINGEROUA et *al*, 2003).

Certes, le rendement massique des polysaccharides hydrosolubles extraits des feuilles de vigne dépend de l'état éco-physiologique (période de récolte) de la plante (BUCKERIDGE et *al*., 2000). De même, le type de polysaccharides et les étapes d'extraction comme la décoction, la macération, le type et la quantité de solvant utilisé, etc. (EBRINGEROUA et *al*., 2003). Selon ces mêmes auteurs, l'extraction faible en ces composés peut être expliquée par l'état physiologique des plantes sachant que les polysaccharides sont des métabolites primaires donc ils sont utilisés comme des précurseurs d'autres métabolites secondaires, comme source d'énergie.

Les paramètres physico-chimiques (pH et l'acidité) de l'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles des feuilles de *Muscat d'alexandrie* sont résumés dans le tableau ci-dessous. Ils sont présentés sous forme de la moyenne de deux essais ± l'écart-type (ET).

Tableau X : pH et acidité des polysaccharides hydrosolubles extraits de la poudre des feuilles de *Muscat d'alexandrie*.

Paramètres	Poudre des polysaccharides hydrosolubles extraits feuilles de vigne
pH à 20°C	6,35 ± 0,212
Acidité titrable (g/ 100g)	26,73 ± 1,718

Nous constatons d'après le tableau (X) que, les polysaccharides hydroslubles des feuilles de vigne se caractérisent par un pH proche de neutralité et une acidité plus au moins importante. L'acidité élevée peut être est liée à la composition riche en acides organiques (ELYAH, 2003). De même, l'opération de séchage affecte positivement cette acidité.

V.6. Résultats d'extraction de la matière grasse

Les résultats d'extraction de la matière grasse à partir des feuilles de *Muscat d'alexandrie* sont récapitulés dans le tableau XI.

Tableau XI: rendement d'extraction de la matière grasse à partir des feuilles sèches de *Muscat d'alexandrie.*

Matière sèche(g)	Rendement d'extraction de la matière grasse(%)	pH à 20°C	Couleur
38 g	5,789%	5,12	Vert foncé

Analysant les résultats présentés dans le tableau (XI), nous pouvons conclure que les feuilles de vigne présentent une matière grasse acide et le rendement de celle-ci reste faible.

Les acides gras de cette matière grasse sont analysés par la Chromatographie en Phase Gazeuse (C.P.G). Ainsi, les pourcentages des composants identifiés sont illustrés dans le tableau (XII).

Tableau XII : acides gras des feuilles de *Muscat d'alexandrie*

Acides gras	Dénomination	*Teneur (%)*
C12 :0	Acide laurique	-
C14 :0	Acide myristique	5,96
C16 :0	Acide palmitique	26,81
C16 :1ω7	Acide palmitoléique	6,43
C17 :0	Acide margarique	6,43
C18 :0	Acide stéarique	4,83
C18 : 1ω9	Acide oléique	6,45
C18 : 2ω6	Acide linoléique	5,93
C18 : 3ω3	**Acide linolénique**	**12,03**
C20 :0	Acide arachidique	1,54
C20 : 1ω9	Acide gondoïque	6,34
C22 :0	Acide béhénique	0,007

Nous remarquons d'après le tableau XII que, la matière grasse des feuilles de vigne possède des acides gras saturés dont le plus important est l'acide palmitique (26,81%). En outre elle possède des acides gras insaturés le plus important est l'acide linolénique (12.03 %). Conséquemment, les feuilles étudiées possèdent une haute valeur biologique qui peut être due à la présence de l'acide gras linolénique qui est considéré comme un antibiotique actif (SANTOYO et *al*, 2006).

V.7. Résultats d'analyses rhéologiques

V.7.1 Analyse de la granulométrie

La connaissance des distributions de taille et de forme des poudres est nécessaire. Ces propriétés vont, en effet, affecter le comportement des poudres par exemple lors de leur fluidisation pour le transport, la préparation de mélange ou encore durant le stockage (KOUADRI-HENRI & BENHASSAINE, 1999).

Les mesures granulométriques, donnant des courbes de distribution des tailles des particules, des poudres sont primordiales dans l'explication de leur comportement (MELCION et ILARI, 2003). Selon ces mêmes auteurs, la taille des particules influe considérablement sur les propriétés de la poudre :

- Une taille élevée favorise l'augmentation de la vitesse limite de chute, la force d'adhésion entre deux particules, l'écoulement et la mouillabilité des poudres.
- Une diminution de la taille, quant à elle, augmente la surface spécifique, l'homogénéité et la porosité de la poudre.

Les résultats de la granulométrie sont présentés dans la Figure (17) et l'annexe (05)

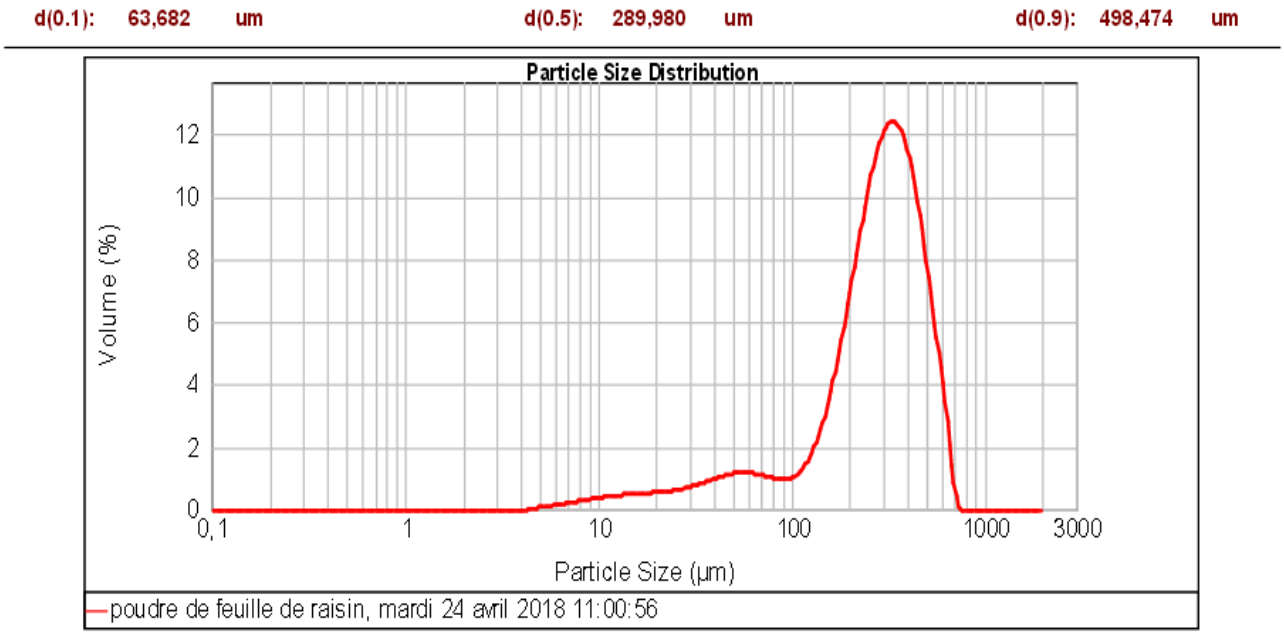


Figure16 : Distribution granulaire de la poudre des feuilles de *Muscat d'alexandrie.*

L'analyse de la granulométrie révèle que, la poudre de feuilles de *Muscat d'alexandrie* possède un grain majoritaire de taille de (498,474µm). Cette taille offre une propriété pharmacodynamique très intéressante (bon écoulement).

V.7.2 Résultats de l'indice de gonflement

Les résultats de l'indice de gonflement de la poudre des feuilles de *Muscat d'alexendrie* sont présentés dans le tableau (XIII).

Tableau XIII : Résultats de l'indice de gonflement de la poudre des feuilles étudiées

La poudre utilisée (g)	1er essai (ml)	2eme essai (ml)	3eme essai (ml)	Moyenne (ml)	Moyenne ± ET
1	5	5	5	5	5 ± 0

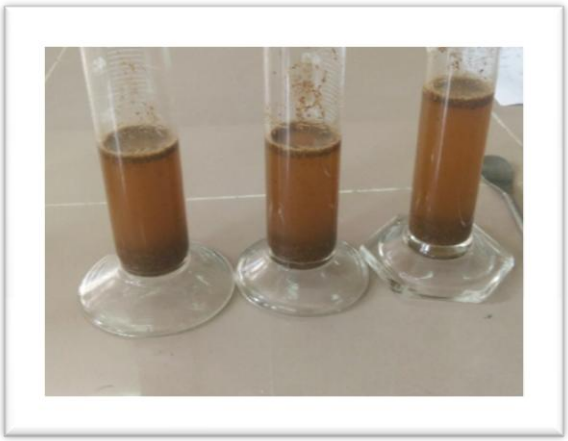


Figure 17 : Résultat final du test de gonflement de la poudre de feuilles de raisin analysée

L'indice de gonflement de la poudre de vigne analysée est inférieur à 10 donc les feuilles de vigne ne contiennent pas de mucilages.

V.7.3 Test de gélification

Nous rapportons dans le tableau (XVI) les résultats du test de gélification des polysaccharides hydrosolubles extraits à partir des feuilles de *Muscat d'alexandrie.*

Tableau XVI: Résultats du test de gélification des polysaccharides hydrosolubles extraits à partir des feuilles de *Muscat d'alexandrie*

Tests	Résultats	Photo des résultats
Gel à base de l'eau (0,2g/4ml)	Absence de gélification	
Gel préparé à raison 0,2 g dans 4ml solution sucrée (10%)	Absence de gélification	

Gel préparé à raison 0,2g de carraghénane dans 4ml d'eau	Absence de gélification	

D'après le tableau ci-dessus nous constatons l'absence de la gélification pour l'ensemble des gels préparés. Ce résultat peut s'expliquer par la faible quantité de polysaccharides hydrosolubles utilisés pour la préparation de ces gels.

V.8. Résultats des groupements fonctionnels analysés par l'Infra-Rouge

L'analyse Infra-Rouge d'un échantillon d'origine biologique permet de révéler la présence de certains groupements fonctionnels caractéristiques (RUIZ, 2005).

L'empreinte Infra-Rouge des polysaccharides hydrosolubles des feuilles de *Muscat d'alexandrie* est réprésentéé par la figure (18) et l'ensemble des groupements fonctionnels sont résumés dans le tableau (XVII).

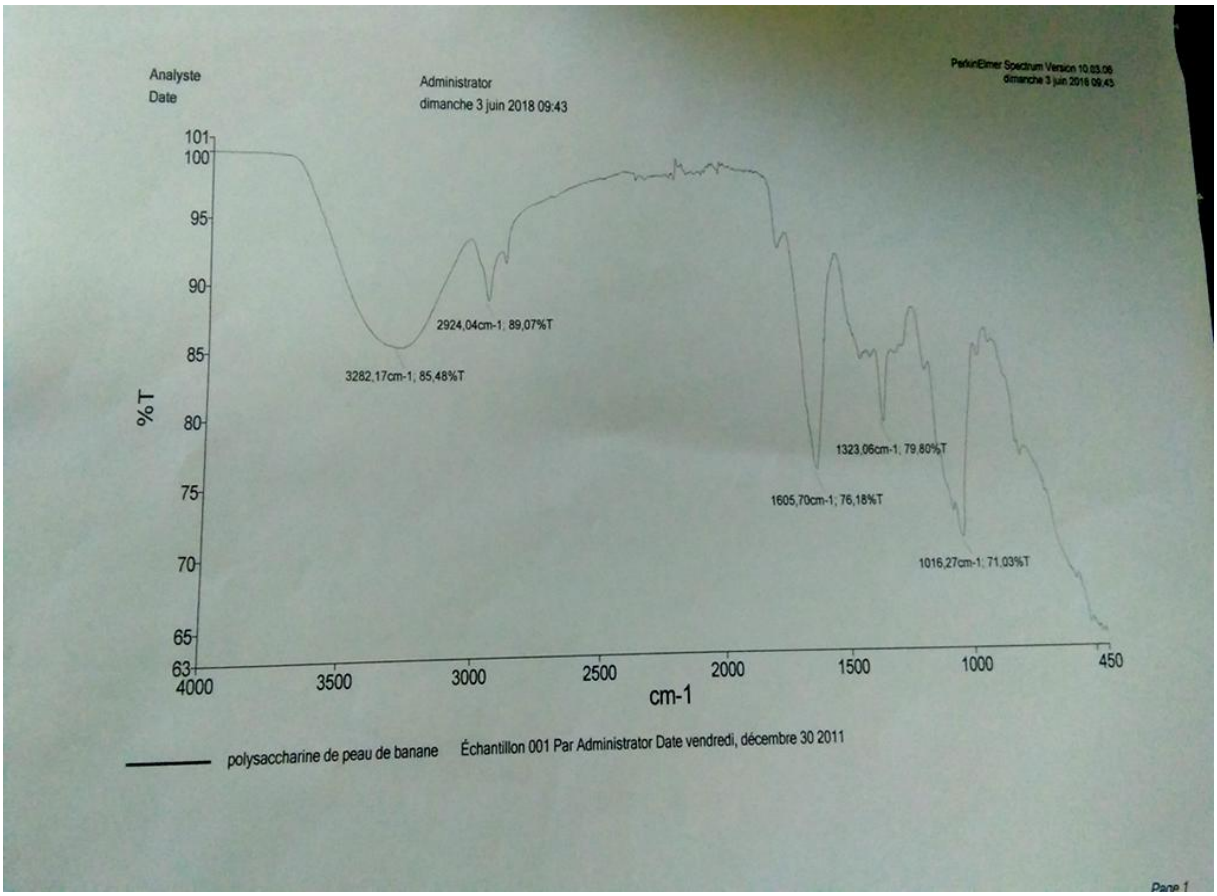


Figure 18 : Spectre d'absorption IR des polysaccharides hydrosolubles extraits de feuilles *Muscatd'alexandrie.*

Les résultats obtenus révèlent la présence d'une large bande intense entre 3200-3500 cm^{-1} est attribuée à la vibration d'élongation des groupements hydroxyles (-OH) caractéristique des polysaccharides ainsi qu'à l'absorption de l'eau (ADEL et *al.,* 2010). De faibles bandes de vibrations asymétriques des liaisons C-H sont observées entre 2800 et 3000 cm^{-1} (BRAIN-JAISSON et *al,* 2014). De plus, les signaux observés à 1730,46 et 1241-1243 cm^{-1} mettent en évidence la présence de groupes acétyles issus des résidus pectiques comme indiqué dans la littérature (BRITO el *al*., 2004).

De même, les absorptions observées aux alentours des 1613cm^{-1}et 1418$cm^{-1,}$ sont attribuées aux groupements carboxylates ($-COO^-$) (BRITO et *al*., 2004). Dans cette zone, une large bande située à 1613cm^{-1} correspond plus spécifiquement à la vibration d'élongation de la fonction C=O du groupement carboxylique (COOH) de l'acide galacturonique (BARKA et *al*., 2013). Le signal observé à 1323,06cm^{-1} peut être considéré comme spécifique de la vibration d'élongation du groupement carboxylate. Généralement, les bandes observées entre 900 et 1200cm^{-1}et plus précisément celles obtenues à 1016,27$cm^{-1,}$ sont spécifiques aux

vibrations des liaisons C-O-C et C-O-H des structures polysaccharidiques (SCHMITT et FLEMMING 1998 ; EDWARDS et *al*., 1998).

Tableau XVII : principales bandes caractéristiques des groupes fonctionnels des polysaccharides extraits de feuilles de *Muscat d'alexandrie* par spectroscopique Infra-Rouge.

Longueur d'onde (cm^{-1})	Types de liaison (ν=Vibration d'élongation)
3282,17	N (O-H)
2924,04	ν(C-H) aliphatique
1605,70	ν(C=O) fonction carboxylate
1323,06	ν(-COO-) des acides uroniques
1016,27	ν(C-O) fonction d'hydrates de carbone

V.9. Résultats de l'activité antibactérienne

Les diamètres des zones d'inhibition des souches microbiennes testées en testant les différents extraits bruts (PPT, polysaccharides et tanins) des feuilles de *Muscat d'alexandrie* sont résumés dans le tableau XVIII.

Nous remarquons d'après ce tableau que l'extrait des tannins agit sur toutes les souches bactériennes et fongiques testées. Néanmoins, l'inhibition crée par ces composés diffère d'une souche à l'autre. Comme a été rapporté dans la littérature, qu'un extrait a une action bactériostatique ou antifongique si son diamètre d'inhibition est supérieur à 10 mm (HASSAN et *al*., 2006).

Tableau XVIII : Diamètres (mm) des zones d'inhibition (moyenne ± ET) exprimés pour les différents extraits de la poudre de *Muscat d'alexandrie*

Microorganismes testés	Diamètres d'inhibitions (mm)				
	Extraits phénoliques		Extrait polysaccharidiques		Tanins
	Aqueux	Ethanolique	Aqueux	Ethanolique	
Escherichia coli	0	19 ± 1,414	0	0	30,667 ± 3,055
	-	++	-	-	+++
Staphylococcus aureus	0	18,5 ± 0,707	0	0	33,5 ± 2,121
	-	++	-	-	+++
Candida albicans	0	18,5 ± 0,707	0	22 ± 1,414	17,5 ± 3,535
	-	++	-	+++	++
Aspergillus niger	0	0	0	0	0
	-	-	-	-	-

Remarque : le diamètre des disques = 6mm est inclue dans les mesures.

Tanin ***E. coli*** **(Ɵ= 30,667)**

Tanins ***Staphylococcus aureus*** **(Ɵ= 33, 5)**

A cet effet, nous pouvons conclure que l'extrait des tanins a un effet inhibiteur très important sur *E. coli* et *Staphylococcus aureus*, avec des diamètres respectivement de

30,667mm ± 3,055 et 33,5mm ± 2,121, et moins important sur *Candida albicans* avec un diamètre de17, 5mm ± 3,535. Quant à la moisissure *Aspergillus niger* s'avère résistante.

Les tanins présentent des propriétés anti diarrhéiques, ils diminuent la perméabilité de la muqueuse intestinale. Ils peuvent agir comme agents antiseptiques dans le cas des infections pulmonaires et ce grâce à une action inhibitrice sur la croissance des bactéries, champignons et virus (AYOUB, 1982 ; REINALDO et *al.* , 1986 ; MOSS,1988).

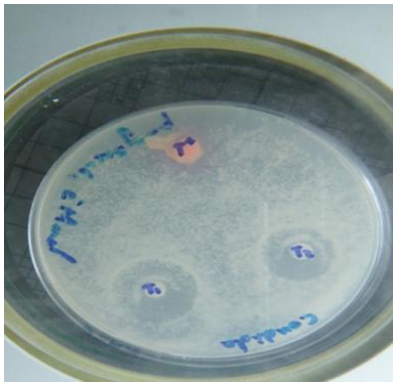
HAVSTEEN, (2002) a montré que, les tanins sont des métabolites secondaires réputés pour leurs effets antimicrobiens.

Les résultats du tableau (XVIII) révèlent aussi que l'extrait éthanolique des polyphénols des feuilles de *Muscat d'alexandrie* exerce une activité sur toutes les souches testées à l'exception d'*Aspergillus niger*.

Extrait ethanolique des polyphenols ***E. coli*** **(Θ=19)**

S. *aureus* (Θ= 18.5)

Pour ce qui est de l'extrait éthanolique des polysaccharides hydrosolubles révèle une zone d'inhibition de (22 mm ± 1,414) contre le *Candida albicans.* Par contre, il n'a aucun effet inhibiteur contre les autres souches testées.



Polysaccharide éthanol **(Θ=22)**

En autre, nous remarquons que tous les extraits aqueux testés n'ont aucun effet inhibiteur sur les souches choisies.

Nous pouvons expliquer l'inhibition par la nature de solvant d'extraction qui contient un impact sur la disponibilité des substances bioactives. Ces résultats pourraient signifier aussi

que l'activité antimicrobienne de différentes substances testées est principalement liée à des substances bioactives (tanin et polysaccharides) et des conditions d'extraction.

Il en ressort de cette analyse que chaque extrait agit différemment sur les microorganismes c'est-à-dire qu'un extrait peut avoir une action importante sur un germe, ou une action moindre, voire même nulle sur un autre.

Il ressort du tableau (XVIII) que, les extraits éthanoliques des substances testées exercent une activité inhibitrice plus intéressante que celle de l'extrait aqueux, ceci peut s'expliquer par la capacité de l'éthanol à se propager dans la paroi et libérer les substances actives. Selon SANTOYO et *al.* , (2009), Une meilleure activité antimicrobienne est liée à la polarité du solvant utilisé. Ces mêmes auteurs ont montré que l'éthanol (comparé à l'hexane) est un meilleur solvant d'extraction à des températures élevées (cas des substances antibactérienne des microalgues).

Ces donnés montrent que les feuilles de *Musct d'alexandrie* contiennent des principes actifs ayant une activité protectrice et qui pourraient donc être utilisés contre les germes responsables de certains pathologies.

Conclusion

Conclusion générale

La vigne est une plante vivace très répandue dans les pays méditerranéens et spécialement les lieux secs. Celle-ci appartenant au genre Vitis utilisée en médecine traditionnelle pour ses propriétés thérapeutiques.

Dans la présente étude, les feuilles de vigne variétés *Muscat d'alexendrie* ont été caractérisées de point de vue physico-chimique, phytochimique et biologique.

Les principaux résultats obtenus sont résumés comme suit :

L'analyse phytochimique montre que les feuilles de vigne sont riches en tanins, tanins galliques et alcaloïdes avec une forte quantité et la présence des sucres totaux et réducteurs et le saccharose avec des teneurs moyennes. Les feuilles ne contiennent pas la vitamine C. Cependant, les anthocyanes, les quinones (libres et combinées), les saponosides, les glucosides, les coumarines, les sennosides sont absents dans la poudre des feuilles de vigne.

Les résultats des paramètres physicochimiques démontrant que les feuilles de *Muscat d'alexendrie* représentent une faible teneur en eau (10,74%), un pH acide (4,7) et un acidité titrable relativement forte.

L'analyse de la granulométrie effectuée sur la poudre de feuilles analysées démontre que la taille particulaire de grain est de 498,474µm.

L'analyse des éléments minéraux effectués sur les feuilles révèle la présence d'une teneur élevée en macroéléments (Na, K) et une teneur faible teneur en oligoéléments (Fe, Mn.....). Elles sont aussi dépourvues des éléments toxiques comme (Cr, Cd)

L'extraction et le dosage des composés phénoliques des feuilles étudiées démontrent la présence des teneurs en polyphénols totaux de l'ordre de 16,27 et 17,57 (mg EAG/ gMS) respectivement pour l'extrait aqueux et éthanolique. En outre, les flavonoïdes présentent des teneurs de 10,23 et 12,55 (mg EQ/ g MS) respectivement pour l'extrait aqueux et l'extrait éthanolique.

Comme substances bioactives, les polysaccharides sont présents avec un rendement de 2,66% et leurs tests de gélification sont révélés négatifs. Les tanins sont aussi présents avec un rendement de 7%. Le taux de la matière grasse obtenu est de 5,789%.

L'analyse de profile d'acides gras révèle la présence des acides gras essentiels (Acide oléique, acide linoléique, acide linolénique) dont l'acide linolénique 12.03 %.

Les résultats de l'activité antimicrobienne ont montré que, les extraits taniques (aqueux et éthanolique) des feuilles ont présentés des meilleures zones d'inhibition vis-à-vis les souches testées. En comparaison ces extraits avec les extraits ethanoliques des phénolyphénols, ces derniers avaient une activité moins importante.

Concernant, l'extrait éthanolique des polysaccharides a eu seulement une activité sur la levure *Candida albicans*. Par contre, l'extrait aqueux des polysaccharides n'a exercé aucune activité bactériostatique et anti fongique vis-à-vis des souches choisies.

Comme perspectives, il serait intéressant d'approfondir la présente étude en touchant les points suivants :

- ✓ Orienter les recherches scientifiques vers la réalisation des études approfondies et complémentaires de l'activité antimicrobienne des métabolites secondaires et primaires « polysaccharides en particulier ».
- ✓ Sensibilisation des gens aux vertus thérapeutiques de la plante qui sont méconnus par la population algérienne.
- ✓ Détermination de nouvelles substances bioactives naturelles pourront répondre aux différents problèmes de la santé et d'être une alternative aux médicaments synthétiques.
- ✓ Il serait également intéressant de réaliser d'autres études pour évaluer le potentiel in vivo sur des modèles animaux.

Références bibliographiques

- **ABOUGHE, A., (2010)**. Extraction des polysaccharides hémicellulosiques de la paroi des feuilles de *Laportea aestuans* (*Fleurya aestuans*) et activité immunostimulante. *J Science Sud*. N°3. Gabon.
- **ADEL, A.M., Abdel–Wahab, Z.H., Ibrahim, A.A., et Al–Shemy ,M.T., (2010)**. Characterization of microcrystalline cellulose prepared from lignocellulosic materials. Part I. Acid catalyzed hydrolysis. Bioresource Technology 101 : 4446-4455p.
- **AIT BRAHAM, S., et MEKLICHE, N ., (2007).**Memoire de fin d'étude.science agronomie thème étude épidémiologique du dépérissement de la vigne au niveau de la wilaya de tizi-ouzou,8p.
- **AIT EL-HOCINE, F ., et GUETITECHE, F.,(1990) .**Thèse pour obtenire du diplome d'ingénieur. Science agronomie.thème inventaire des acariens de la vigne à la wilaya de boumerdès et étudeTenuipalpus granati(sayed) (acari : tenuipalpidae) à la région de Bordj Menaiel,19, 13, 14p.
- **AMARA, N.,et MELOUK, F.Z., (2016).** Activité antimicrobienne des extraits des feuilles de la vigne sauvage (*Vitis vinifera sylvestris*.Algerien journal of natural products 4:3. 361p.
- **AMARAL, J.D., (2000)**. O grande livro do vinho. 2ª edição. Circulo de leitores Lisboa. 439 p.
- **ARUOMA, O., SPENCER, J., BUTLER, J., et HALLIWELL, B., (1995).** Commentary reaction of plant-derived and synthetic antioxidants with trichloromethylperoxyl radicals. Free Red Res, 22, 187-190p.
- **ATTIA., (2007).** Effet du stress hydrique sur le comportement ecophysiologique et la maturité phénolique de la vigne *Vitis vinifera L* : étude de cinq cépages autochtones de Midi-Pyrénées. Thèse de Doctorat. Institut national polytechnique de Toulouse, 185 p.
- **AUDIGIÉ, C., FIGGRELLA, J., ZONSIZAIN, F., (1978).**Manipulation d'analyse biochimique.Doin(Ed).Paris, 247p.
- **AYOUB, H.S.M., (1982)**. Molluxicidal properties of Acacia nilotica. Planta medica N° 46 184 Dahar, 23-29p.
- **BADIAGA, M., (2011).** Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de Nauclea Latifolia Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali, thèse de doctorat,10 p.
- **BAMFORTH, C.W., (2000).** Perceptions of deer foam.J.Inst.brew,106:229-38p.

- **BARKA, N., ABDENNOURI, M., EL MAKHFOUK, M.,et QURZAL, S., (2013)**. Biosorption characteristics of cadmium and lead onto eco-friendly dried cactus (Opuntia ficus indica) cladodes. Journal of Environmental Chemical Engineering 1 , 144-149p.
- **BENAHMED DJILALI, A., BESOMBES ,C., ALLAF. K., BENSEDDIK, A., BENZEHRA, A., HADJ ARAB ,F.,et TALEB ,D., (2018)**. Z jujuba and spirulina extracts as prebiotic to improve milk clotting and develop functional yoghurt. Exploring Microorganisms Recent Advances in Applied Microbiology.
- **BENHAMOU, N., (2009).** Chapitre 4: Chronologie des événements menant à la résistance active. La resistance chez les plantes principes de la stratégie défensive et applications agronomiques. Ed, TEC & DOC Paris-France , 76 et 346p.
- **BENHAMMOU, N., ATIK BEKKARA ,F .,et KADIFKOVA, P.(2008**). Antiradical capacity of the phenol compounds of *Pistacia Lentiscus L*. And *Pistacia atlantica* Desf, Advances in Food Sciences, 29(3), 155-161p.
- **BENJELALI, B., TANTAOUIE, A.,et ESMAILI-ALAOUI, M., (1986).** Méthodes d'étude des propriétés anteseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gelosé. Planta médicinales et phytherapie,20.155-167p.
- **BERRADA, S., (2009).** BIOCHIMIE APPLIQUEE thème les glucides : structure, proprietes et applications technologiques,5-7p.
- **BERTRAND, D., et DUFOUR E., (1987).** La spectroscopie Infrarouge et ses applications analytiques. Ed. Tec et doc, Paris: 55-193p.
- **BESSIS, R., et BUGNON, F.,(1968)** . Biologie de la vigne. Aquisitions récentes et problèmes actuels de morphologie de botanique et de la biologie végétale. Ed. Moisson. Paris, 1-160p.
- **BIAYE, M. (2002)**. Action pharmacologiques des tanins. Thèse de doctorat. Université Cheikh Anta Diop de Dakar.
- **BIDET, D., GAIGNULT, J.C., GIRARD, P., et TROTINE, F., (1987).** Inflammation, allergies, douleur et acide arachidonique : du jardin des hespéridés a la cascade de l'acide arachidonique : les flavonoïdes. L'actualité chimique, 89-97p.

- **BIOZOT, N et CHARPENTIER, J.P., (2006)**. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composé phénolique des organes d'un arbre foustier. *Le cahier des techniques de l'Inra*,P79.82p. (cited in Djemai zoueglache S, 2008).

- **BONNER.,(1974)** . Termodynamic properties of some concentrated plumer solutions,Vol 12, 51-73p.
- **BOUAL, Z., (2009)**. Contribution à l'étude des polysaccharides de quelques plantes spontanées à caractère médicinal de la région de Ghardaïa (Sahara septentrional Est algérien), these de doctorat en biologie 1p.
- **BOUANEM, A., (1999).** Memoire de fin d'étude. Science agronomie thème influence de la variation de la charge sur certains paramètres bioproductifs de la vigne, Vitis vinifera L (cépages : dattier de beyrouth et cardinal) dans la région d'EL-Harrache.au niveau de tizi-ouzou, 5,9p.
- **BAUSTITA, O., FERNANDEZ, F., LOPEZ, R.,et GOMES, P.,(2007)**. The effects oenologique pratices in anthocyanins, phenolic compounds and wine colour and their dependence on grope caracteristic. Journal of food composition and analysis 20, 546-552p.
- **BRIAN-JAISSON, F., ORTALO-MAGNÉ, A., GUENTAS-DOMBROWSKY, L., ARMOUGOM ,F., BLACHE, Y.,et MOLMERET ,M., (2014)**. Identification of bacterial strains isolated from the Mediterranean Sea exhibiting different abilities of biofilm formation. Microbial Ecology, 68 (1) : 94-110p.
- **BRITO ,A.C.F., SILVA, D.A., REGINA, C.M.P.,et FEITOSA, J.P.A.,(2004)**. Sterculia striata exudate polysaccharide: characterization, rheological properties and comparison with Sterculia urens (karaya) polysaccharide. Polymer International, 53 : 1025-1032p.
- **BRUNETON, J., (1993).** Pharmacognosie et phytochimie et phytochimie, plantes médicinale. Lavoisier, Paris., France, 278-279p.
- **BRUNETON, J ., (1999)**.Les tannins. Ed. Edition médicales internationales. Paris,369-404p.
- **BRUNETON, J., (2009)**. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4ième Ed. Lavoisier, 1268p.
- **BRETAUDEAU, J-Faure ., (1999)** .Atlas de l'arboriculture fruitière, Vol.4.263P.
- **BRETT, T C., (2000).** Cellulose microfibrils in plants, Biosynthèsis, déposition and integration into the cell wall ,Int Rev cytol ,v199 ,161-199p.
- **BRUDIEUX, V., (2007).** Chapitre 1: Traveaux antrieur. Extraction, modification enzymatique caractérisation chimique de nouvelle structure pectique. Application de la relation structure/ activité à la dermocosmétique. Ed : Université de Limoges , 30p.

- **BRUNETON, J., (1993).** Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales, 2ème Ed. Lavoisier, Paris.
- **BRUNETON, J., (1999).** Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. Ed. Tec et Doc, Paris, 3-119.
- **BUCKERIDGE, M., SANTOS, H. P., et TINE, M. A., (2000)**. Mobilization of storage cell wall polysaccharides in seeds. Plant physiology, Biochemical, vol. 38: 141−156p.
- **CAI, J., MANA, J., HUANGA, J., LIU, Q., WEIC, W., et WEI C., (2015)**. Relationship between structure and functional properties of normal rice starches with different amylose contents. Carbohydrate Polymers, vol. 125: 35-44p.
- **CATIER, O., et ROUX, D., (2007).**Botanique pharmacognosie phytothérapie. Ed Wolters Kluwer,Pays-Bas.
- **CHRISTIAN, M., (2002).**Biochimie structurale et metabolique, 2eme édition,75p.
- **AUDIGIÉ, Cl., ZONSZAIN, F., 2002.** Biochimie structurale .Ed : doin éditeurs, Paris,175-181p.
- **COMPS, C., (2008) .** Etude transcriptomique de la réponse de la vigne (*Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon) au champignon ascomycète vasculaire Eutypalata responsable de l'Eutipiose. Thèse doctorat. Université de Poitiers. Faculté des Sciences Fondamentales et Appliquées, 129p.
- **CONRAD, J., VOGLER, B., KLAIBER, I., ROOS, G., WALTER, U.,ET KRAUS, W.,(1998).** Two triterpene esters from Terminalia macroptera bark. Phytochemistry 48: 647 – 650p.
- **DAOUDI, L.,et EL HEIT, K.,**. Memoire de fin d'étude.sciences agronomique thème effets de la charge sur la fertilité des bourgeons latents chez la vigne Vitis vinifera L. De Beyrouth. Dans la ferme pilote « GHALEM SAID » de Bordj Menaiel(Boumerdes),1,14p.
- **DAS, H.C., WANG, J.H., et LIEN, E.J., (1994).** Carcinogenicity and cancer preventing activities of flavonoides: A Structure-activity relationship (SSAR) analysis.Jucker Ed, 133-136p.
- **DELTTRE, C., (2005).** Stratégie d'obtention d'oligosaccharides anioniques par dégradation enzymatique de gluconate, P4-11p.
- **DELLUC, L., (2004).** Identification et caractérisation fonctionnelle de deux gènes régulateurs du métabolisme des composés phénoliques de la baie de raisin. Thèse de doctorat de l'université Bordeaux,310p.
- **DELOIRE, A., (2008)** : irrigation de la vigne. (Sup Agro, Montpellier).

- **DOHOU, N., YAMNIK, K.,ET TAHROUCH, S., (2003)**.Ibéro-Marocain Thymelaea lythroides. Bulletin de la societé de pharmacie de Bordeaux,142,61-78p.
- **DSAT., (2017).** Direction des Statistiques Agricoles de la Wilaya de Tizi-Ouzou.
- **DURAFFOURD, C., LAPRAZ, J-C.,et CHEMLI, R.,(1997)**. La plante médicinale de la tradition à la science. 1er congrès Intercontinental. Tunis. Ed. Granche. Paris, 222p.
- **EBRINGEROVA, A., KARDOSOVA, A., HROMADKOVA, Z., et HRIBALOVA, V., (2003)**. Mitogenic and comitogenic activities of polysaccharides from some European herbaceous plants. Fitoterapia, vol. 74: 52–61p.
- **EDWARDS, H.G.M., FALK, M.J., SIBLEY, M.G., ALVAREZ-BENEDI, J.,et RULL, F., (1998)**.FT-Raman spectroscopy of gums of technological significance. Spectrochimica Acta, 54 : 903-909p.
- **EFFENDI, L., et YAJUN, Y.,(2008)**.Pharmacologie 2ème Ed : Médecine Flammarion.Paris, 289p.
- **ELYAH, A., (2003)**. Quel avenir pour la spiruline. Mémoire Bibliographique Université de Montpellier II, 30p.
- **EPIFANO, F.,GENOVESE, S.,MENGHINI, L.,et CURINI, M.,(2007)**.Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites. *Phytochemisty*, 68:939 – 953p.
- **FELLAH, H., KSOURI, R., CHAIEB, K., KARRAY-BOURAOUI, N., TRABLSI ,N., BOULAABA, M., et ABDELLY, C., (2008)**.Phenolic composition of cyanara cradunculus L. Organs, and their biological activities. CR. Biologies,331 :372-379p.
- **FELLAK, A., et ZAOUALI, M., (2012).**Memoire de fin d'étude. Sciences biologique et agronomiques thème contribution à la caractérisation ampélométrique et ampélographique de quelques cépages autochtones de Vitis vinifera (v.vssp.sativa).au niveau de la wilaya de tizi-ouzou,P4**.**
- **FLEURIET, A., JAY-ALLEMAND, C., et MACHEIX, J.J., (2005)**. Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. *Presses polytechniques et universitaires romandes,* 121-216p.
- **FRANCIS SUH, J. K., et MATTHEW, H. W. T., (2000)**. Application of chitosan-based polysaccharide biomaterials in cartilage tissue engineering: a review. Biomaterials, vol. 21: 2589-2598p.
- **GALET, P., (1988**). Précis de viticulture. 5eme Ed. Dehan, Montpelier, 612 p.
- **GALET, P., (1993)**. Précis de viticulture. 6eme édition. Ed : Déhan, Montpellier, 612 p.

- **GALET, P ., (2000)**. Précis de pathologie viticole. 7eme édition. Ed : Déhan, Montpellier,602p.
- **GHESTERM, A., SEGUIN, E., PARIS, M., et ORECCHIONI, A.M., (2001)**. Le préparateur enpharmacie dossier 2ème Ed TEC&DOC.Paris,275p.(cited in Djemai Zoueglache S, 2008).
- **GIRARD, G., (2001)** . Base scientifique et technique de la viticulture. Techniques et documentation. Lavoisier. Hondres, Paris, New York, 221-275p.
- **GUIGNARD, J.L., (1996)**. Abrégé de biochimie végétale, Ed. *Masson*, Paris, 160 p.
- **GUIGRARD, J.L., (1996)**. Biologie végétale, centre culturel universitaire ALGER, 96-107p.
- **GULER-AKIN, MB., GONCU, B., et AKIN, MS., (2016).** Some Properties of Probiotic Yoghurt Ice Cream Supplemented with Carob Extract and Whey Powder. *Advances in Microbiology* 6, 1010-1020p.
- **HADBI, H ., (1985)** . Essai de taille sur la fructification de deux cepages de table : La dattier de Beyrouth et la Valensi. These d'Ing. Inst. Nat. Agro, El Harrach 61 p.
- **HALOUANE, C**.,(2007).Memoire de fin d'étude.science agronomie thème influence du deuxième bioproductifs de la vigne Vitis vinifera L : variété cardinal et dattier de beyrouth du vignoble de la station expérimentale de l'ITAF(Alger),12p.
- **HARBORNE, J.B., (1980).** Plant Phenolics,Encyclopedia of Plant Physiology, New series,8, 329-402p.
- **HARBONE, J B., (**1994). Phenolics in natural products : their chemistry and biological Eds .Mann J. Davidson RS, Hobbs JB .Longman (London),chap,vol(6):361- 388p.
- **Hartmann, T., (2007)**. From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemisty*, 68: 2831 2846p.
- **HATTENSCHWILER, S., et VITOUSEK, P.M.,(2000)**. The role of polyphenols in terrestrial ecosystem nutrient cycling. *Trends in Ecology and Evolution*, 15(6), 238–242p.
- **HAVSTEEN, B.H., (2002)**. The biochemity and medical significane of the flavonoids pharmacology et therapeutics,Volume 96 ,67-202p.
- **HINCHA, D.K., LIVINGSTON III, D.P., PREMAKUMAR, R., ZUTHER, E., OBEL, N., CACELA, C., et HEYER, A.G., (2007)**. Fructans from oat and rye: Composition and effects on membrane stability during drying. *Biochimica et Biophysica Acta***,** 1768, 1611-1619p.

- **HUGLIN, P**., **et SCHNEIDER, T ., (1998)** . Biologie et écologie de la vigne .Ed. Payot. Lausanne,370 p.
- **Huglin,P ., (1986) .** Biologie et écologie de la vigne édit. Payot Lausanne , 22-25p.
- **HURABIELLE, M., (**1981). Flavonoids of artemisia campestris ssp. Glutinosa. Planta Med,46(2) :124-125p.
- **IGNAT, C. M., (2012)**. Compatibilité et co-structuration dans des systèmes contenant des scléroprotéines et des polysaccharides. Thèse de doctorat en Chimie des polymers de l'université de PAU et des Pays de l'Adour,79 p.
- **JAKOPIC, J., VEBRIC, R., STAMPAR, F., (2009)**. Extraction of phenolic compounds from green walnut fruits in different solvants. Acta. Agri. Solv, 93(1), 11-15p.
- **JEAUN, J. M., ANNIE.,F.,et CHRYSTIAN, J. L. ,(2005)**. les composés phénoliques des végétaux, 203- 204p.
- **KACURAKOVA, M., CAPEK, P., SASINKOVA, V., WELLNER, N., et EBRINGEROVA, A.,(2000).** FT-IR study of plant cell wall model compounds: pectic polysaccharides and hemicelluloses. Carbohydr. Polym.,43(2), 195-203p.
- **KHALEM, A., (2017).** Evaluation des activités antioxydants et antimicrobiennes des extraits de la vigne rouge Vitis vinifera sp au niveau de la wilaya de boumerdes,4p.
- **KHANBABE, K ., REE, T.R., (2001)**. Tannins:Classification and Defenition. *Journal of Royal Society of Chemistry*, Vol. (18): 641-649p.
- **KOSALEC, I., BAKMAZ, M., PEPELJNJAK, S.,et VLADIMIR-KNEG EICS.,(2004).** Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolis from northern Croatia. Acta Pharn,54 :65-72p.
- **KOUADRI-HENRI, A., AZEMA, N.,et BENHASSAINE,A.,(1999)**.Flowability of a mixture of two powders obtained by co-grinding, mixing and surface treatment. Powder Technology, 10(3),37-43p.
- **KRIEF, S., (2003).** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse doctorat, muséum national d'histoire naturelle,32p .
- **KUMAR, U., KUMAR, B., BHANDARI, A.,et KUMAR Y., (2010)**. Phytochemical investigation and comparaison of antimicrobinal screening of close and caradamon. International Journal of Pharmacentical Sciences and Research,1, 138-147p.

- **LATTANZIO, V., LATTANZIO, V.M.T., et CARDINALI, A., (2006)**. Role of phenolics in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects. *Phytochemistry: Advances in Research (F. Imperato, ed.)*, 23–67p.
- **LEBON, G., (2005).** Importance des glucides lors de la floraison chez la vigne *Vitisvinifera* L.Exemples de cépages présentant une sensibilité différente à la coulure. Thèse Doctorat de L'Université de Reims Champagne-Ardenne, 131p.
- **LIU, J., WILLFO, S.,et XU, C., (2015).** A review of bioactive plant polysaccharides: Biological activities, functionalization, and biomedical applications. Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre, vol. 5: 31 – 61p.
- **JANI, G. K., SHAH, D. S., PRAJAPATI, V. D., et JAIN, V. C., (2009).**Gums and mucilages: versatile excipients for pharmaceutical formulations. Asian Journal of Pharmaceutical Sciences, vol. 4: 308-322p.
- **JIAO, G., YU, G., ZHANG, J. ,et EWART, H. S., (2011)**. Chemical Structures and Bioactivities of Sulfated Polysaccharides from Marine Algae. Marine Drugs, vol. 9: 196-223p.
- **MAHBOUB, S., (2017).** En vue de l'obtention du Diplôme de MASTER En agronomie thème Contribution a l'étude des maladies de quelques variétés de la vigne dans la région de Tlemcen ,6-10P.
- **MARGHAME, R., (2009).** Chapitre 1 : Les glucides des végétaux. Élément de la biochimie végétale. Ed, Bahaeddine. Constantine, 13-40p
- **MAURO, N. M., (2006).** Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+)-anatoxinea et la (±)-camptothécine, thèse doctorat, 13, 16-28p.
- **MEDIC, M., JASPRICA, I., SMOLCICBUBALO, A., et MOMAR, A.,(2003).** Optimization of chromatographic conditions in Thin Layer Chromatography of Flavonoids and Phenolic Acids. Croatica ChemicaActa,77(1-2) : 361-366p.(CITED IN Mohammedi Z, 2005).
- **MEDISS.,** (2012). Méditerranée Innovation Senteurs Saveurs. Mise en place d'une filière de production de plantes à parfum, aromatiques et médicinales en méditerranée. EV-rapport final-filière PPAM.doc.
- **MEHEUT, J.P.,et GRIFFE M., (1997).** Le vin 50 siècles de passion, C.L.c.d.M . Griffe, TSH, Le cannet.
- **MELCION, J.**, **ILARI,J.2003**.Technologie des pulvérulents dans les IAA.Edition Tec & Doc.Lavoisier.Paris.

- **MOSS, A.R.,(1988).** Seropositivity for HIV and development of AIDS related condition; three years follow up of the San Francisco general hospital Br, 296 . 565-570p.
- **MOTA, R., THOMAS, G., BARBOSA FILHO, J.M.,(1985).** Anti-inflammatory actions of tannins isoled from the bark of Anarcardium occidentale L. Journal of Ethnopharmacology, 13, 289-300p.
- **MUELLER-HARVEY, I., MC ALLAN, A.B., (1992).** Tannins:theirbiochemistry and nutritionalproperties,*Adv. Plant CellBiochem. Biotechnol*,1, 151-217p.
- **MURRAY, K., GRANNER, D., MAYES, P et RODWELL, V., (1999).** Biochimie, éd. MCGRAW- HILL, Italia, 641p.
- **NFV03-903**
- **NFV05-101., (1974).**Produit dérivent des fruits et légumes. Détermination de l'acidité titrable.
- **NFV05- 108., (1970).** Produit de l'agriculture. Produit dérivés des fruits et légumes. Détermination conventionnelle du potentiel hydrogène.
- **NFV 05-113., (1972)**. Détermination des cendres totales. Vol49, n° 4, 289- 298.
- **NICKLIN,J. K ., GRAEME-COOK., PAGET ,T .,et KILLINGTON,R. ,(1999).** Chapitre D: La structure et la fonction des bactéries. L'essentiel en Microbiologie. Ed, BERTI. France,81p.
- **NIJVELDT, R., VAV NOOD ,E., VAN HOORN, D.E.C., BOELENS ,P.G., VAN NORREN ,K. et VAN LEEWWWEN, P.A.M.,(2001).**Flawonoides : a review of probable mechannisms of action and potential applications. Americain journal of clinical nutrition, 74 :418-425p.
- **NOGARET-EHRHART, E., (2003)**.La phytothérapie se soigner par la plante. Edition Eyrolles, Paris.
- **OKAMURA, H., MINURA, A., YAKOU, Y., NIWANO, M., et TAKAHARA,Y.,(1993).** Antioxidant activity of tannins and flavonoids in *Eucalyptus rostrata*.Phytochem, 33,557-561p.
- **OKUDA, T., KIMURA, Y., YOSHIDA, T., HATANO, T., OKUDA, H., et ARICHI, S.,(1983).**Studies on the activities of tannins and related compounds from medicinal plants and dugs. Inhibitory effects of lipid peroxidation in mitochondria and microsome of liver. Chem. Phar. Bull, 31p.
- **OLIVEIRA, R.P.S, PEREGO, P, OLIVEIRA, M.N,et CONVERTI ,A., (2011)** .Effect of inulin as aprebiotic to improve growth and counts of a probiotic cocktail in fermentedskim milk. LWT-*Food Science and Technology*, 44 (2), 520–523p.

- **PAOLINI, V., DORCHIES, P.H., HOSTE, H., (2003).** Effet des tanins condensés et des plantes à tanins sur les strongyloses gastro-intestinales chez le mouton et la chèvre. Alter. Agri., 17-19p.
- **PARIS, M., et HURABIELLE, M., (1981).** Matière médicale (pharmacognosie). Ed. Masson, T. 1, Paris,26-67p.
- **PERSIN, Z., STANA-KLEINSCHEK, K., FOSTER, T. J., VAN DAM, J. E. G., BOERIU, C. G., et NAVARD, P., (2011)**. Challenges and opportunities in polysaccharides research and technology: The EPNOE views for the next decade in the areas of materials, food and health care. Carbohydrate Polymers, vol. 84: 22-32p.
- **POLLOCK, C.J., CAIRNS, A.J., (1991).** Fructans metabolism in grasses and cereals. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 42, 77-101p.
- **PONCE, A.G., FRITZ, R., DELVALLE, C. et ROURA, S.I.,(2003).**Antimicrobial activity of essenciel oils on the native microflora of organic suiss chard.Lebensmittel-wissenschaft and technologie, 36,679-684p.
- **PRAT, R., MOSINIAK, M. et ROLAND, J. C., (2002)**. Physilogie végétale. Biologie et multimédia, Université Pierre et Marie Curie, UFR de biologie:,984-988p.
- **REINALDO, N., THENAZA, C.M.,et GINAS, N., (1986).** Pharmacological action of tannic acid and gallotanic. Planta médicina, 04 . 247-342p.
- **REYNIER, A.,(1986**).Manuel de viticulture. 4emeEd. J.B.Baillière. Paris, 359 p.
- **REYNIER , A., (1991)**.Manuel de viticulture. 6emeEd. J.B.Baillière. Paris, 365 p.
- **REYNIER, A., (1991).**Manuel de viticulture.Ed Lavoisier Paris , 285-288p.
- **REYNIER, A.,(2005)**.Manuel de viticulture : guide technique du viticulture.Neuvième edition.Ed : Tec et Doc.Paris,554P.
- **REYNIER, A., (2007).**Manuel de viticulture.10^{e} édition.J.B.Bailliere.Paris.532P.
- **RIBEREAU-GAYON, G.,et PEYNAUD, E .,(1980) .** sciences et techniques de la vigne, traité d'ampélogie. Tome 1.ED DUNOD. Parie, 725p.
- **RIBEREAU-GAYON, G. et PEYNAUD, E., (1971) .** Sciences et techniques de la vigne, T1, biologie de la vigne, sol de vignoble. EcLDunaud, Paris, 106-722p.
- **RITSEMA, T., et SMEEKENS, S., (2003)**. Fructans: beneficial for plants and humans. Current opinion in plant biology, vol. 6: 223-230p.
- **ROGER, O., (2002)**. Etude d'oligosaccharides bioactifs issus d'exopolysaccharides bactériens: obtention, caractérisation et relation structure/fonction. Thèse de Doctorat, université de Paris, 13. 195p.
- **ROSEMONT, P.P.,(2017).**Les plantes médicinales, guide pratique. Ed Sober, Montréal.

- **ROUX, D., CATIER, O., (2007)**.Botanique, pharmacognosie, phytothérapie. 3ème édition. Ed. Wolters Kluwer, Dalian. China, 141 p.
- **ROWLEY, A ., et RIBAUT, J.,(2003) .** Le vin. Une histoire de gout. Gallimard.
- **RUFF Y.,(2008)**. Biopolymers dynamiques: oligo-et polysaccharides. Thèse de doctorat, université Louis Pasteur, Strasbourg, 308 p.
- **RUIZ, G., (2005)** . Extraction, détermination structurale et valorisation chimique de phycocolloïdes d'algues rouges. Thèse de doctorat de l'université de Limoges, 36- 38p.
- **SADI ALI, S., SEKHER, R. (2009)**. Memoire de fin d'étude. Science agronomie thème contribution à l'étude des maladies du bois de la vigne en particulier l'Eutypiose au niveau de la commune de Tadmait-wilaya de tizi-ouzou,3p.
- **SANDRINE, G. C., (2004).** Etude structural des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge *Asparagopis armata* (Bonnemaisoniales), Thèse de doctorat en Biochimie, Université de Bretagne occidentale, 6 -7p.
- **SANTOYO, S.M., HERRERO, F.J., SENORANS, A., CIFUENTES, E., IBANEZ,E et JAIME, L., (2006).** Functional characterization of pressurized liquid extracts of *spirulina platensis*. *Eur. Food. Red. Technol*. Vol 224, 75-81p.
- **SANTOYO, S., RODRIGUEZ-MEIZOSO, L., CIFUENTES, A.,JAIME,L., GARCIA-BLAIRSY RINA, G., SENORANS, F.G., IBANEZ, E., (2009).** Green processes based on the extraction with pressurized 3 fluids to obtain potent antimicrobials from *Haematococcus pluvialis* microalgae.*Food. Sciences Technology***.** Vol 42,1213-1218p.
- **SARAOUI, N., (2006) .** Vision-perspective de développement de la viticulture. Revue : Green Algérie. Agriculture et destin commun os. 18-20p.
- **SCHMITT,J.R.,et FLEMMING ,H-C., (1998)**. FTIR-spectroscopy in microbial and material analysis.International Biodeterioration and Biodegradation, 41 : 1-11p.
- . **SCHOFIELD, P., MBUGUA, D.M., et PELL, A.N., (2001).** Analysisof condensed tannins, a review. *Anim. FeedSci. Technol*,91, 21-40p.
- **SEYOUM, A., ASRES, K., et EL-FIKY, F.K., (2006).** Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. Phytochemistry, 76 : 2058-2070p.
- **SIMS, I.M., (2003)**. Structural diversity of fructans from members of the order Asparagales in New Zealand. Phytochemistry, vol,63: 351-359p.

- **SIMON, J-L., EGGENBERGER, W., KOBLET, W., MISCHLER, M., et SCHWARZEN-BACH, J., (1992)**. Viticulture. Ed.Payot, Lausanne.
- **SINGH R, M., KAUR, N., et KENNEDY, J. F., (2015)**. Pullulan and pullulan derivatives as promising biomolecules for drug and gene targetingCarbohydrate Polymers, vol,123: 190-207p.
- **SINGLETON, V.L., ORTHOFER, R., LAMUELA-RAVENTOS, R., et LAMUELA-RAVENTOS, R.M.,(1999)**.Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin ciocalteu reagent. Method. Enzymol, 299, 152-17p .
- **STAVRIC, B., et MATULA, T.I.,(1992).** Flavonoids in food. Their significance for nutrition and hearth. In: ONG ASH et Paker L, Eds, Lipid soluble and antioxidants: Biochemistry and clinical applications, Basel: Birkhauser Verlag, 274-294p.
- **SUN, T., POWERS, J.R.,et TANG, J., (2007)**. Evaluation of the antioxidant activity of bio ccoli and their juices. Food chem, 105, pp. 101-106.
- **SVOBODA, P. et HAMPSON, J. B., (1999)**. Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities.Plant biology department,vol.65, 17p.
- **TAWAHA, K., ALALI, F.Q., GHARAIBEH ,M., MOHAMMAD, M.,et EL-ELIMAT, T., (2007).** Antioxidant activity and total phenolic content of selected jordanian plant species. Food Chem, 24(1), 19-25p.
- **VIDOUD, J., et al ., (1993)** . raisin de table, 263p.
- **WALALI, L., DOU EL MACAN , E., SKIREDJ, A., et ELATIIR, H., (2003) .**Transfert de technologie en agriculture. Revue n° 109. Bulletin mentuel d'information de liaison du PNTA. Revue en agriculture. Fiche technique : Le bananier, la vigne et les agrumes, 2p.
- **WARRAND, J., (2004)**. Etude structurale et propriétés en solution des polysaccharides constitutifs de mucilage de lin (Linum usitassimum). Ed, Université de Picardie jules verne, 238p.
- **WEINMAN, S. et MEHUL, P., (2004).** TOUTE LA BIOCHIMIE. Ed. DUNOD, 466p. 92p.
- **WILFRED, V., ET RALPH, N., (2006)**.Phenolic compound biochemistry Ed Springer. USA, 24p.
- **WINKLER, A.J., (1965).** Viticultura. Compañia Editorial Continental, S.A ., Mexico, 7p.

- **YANG, J., HAN, S., ZHENG, H., DONG, H., et LIU, J., (2015)**.Preparation and application of micro/nanoparticles based on natural polysaccharides. Carbohydrate Polymers, vol. 123: 53-66p.
- **ZABEIROU, H., (2001).** Contribution à l'inventaire des plantes spontanées et leur utilisation éventuelle en médicine traditionnelle par la population de Ouargla. Mémoire. Ing. Agro. Sah, INF/AS, Ouargla, 180p.
- **ZENK, MH., et JUENG, M., (2007)**. Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compounds. *Phytochemistry*, 68: 2757- 2772p.

Site web

- **Site 1 :**Faostat data., 2010,2011- http**://** faostat. fao. Org
- **Site 2 :**http://database.prota.org/recherche.htm [consulté le 12 .10. 2009].

Annexes

Annexe 1

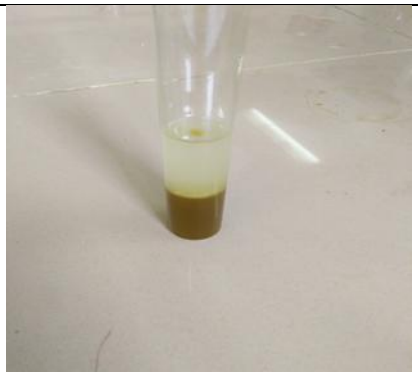
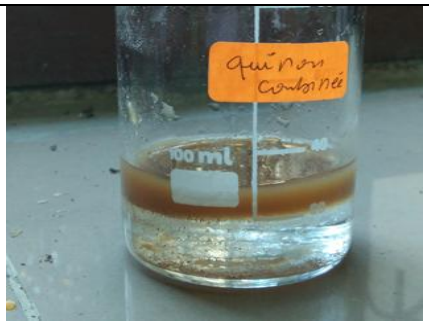
Tableau 1 : Appareillages, solvants, réactifs chimiques et milieux de culture, matériels, solutions.

Appareillages, verrerie de laboratoire	**solvants**	**Milieux de culture**
Agitateurs magnétiques, Balance de précision 0,001g (KERN 770), Bain-marie, Etuve(MEMMERT), Four à moufle (NABERTHERM) Spectrophotomètre UV-visible (EV 9200), pH –mètre (INOLAB), Plaque chauffante (RYPA), Béchers, Réfrigérateur, cuves, burette, cristallisoirs, éprouvettes, fioles, flacons, entonnoirs, spatules, tamis (500µm), tubes à essai.	Acide chlorhydrique ammoniaque Acétate de sodium Acide gallique Chloroforme Chlorure ferrique Carbonate de sodium Eau distillée Ethanol Ether d'éthylique Hydroxyde de sodium Isobutanol Méthanol Propanol Sulfate de sodium anhydre Réactif de dragendroff Réactif de Folin-ciocalteu Heptane Hydroxyde de potassium D'hydroxyde de potassium Aciton,dechlorométhane	-Mueller Hinton(MH) -Gélose Nutritive(GN) -Milieu PDA

Appareillages utilisés pour l'activité antimicrobienne	**Matériels**	**Solutions**
Autoclave de paillasse (WEBECO) Bain-marie (MEMMERT) Etuve bactériologiques (MEMMERT) : Etuve 37°C étuve 28°C Spectrophotomètre visible (MEDLINE)	Anse de platine, bec bunsen, boites Pétri, cuves, disques stériles (papier Wattman), écouvillons, embouts en plastiques stériles, micropipettes, pince, pipettes Pasteur, portoir pour tubes, tube à essai.	Eau distillée Eau physiologique Stérile (9g/l) Eau de javel

Annexe 2 : Résultats de screening phytochimique

Anthocyanes(-)	
Alcaloïdes (+++)	
Tanins (+++)	

Tanins galliques (+++)	
Flavonoïdes (-)	
Quinones libres ()	
Quinones combinées ()	
Glucosides(-)	

Coumarines(-)	
Sennosides(-)	
Saponines (-)	

Annexe 3

1. Préparation de la gamme d'étalonnage des polyphénols

On fait dissoudre 200mg d'acide gallique dans 100ml d'éthanol, soit une solution mère (S1) ensuite, on réalise une série de dilution de cette solution comme suit :

1. On prélève 5ml de la solution mère puis on additionne 5ml de l'eau distillée et on obtient la dilution S1/2
2. On prélève 5ml de la solution précédente S1/2 puis on ajoute 5ml de l'eau distillée et on obtient la solution S1/4
3. On procède la même manière pour les autres dilutions
4. Ajouter à tous les tubes 0.5ml du réactif de Folin-Ciocalteu, et ce à l'abri de la lumière
5. Laisser agir 5min
6. Ajouter 0.5ml de carbonate de sodium Na_2CO_3 (20%)
7. Incuber à l'abri de la lumière et à la température ambiante pendant 1heure.
   L'absorbance est mesurée à 760 nm contre un blanc (sans acide gallique).

Concentration	**0.5**	**1**	**1.5**	**2**	**3**	**4**	**6**	**8**	**10**	**12**	**14**
DO à 760 nm	0,001	0,0048	0,0096	0,5	0,.24	0,336	0,528	0,67	0,914	1,106	1,29

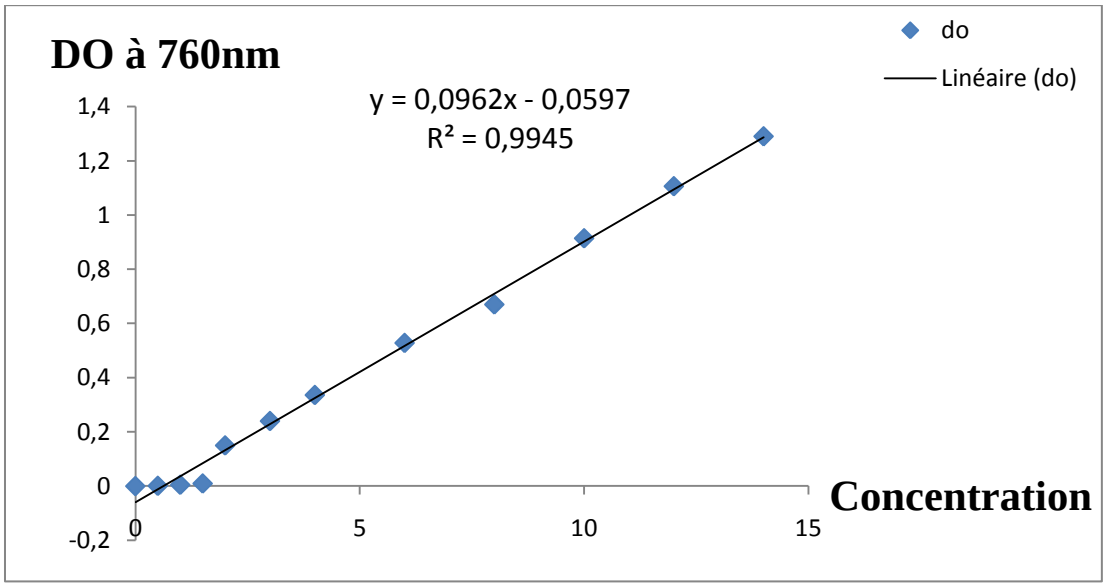
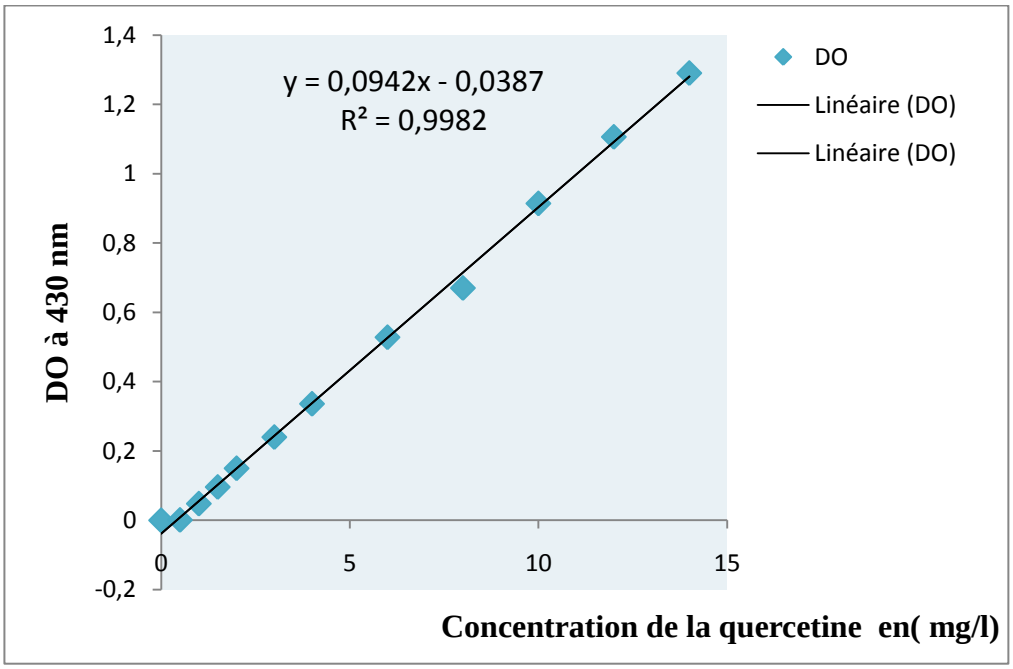


Figure : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

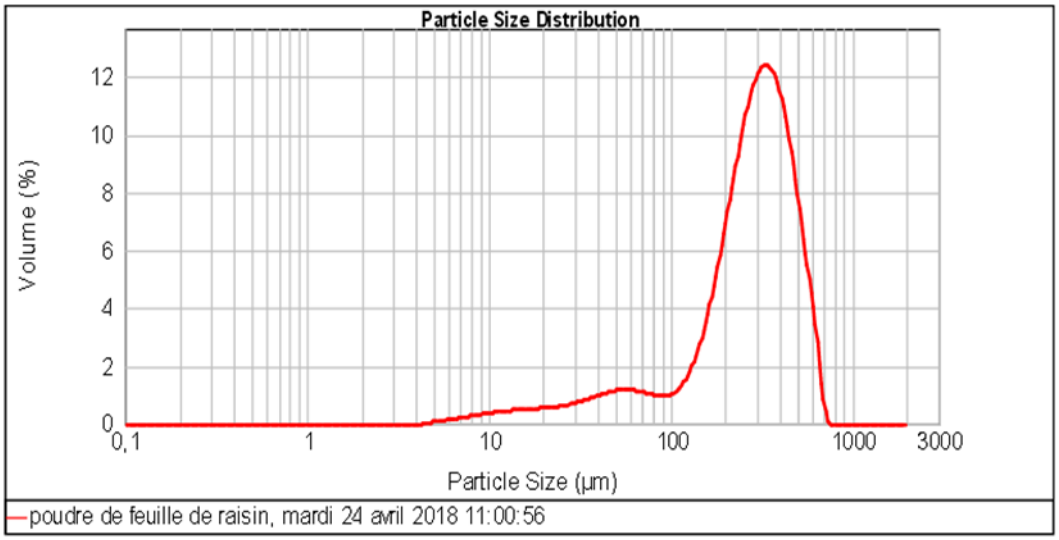
Annexe 4 : Préparation de la gamme d'étalonnage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode d'$AlCl_3$en utilisant comme standard la Quercitaine, les teneurs en flavonoïdes sont exprimées en mg EQ/g d'extrait.



Annexe 5 : Résultats de la granulométrie

d(0.1): 63,682 um d(0.5): 289,980 um d(0.9): 498,474 um



Size (µm)	Curr In %	Diff %
0,010	0,00	0,00
0,011	0,00	0,00
0,013	0,00	0,00
0,015	0,00	0,00
0,017	0,00	0,00
0,020	0,00	0,00
0,023	0,00	0,00
0,026	0,00	0,00
0,030	0,00	0,00
0,035	0,00	0,00
0,040	0,00	0,00
0,046	0,00	0,00
0,052	0,00	0,00
0,060	0,00	0,00
0,069	0,00	0,00
0,079	0,00	0,00
0,091	0,00	0,00
0,105	0,00	0,00
0,120	0,00	0,00
0,138	0,00	0,00
0,158	0,00	0,00
0,182	0,00	0,00

Size (µm)	Curr In %	Diff %
0,182	0,00	0,00
0,209	0,00	0,00
0,240	0,00	0,00
0,275	0,00	0,00
0,316	0,00	0,00
0,363	0,00	0,00
0,417	0,00	0,00
0,479	0,00	0,00
0,550	0,00	0,00
0,631	0,00	0,00
0,724	0,00	0,00
0,832	0,00	0,00
0,955	0,00	0,00
1,095	0,00	0,00
1,259	0,00	0,00
1,445	0,00	0,00
1,660	0,00	0,00
1,905	0,00	0,00
2,188	0,00	0,00
2,512	0,00	0,00
2,884	0,00	0,00
3,311	0,00	0,00

Size (µm)	Curr In %	Diff %
3,311	0,00	0,00
3,802	0,00	0,00
4,365	0,03	0,03
5,012	0,10	0,10
5,754	0,15	0,15
6,607	0,20	0,20
7,585	0,26	0,26
8,710	0,32	0,32
10,000	0,37	0,37
11,482	0,41	0,41
13,183	0,44	0,44
15,136	0,47	0,47
17,378	0,49	0,49
19,953	0,51	0,51
22,909	0,56	0,56
26,303	0,63	0,63
30,200	0,72	0,72
34,674	0,84	0,84
39,811	0,95	0,95
45,709	1,04	1,04
52,481	1,08	1,08
60,255		

Size (µm)	Curr In %	Diff %
60,256	1,05	1,05
69,183	0,97	0,97
79,433	0,89	0,89
91,201	0,91	0,91
104,713	1,14	1,14
120,226	1,68	1,68
138,038	2,66	2,66
158,489	4,06	4,06
181,970	5,85	5,85
208,930	7,76	7,76
239,883	9,54	9,54
275,423	10,79	10,79
316,228	11,22	11,22
363,078	10,61	10,61
416,869	9,05	9,05
478,630	6,68	6,68
549,541	4,32	4,32
630,957	1,24	1,24
724,436	0,00	0,00
831,764	0,00	0,00
954,993	0,00	0,00
1096,478		

Size (µm)	Curr In %	Diff %
1096,478	0,00	0,00
1258,925	0,00	0,00
1445,440	0,00	0,00
1659,587	0,00	0,00
1905,461	0,00	0,00
2187,762	0,00	0,00
2511,886	0,00	0,00
2884,032	0,00	0,00
3311,311	0,00	0,00
3801,894	0,00	0,00
4365,158	0,00	0,00
5011,872	0,00	0,00
5754,399	0,00	0,00
6606,934	0,00	0,00
7585,776	0,00	0,00
8709,636	0,00	0,00
10000,000		

Annexe 6 : Composition des solutions et des milieux de culture utilisés

- ✓ **Eau physiologique stérile**

Composition en g/l :

Chlorure de sodium (NaCl)..... 9g

Eau distillée..... 1000ml

pH=7

Stérilisation à 120°C/15min.

- ✓ **Gélose nutritive (GN)**

Composition en g/l

Peptone. 10g Extrait de viande 3g

Extrait de levure 3g

Chlorure de sodium5g Agar 18g

pH = 7,2±0,2

Stérilisation à 120°C/15 min

- ✓ **Gélose Müeller Hinton (MH)**

Composition en g/l :

Extrait de viande..... 3g

Hydrolysat acide de caséine 17,5g

Agar 18g

pH=7,4

Stérilisation à 120°C/15 min.

- ✓ **Potato Dextrose Agar (PDA)**

Composition en g/ml

Pomme de terre.....200g

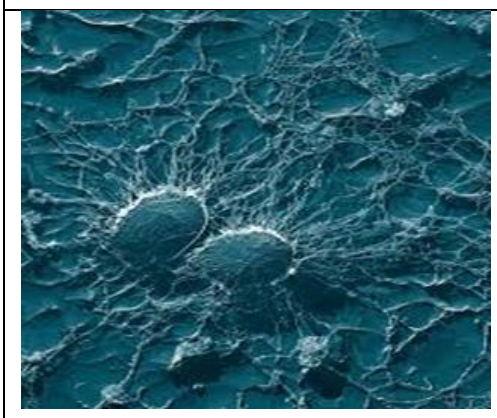
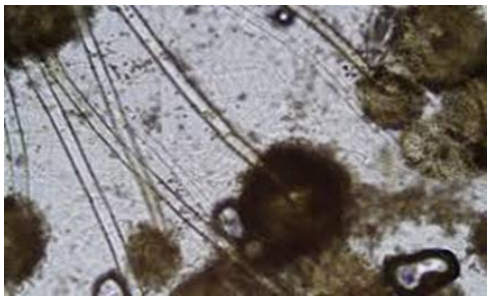
Dextrose 15g

Agar.....20g

Eau distillée.....1000ml

Stérilisation à 120°C/15 min.

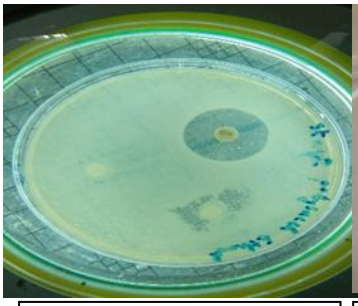
Annexe 7 : souches microbiennes utilisées.

Bactéries	taxonomie	Caractères généraux
Escherichia coli	Nom scientifique : *Escherichia coli* Règne : Bacteria Embranchement : Proteobacteria Classe : Gamma Proteobacteria Ordre : Enterobacteriales Famille : Enterobacteriaceae Genre : Escherichia	-Bacille -Gram négatif -Mobile -Oxydase négative -Catalase positive -Fermentaire
 *Staphylococcus aureus*	Nom scientifique : *Staphylococcus aureus* Classification supérieure : Staphylocoque Rang : Espèce Règne : Bacteria Ordre : Bacillales Classe : Bacilli	-Coque en amas -Gram positif -Immobile -Non-sporulé -Aérobie -Catalase positive -Oxydase négative
Moisissure	**Taxonomie**	**Caractères généraux**
 *Aspergillus niger*	Nom scientifique : *Aspergillus niger* Classe : Eurotiomycetes Famille : Trichocomaceae Classification supérieure : Aspergillus Sous-classe : Eurotiomycetidae	Champignon filamenteux

Levure	Taxonomie	Caractères généraux
 Candida albicans	Nom scientifique : *Candida albicans* Règne : Fungi Classe : Saccharomycètes Ordre : Saccharomycetales Famille : Saccharomycetaceae Genre : Candida	-Levure diploïde -Non-encapsulée - saprophyte -Flore commensale de la maqueuse

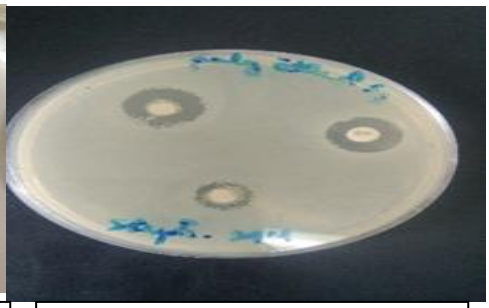
Annexe 8 : Résultats de l'activité antimicrobienne

- ***Staphylococcus aureus***

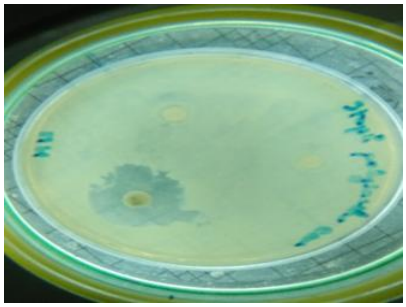


Extrait ethanolique de polysaccharides **(Ɵ= 0)**

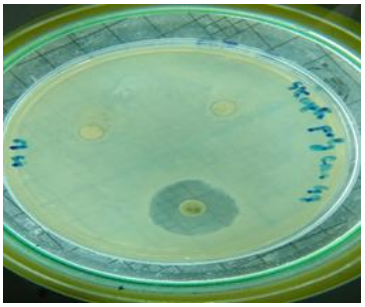
Tanins **(Ɵ= 33, 5)**



Extrait ethanolique des polyphenols **(Ɵ= 18.5)**

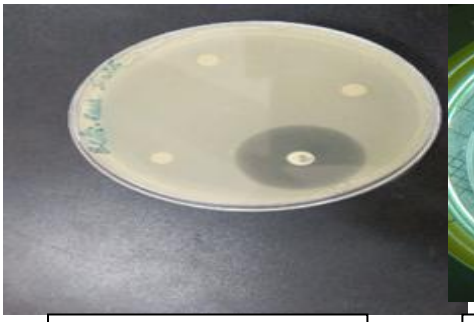


Extrait aqueux de polysaccharides hydrosolubles **(Ɵ= 0)**

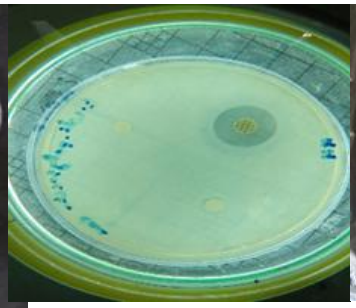


Extrait aqueux de polyphenols **(Ɵ= 0)**

- ***E. coli***



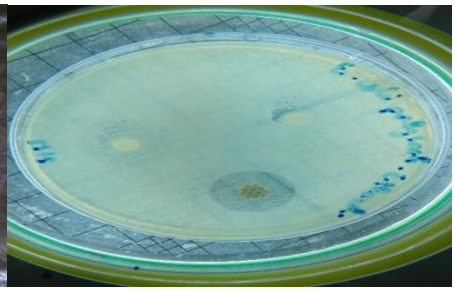
Polyphénol eau **(Θ= 0)**



Polysaccharide eau **(Θ= 0)**

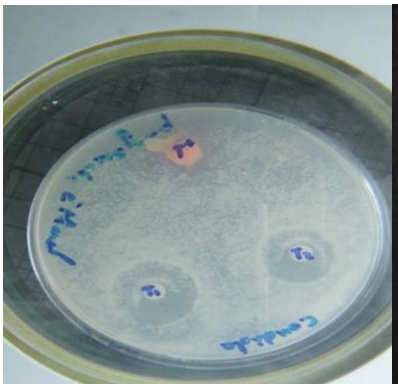
Polyphénol éthanol **(Θ=19)**

Tanin (**Θ= 30,667)**



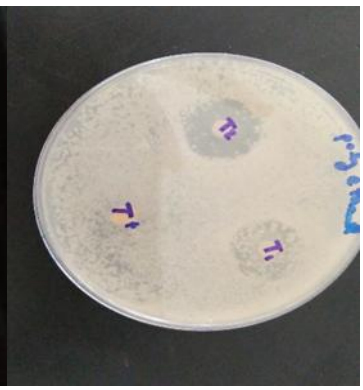
Polysaccharide ethanol **(Θ= 0)**

- ***Candida albicans***

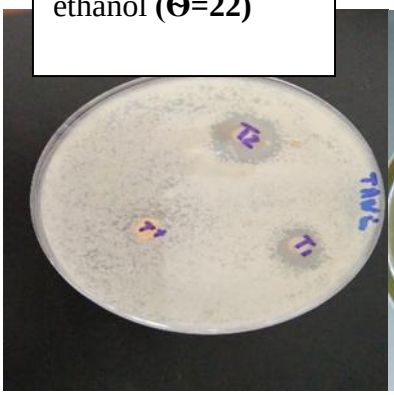


Polysaccharide éthanol **(Θ=22)**

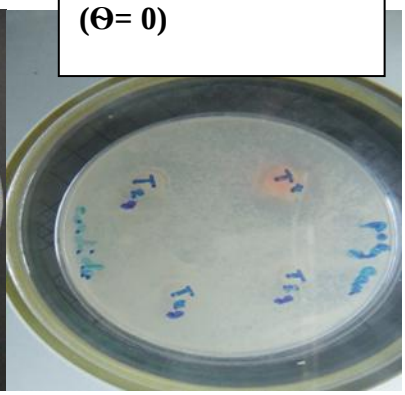
Polysaccharide eau **(Θ= 0)**



Polyphénol éthanol **(Θ= 18,5)**



Tanin **Θ=(17,5)**



polyphénol eau **(Θ= 0)**

Annexe 9 : Conditions opératoires de l'analyse de CPG

Conditions Chromatographiques **pour esters méthyliques des huiles**	
Chromatographe	Chrompack CP 9002
Détecteur	FID (250C°)
Injecteur	SPLIT 1/100 (250C°)
Gaz vecteur	Azote
Colonne Capillaire	Cp Sil 8 CB(5%Phenyl+ 95%dimethylpolysiloxane)
Longueur	30 m
Diamètre intérieur	0,32 mm *0.25 UM
Epaisseur	0,25 µm
Injecteur	250°C
Détecteur	280°C
Four	150 C°------ 200 C° (4C°/mn)
Quantité injectée	0.8ul
Vitesse du papier	0.5 cm/ mn

Résumé

Résumé

Cette étude est une contribution scientifique à valorisation des ressources agricoles en vue une meilleure utilisation. L'étude de caractérisation de certains composés actifs (polyphénols, flavonoïdes, tanins et polysaccharides hydrosolubles) des feuilles de vigne variété *Muscat d'alexendrie* a été réalisée. L'activité antimicrobienne des extraits (aqueux et ethanolique) des ces composés a été évaluée.

Les résultats obtenus démontrent que les feuilles de raisins analysées présentent une source des substances bioactives (polyphénols, flavonoïdes, tanins et polysaccharides hydrosolubles) avec des teneurs variables. En outre, on note la présence d'oligo-éléments et de sels minéraux avec un rapport k/Na élevé. Concernant les résultats de l'activité antimicrobienne montrent que les extraits taniques (aqueux et ethanolique) possèdent une meilleure activité vis-à-vis les souches testées par rapport aux autres extraits des composés phénoliques et de polysacchaides.

En conclusion, il semblerait que l'espèce *Muscatd'alexendrie* possède plusieurs composés métaboliques pouvant être utilisés à des fins thérapeutiques.

Mots clés : *Muscat d'alexendries*, feuilles, polysaccharides hydrosolubles, composés phénoliques, activité antimicrobienne .

Abstract

This study is a scientific contribution to the valorization of agricultural resources for a better use. The characterization study of certain active compounds (polyphenols, flavonoids, tannins and water-soluble polysaccharides) of the vine leaves Muscat variety of Alexandria was carried out. The antimicrobial activity of the extracts (aqueous and ethanolic) of these compounds was evaluated. The results obtained demonstrate that the analyzed grape leaves present a source of bioactive substances (polyphenols, flavonoids, tannins and water-soluble polysaccharides) with variable contents. In addition, there is the presence of trace elements and mineral salts with a high k / Na ratio. Regarding the results of antimicrobial activity show that the tannic extracts (aqueous and ethanolic) have a better activity vis-a-vis the strains tested compared to other extracts of phenolic compounds and polysaccharides. In conclusion, it appears that Muscat d'alpex has several metabolic compounds that can be used for therapeutic purposes.

Key words: Muscat of alexendria, leaves, water soluble polysaccharides, phenolic compounds, antimicrobial activity.