



FÉDÉRATION ALGERIENNE DE PHARMACIE

Disponible en ligne sur

ASJP
 Algerian Scientific Journal Platform

<https://www.asjp.cerist.dz/en/PresentationRevue/436>


ARTICLE ORIGINAL

Activités antioxydantes et antimicrobiennes des feuilles de *Vitis vinifera* L. d'Algérie

Antioxidant and antimicrobial activities of Algerian *Vitis vinifera* L. leaves

Mohammed Adil SELKA^{a,*}, Mohammed Yacine ACHOURI^b, Amel CHENAF^b

^a Département de Pharmacie-faculté de Médecine-Laboratoire Toxicomed-Université de Tlemcen

^b Département de Pharmacie-Faculté de Médecine-Université Djillali Liabès

Article reçu le 25-06-2021; accepté le 08-08-2021

MOTS CLÉS

Polyphénols
Vigne
Antioxydant
Antimicrobien

Résumé

Introduction : Les polyphénols sont des métabolites secondaires présents dans toutes les plantes vasculaires. La vigne rouge est une plante connue pour sa richesse en substances phénoliques dont le fruit a fait l'objet de plusieurs travaux, cependant les feuilles de cette plante n'ont que rarement été étudiées.

L'objectif principal de ce travail était de tracer le profil polyphénolique des feuilles de vigne rouge provenant de diverses régions d'Algérie et de tester leur activité antioxydante et antimicrobienne.

Méthodes :

Un dosage spectrophotométrique sur dix échantillons des principaux groupes phénoliques a été réalisé, le screening du pouvoir antioxydant par la méthode au diphényl 1-picrylhydrazyle et le test de réduction de fer a été effectué. L'activité antimicrobienne a été testée par détermination des concentrations minimales inhibitrices par microdilution manuelle en milieu liquide.

Résultats : Les résultats ont montré que tous les échantillons de feuilles étudiés sont riches en composés phénoliques avec des différences d'une région à une autre où les teneurs en polyphénols varient de 246±18,93 à 923±88,06 mg Eq en acide gallique / g Matière sèche. L'activité antioxydante a été largement traitée et mise en évidence, l'extrait d'Ain Témouchent est de loin le plus actif avec une concentration inhibitrice lors du test au diphényl 1-picrylhydrazyle de 0,08mg/ml qui est supérieur à celle de l'acide ascorbique.

La détermination des concentrations minimales inhibitrices des différents extraits sur les souches étudiées a permis de dégager certains extraits plus actifs que d'autres notamment l'extrait de Ain Témouchent avec une concentration minimale inhibitrice de 0.312 mg/ml vis-à-vis d'*Escherichia coli*, du *Staphylococcus aureus* et du *Candida albicans*

Conclusion : Ces travaux ont permis de tracer un profil polyphénolique des

feuilles de vigne rouge de différentes régions algériennes et de démontrer ses propriétés antioxydantes et antimicrobiennes.

© 2022 Fédération Algérienne de Pharmacie. Tous droits réservés.

KEYWORDS

Polyphenols
Grape
Antioxydant
Antimicrobial

Abstract

Introduction: Polyphenols are secondary metabolites found in all vascular plants. Red vine is a plant known for its richness in phenolic compounds; the fruit has been the subject of different studies, however the leaves were rarely studied.

The main objective of this study was to trace the phenolic profile of red vine leaves from various regions of Algeria and to investigate their antioxidant and antimicrobial activities.

Methods: A spectrophotometric assay of ten samples of the main phenolic groups was performed. The screening of antioxidant power was assessed by diphenyl 1-picrylhydrazyle and Ferric Reducing Antioxidant Power Assay tests and the search of the antimicrobial activity was assessed by the determination of the Minimum Inhibitory Concentration using the microdilution method.

Results: The results showed that all the studied leaves samples are rich in phenolic compounds with differences from one region to another. The polyphenol contents range is from $\pm 246 \pm 18,93$ to $923 \pm 88,06$ mg Eq acid gallic / g. The antioxidant activity was widely covered and highlighted; the leaves extract of Ain Temouchent sample is the most active with a Half maximal Inhibitory Concentration by diphenyl 1-picrylhydrazyle test of 0,08 mg / ml, which is higher than the inhibition concentration of acid ascorbic.

The determination of the Minimum Inhibitory Concentration of the various extracts for the strains studied has identified some active extracts particularly that of Ain Temouchent a microbial inhibition concentration of 0.312mg / ml for *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*.

Conclusion: This study helped to profile Algerian red vine leaves polyphenols, and to show their antioxidant and antimicrobial properties.

© 2022 Fédération Algérienne de Pharmacie. All right

* Auteur correspondant :

Adresse e-mail : ad.selka@gmail.com (MA. Selka)

Introduction :

Les plantes sont la source inéluctable pour la découverte de nouvelles molécules importantes dans le développement des médicaments. Aujourd'hui, plusieurs métabolites secondaires dérivés de plantes sont des médicaments importants qui sont actuellement utilisés dans plusieurs pays. Les métabolites secondaires sont économiquement importants en tant que médicaments, saveurs, parfums, colorants et pigments ainsi qu'en tant que pesticides et additifs alimentaires. L'importance commerciale des métabolites secondaires à susciter, durant les dernières années un grand intérêt dans l'industrie pharmaceutique et agroalimentaire, en particulier par la possibilité de modifier la production de métabolites bioactifs de plantes au moyen de la technologie de culture cellulaire [1]. Les polyphénols sont des métabolites secondaires présents dans toutes les plantes vasculaires, et

constituent une grande famille de substances omniprésentes et variées, à partir de molécules simples à des structures complexes.

Dans la dernière décennie, il y a eu beaucoup d'intérêt pour le potentiel antioxydant des polyphénols végétaux alimentaires dans le domaine de la santé, propriété pour laquelle ils ont longtemps été utilisés dans l'industrie agro-alimentaire en tant que conservateurs pour empêcher notamment le rancissement des matières grasses et ceci par l'effet antimicrobien et antioxydant de ces substances.

La vigne rouge, *Vitis vinefera* L.; *Vitaceae*, représente largement une de ses plantes riches en ces substances, cette plante qui nous vient de l'antiquité, en fait l'une des cultures fruitières la plus largement cultivées dans le monde entier [2]. A côté du fruit « le raisin », les feuilles de *Vitis vinifera* L. ont été anciennement utilisées. La médecine utilisait la feuille de vigne rouge comme spasmolytique, hypoglycémiant et pour ces effets

vasorelaxants, ainsi que comme antibactérien, antifongique et anti-inflammatoire [3].

L'objectif de cette étude est de déterminer le pouvoir antioxydant et antimicrobien des feuilles de vigne rouge issus de différentes régions d'Algérie.

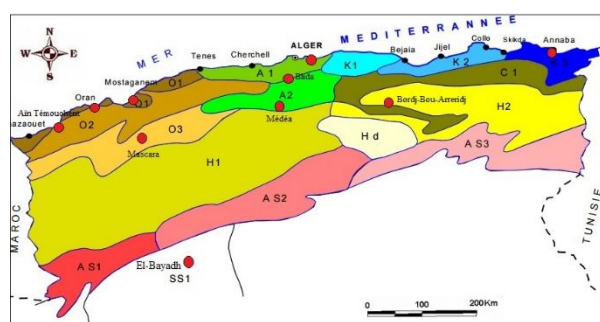
Matériel et méthodes

• Appareillage

Étuve Memmert type U10-Allemagne ; évaporateur rotatif Buchi Rotavap RII, Allemagne Spectrophotomètre OPTIZEN 3220 -Corée du Sud ; Vortex VWR- Allemagne ; densitomètre DEN-1 McFarland – France.

La présente étude a été réalisée sur les feuilles de *Vitis vinifera* L. sous espèce sativa du compartiment cultivé. La récolte des feuilles a été effectuée dans diverses régions d'Algérie, le choix des régions a été objectif par le rapport de l'organisation internationale d'œnologie et de viticulture (classant les régions les plus connues pour la viticulture à travers le territoire du Nord Algérien d'Est en Ouest [4].

La région d'El-Bayadh ne figure pas sur le rapport de l'OIV 2014, elle fut introduite suite au développement récent que connaît la viticulture dans cette régions malgré son climats particuliers. Parmi les étages bioclimatiques retrouvés on a l'étage sub humide a humide qui est le plus fréquent, suivi par l'étage semi-aride et l'étage saharien qu'on retrouve que dans la région d'El – Bayadh. Les situations géographiques ainsi que les étages bioclimatiques des différentes stations sont représentés dans la (figure 1) et le Tableau I



K1, K2 et K3 : Numidien **A1** : Littoral centre **O1** : Littoral ouest **C1 et A2** : Atlas tellien **O2** : Plaines oranaises intérieures **H2** : Hautes plaines constantinoises **H1** : Hautes plaines centre ouest **AS3** : Aures-Nemencha **AS1/AS2** : Atlas saharien central et occidental **Hd** : Hodna **SS1** : Saharien

Figure 1. Secteurs bioclimatiques des stations étudiées [5].

Tableau 1 : Les situations géographiques et les étages bioclimatiques des différentes stations de l'étude

Région	Secteur	Etage Bioclimatique
Terga – Aïn Témouchent	Plaines oranaises intérieure : O2	Semi-aride
Bir El Djir – Oran	Littoral ouest : O1	Sub humide
Dellys – Boumerdès	Littoral centre : A1	Sub humide
Aïn Soltane - Bordj-Bou-Argeridj	Hautes plaines constantinoise H2	semi-aride
Stidia – Mostaganem	Littoral ouest : O1	Sub humide
Dhayet El-Bagra El-Bayadh	Saharien : SS1	Saharien
Si Mahdjoub - Médéa	Atlas tellien : A2	Sub humide à humide
El Bouni – Annaba	Numidien : K3	Sub humide à humide
Beni Chougrane – Mascara	Atlas tellien : O3	Sub humide à humide
Mitidja - Blida	Littoral centre : A1	Sub humide

• Déroulement de l'étude

La récolte a été réalisée en automne 2015 (septembre-octobre), période à laquelle les feuilles commencent à prendre une coloration rougeâtre et leur taux en polyphénols est à son maximum [6].

L'opération de récolte a été menée avec la participation d'étudiants en 6^{ème} année pharmacie, de pharmaciens pharmacognostes, de pharmaciens botanistes et d'agronomes.

Les échantillons récoltés ont été identifiés dans le laboratoire de botanique du département de pharmacie de Sidi Bel Abbés par Dr M.C et confirmés par l'Institut de Botanique de l'Université de Liège en Belgique par Pr C.E.

Le matériel végétal a été séché à l'ombre, à l'abri de l'humidité et à température ambiante. Le temps de séchage a été d'une moyenne de 10 jours pour les différents échantillons, qui ensuite ont été conservés dans des sacs en papier kraft.

Une fiche de renseignement a été remplie pour chaque échantillon mentionnant : le code, le lieu de récolte, la date de récolte, la technique de séchage et les coordonnées de la station de récolte.

Les opérations d'extraction, de dosage spectrophotométrique et les tests d'évaluation du pouvoir antioxydant ont été réalisés au laboratoire de pharmacognosie de Sidi Bel Abbés.

L'étude de l'activité antimicrobienne a été réalisée au laboratoire de microbiologie et de parasitologie du CHU Tlemcen.

- **Extraction des composés phénoliques**

Une quantité de 40 g de feuilles préalablement broyées a été placée dans un ballon contenant 100 ml du solvant méthanol-eau (80 – 20) v/v et 0.1 ml/ml d'acide chlorhydrique concentré afin d'éviter l'oxydation des polyphénols. Une extraction a été réalisée par reflux à une température de 60°C pendant 30 minutes, la stabilité de la température a été assurée par une l'huile spéciale de type thermostat.

Les extraits ont été ensuite filtrés puis centrifugés à 3000 rpm pendant 20 min à 25 °C. Une partie des extraits a été évaporée à basse température sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif, l'extrait sec ainsi obtenu a été utilisé pour le screening de l'activité antioxydante.

Les extraits liquides et secs ont été conservés à basse température dans des flacons sombres jusqu'à leur utilisation [7].

- **Dosage des polyphénols totaux**

400 microlitres de l'extrait méthanolique dilué au 1/300^{ème} a été mélangé avec 1.6 ml d'une solution de carbonate de sodium (Na₂CO₃) à 7.5 %, 2 ml du réactif de Folin-Ciocalteu (dilué aux 1/10^{ème}) fraîchement préparé ont été ajoutés puis homogénéisés à l'aide d'un vortex, le tout a été laissé incubé pendant 30 minutes à température ambiante et à l'obscurité. L'absorbance a été mesurée à 765 nm. Une courbe d'étalonnage a été obtenue à l'aide de solutions d'acide gallique de différentes concentrations. Toutes les opérations ont été réalisées en triplicata [8].

- **Dosage des flavonoïdes**

1 ml de l'extrait méthanolique dilué a été mélangé avec 3ml d'eau distillée, suivis de 300 µl d'une solution de nitrite de sodium (NaNO₂) à 7 %. Après cinq minutes d'incubation, 300 µl de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 10 % ont été ajoutés au mélange, le tout a été laissé pendant six minutes. Ensuite, 1 ml d'hydroxyde de sodium (1M) a été ajouté aux tubes. Après 5 minutes, l'ensemble a été agité à l'aide d'un Vortex, la lecture a été faite à 510 nm contre un blanc de méthanol. Toutes les opérations ont été réalisées en triplicata. La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y = a x + b$) réalisée par un standard étalon "la catéchine" à différentes concentrations (0.01-0.07 mg/ml) traitées dans les mêmes conditions que l'échantillon [9].

- **Dosage des tanins condensés**

Un volume de 50 µl de l'extrait brut a été ajouté à 1500 µl de la solution vanilline/méthanol (4 %, m/v) puis mélangé à l'aide d'un vortex. Ensuite, 750 µl de l'acide chlorhydrique concentré (HCl) ont été additionnés et l'ensemble est laissé à température ambiante pendant 20 min. L'absorbance a été mesurée à 500 nm contre un

blanc de méthanol. La formule suivante a été utilisée pour le calcul de la teneur en tanins condensés exprimée en microgrammes d'équivalent de catéchine par milligramme d'extrait (µg EQ/mg). en se référant à la courbe d'étalonnage de la catéchine [10].

$$T = \frac{C \times V \times D \times Q}{P_s}$$

T : Teneur en tanins condensés

C : Concentration de l'extrait obtenue à partir de l'équation de la courbe d'étalonnage

V : Volume d'extrait total.

D : Facteur de dilution

Q : Masse molaire de la catéchine

P_s : Poids de la matière sèche.

- **Evaluation du pouvoir antioxydant**

- **Activité antioxydante totale (TAC)**

Un volume de 0.3 ml de chaque extrait méthanolique a été mélangé avec 3 ml de solution du réactif (0.6 M acide sulfurique, 28 mM phosphate de sodium et 4 mM molybdate d'ammonium). Les tubes fermés ont été incubés à 95°C pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance des solutions a été mesurée à 695 nm contre un blanc qui contient 3 ml de la solution du réactif et 0.3 ml de méthanol et qui a été incubé dans les mêmes conditions que l'échantillon. Toutes les opérations ont été réalisées en triplicata. L'activité antioxydante totale a été déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage réalisée à l'aide d'une gamme étalon d'acide ascorbique à différentes concentrations dans les mêmes conditions que l'échantillon.

Les résultats sont exprimés en milligramme équivalents d'acide ascorbique par gramme de matière sèche (mg EAA/ g MS) [11].

- **Réduction du fer : FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)**

0.5 ml de chaque échantillon à différentes concentrations, a été mélangé avec 1.25 ml d'une solution tampon phosphate à 0.2 M (pH= 6.6) et 1.25 ml d'une solution de ferricyanure de potassium K₃ [Fe(CN)₆] à 1%. Le tout a été incubé à 50°C pendant 20 min, puis refroidi à température ambiante. 2.5 ml d'acide trichloracétique à 10% ont été ajoutés pour stopper la réaction, puis les tubes ont été centrifugés à 3000 rpm pendant 10 min. 1.25 ml du surnageant ont été ajoutés à 1.25 ml d'eau distillée et 250 µl d'une solution de chlorure de fer (FeCl₃, 6H₂O) à 0.1%.

La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel a été faite à 700 nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée qui a permis de calibrer le spectrophotomètre. Le contrôle positif utilisé était une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesurée dans

les mêmes conditions que les échantillons. Le pouvoir réducteur du fer est exprimé par la CI50, qui correspond à la concentration de l'échantillon donnant une absorbance de 0,5 [12]

Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazil)

Un volume de 50 µl de différentes concentrations de chaque extrait exprimées en g/l a été ajouté à 1,950 ml de la solution méthanolique du DPPH• (0.025 g/l) fraîchement préparée. Parallèlement, un contrôle négatif a été préparé en mélangeant 50 µl de méthanol avec 1,95 ml de la solution méthanolique de DPPH. La lecture de l'absorbance a été faite contre un blanc de méthanol pour chaque concentration, à 515 nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante. Le contrôle positif a été représenté par deux solutions d'antioxydant standard ; l'acide ascorbique et le Hydroxytoluène butylé BHT dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration le test a été répété trois fois.

Le pourcentage d'inhibition des radicaux libres de DPPH a été calculé d'après la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{[\text{abs du control} - \text{abs de l'échantillon}]}{\text{abs du contrôle}} \times 100$$

Les valeurs de l'IC50 (concentration nécessaire pour inhiber 50% des radicaux libres) ont été déterminées graphiquement par la régression linéaire [13].

Activité antibactérienne et antifongique

L'évaluation de l'activité antimicrobienne et la détermination de la concentration minimale inhibitrice ont été réalisées par la méthode de microdilution manuelle en milieu liquide sur microplaques. Quatre bactéries ont été testées : *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* ainsi qu'un champignon *Aspergillus brasiliensis* (moisissure) et une levure *Candida albicans*. Les souches qui ont été obtenues de l'Institut Pasteur d'Alger sont des lots de l'ATCC (American Type Culture Collection).

Dans une microplaque de 96 puits, une gamme de concentrations de 100 µl de chaque extrait a été effectuée par des dilutions au demi dans une solution de DMSO à 5%.

A partir d'une culture microbienne de 24 heures d'incubation, une pré-culture a été préparée pour atteindre la phase exponentielle de croissance microbienne. Une fois sa densité optique à 600 nm obtenue, cette pré-culture a été utilisée pour préparer un inoculum de 2.106 UFC/ml dans un bouillon Muller Hinton concentré deux fois. Ensuite 100 µl de cet inoculum ont été homogénéisés dans chaque puits de la gamme de concentrations préalablement préparée puis incubés à 37°C pendant 24 heures. Au bout de cette période, la turbidité de chaque puits a été

appréciée à l'œil nu à la lumière du jour, la plus petite concentration dans laquelle une absence de turbidité a été observée, a permis de déterminer la Concentration Minimale inhibitrice (CMI) de l'extrait en question, sur la souche de l'inoculum utilisé [14].

Le même protocole a été réalisé pour déterminer la CMI vis-à-vis de la levure et du champignon en remplaçant le milieu Muller Hinton par du milieu Sabouraud et une incubation à 25°C au lieu de 37°C.

Exploitation statistique

Le test d'analyse des variances (ANOVA) a été utilisé pour vérifier la signification des différences observées simultanément entre les concentrations en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés.

Le test de comparaison multiple de Tuckey-Kramer a été utilisé lorsque le P-value ≤ 0.05 à l'issue du test d'ANOVA et ce dans le but de rechercher les différences statistiquement significatives à l'intérieur des groupes dans les concentrations en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés. Ces différents tests statistiques ont été réalisés à l'aide du logiciel SPSS 2.0.

Résultats

Teneurs en polyphénols totaux

(La figure 2) résume les résultats obtenus des teneurs en polyphénols totaux des extraits pour chaque région étudiée.

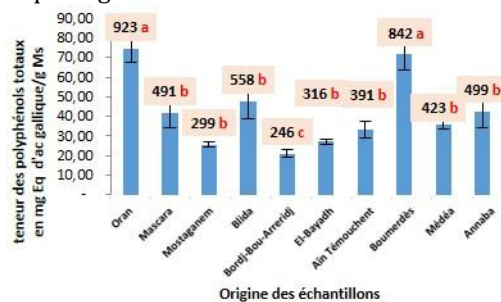


Figure 2 : Teneurs en polyphénols des des feuilles de *Vitis vinifera* L. des régions étudiées

Les histogrammes avec des lettres différentes ont des valeurs significativement différentes selon le test d'ANOVA à un seul facteur et le test de Post Hoc de Tuckey avec p-value ≤ 0.05

Les teneurs en polyphénols totaux les plus élevées ont été retrouvées dans les feuilles de la région d'Oran et de Boumerdes avec des valeurs de l'ordre de 923±88,06 et 842±76,02 mg Eq en acide gallique / g Ms. La quantité la moins importante a été retrouvée dans les feuilles de la région de Bordj-Bou-Arredj de l'ordre de 246±18,93 mg Eq en acide gallique / g Ms.

Le reste des teneurs des autres régions varient de 299±14,76 à 499±82,06 mg Eq en acide gallique / g Ms.

Teneurs en flavonoïdes

(La figure 3) résume les résultats obtenus des teneurs en flavonoïdes des extraits pour chaque région étudiée.

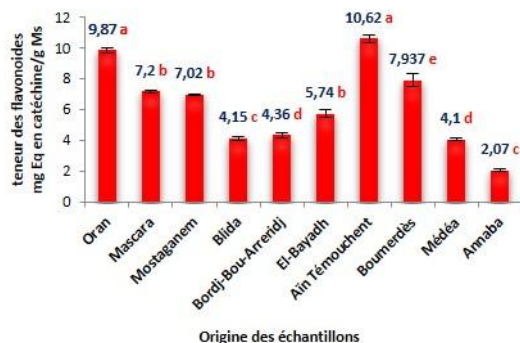


Figure 3 : Comparaison des teneurs en flavonoïdes des feuilles de *Vitis vinifera L.* des régions étudiées

Les histogrammes avec des lettres différentes ont des valeurs significativement différentes selon le test d'ANOVA à un seul facteur et le test de Post Hoc de Tuckey avec $p\text{-values} \leq 0.05$

Les feuilles des régions d'Ain Témouchent et d'Oran renferment les teneurs les plus élevées en flavonoïdes qui sont de l'ordre de $10,62 \pm 0,23$ et $9,87 \pm 0,15$ mg Eq en catéchine/g Ms, respectivement. La teneur la plus basse est retrouvée au niveau des feuilles de la région d'Annaba de l'ordre de $2,07 \pm 0,08$ mg Eq en catéchine/g Ms. Les teneurs des feuilles des autres régions varient de $7,93 \pm 0,43$ à $4,10 \pm 0,73$ mg Eq en catéchine/g Ms.

Teneurs en tanins condensés

(La figure 4) résume les résultats obtenus des teneurs en tanins condensés des extraits pour chaque région étudiée.

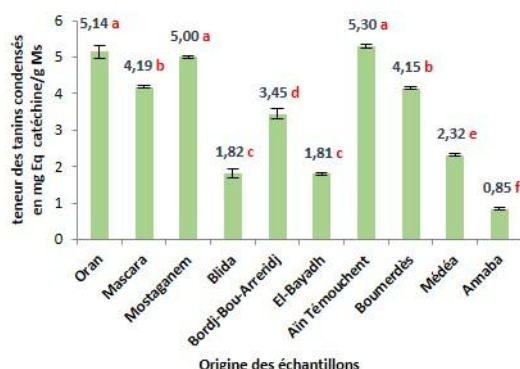


Figure 4 : Comparaison des teneurs en tanins condensés des feuilles de *Vitis vinifera L.* des régions étudiées

Les histogrammes avec lettres différentes ont des valeurs significativement différentes selon le test d'ANOVA à un seul facteur et le test de Tuckey Post Hoc avec $p\text{-values} \leq 0.05$

Les teneurs en tanins condensés les plus élevées ont été retrouvées dans les feuilles de la région d'Ain Témouchent et d'Oran avec des valeurs de l'ordre de $5,30 \pm 0,04$ et $5,14 \pm 0,16$ mg Eq en catéchine / g Ms, respectivement. La quantité la moins importante a été retrouvée dans les feuilles de la région de Annaba de l'ordre de $0,85 \pm 0,03$ mg Eq en catéchine / g Ms. Le reste des teneurs des autres régions varient de $5,00 \pm 0,05$ à $2,32 \pm 0,04$ mg Eq en catéchine / g Ms.

Activité antioxydante

• La capacité antioxydante totale (CAT)

La (figure 5) résume la capacité antioxydante totale des extraits de feuilles de vigne rouge des régions étudiées.

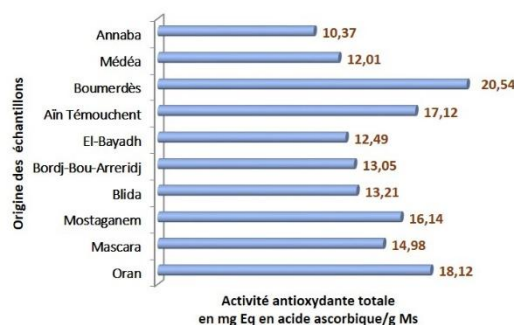


Figure 5 : capacité antioxydante totale des feuilles de *Vitis vinifera L.* des régions étudiées

Les capacités antioxydantes totales des extraits des feuilles des différentes régions sont relativement élevées, avec ceux des régions de Boumerdès et d'Oran comme les plus importantes et qui sont de l'ordre de $20,54 \pm 3,961$ et de $18,128 \pm 0,157$ mg Eq d'acide ascorbique /g de matière sèche respectivement, La capacité antioxydante totale des extraits de feuilles de la région d'Annaba est la moins importante avec une teneur de $10,37 \pm 0,03$ mg Eq d'acide ascorbique /g de matière sèche.

• La réduction du fer

Les résultats de l'activité réductrice des extraits de feuilles de *Vitis vinifera L.* en fonction de la concentration des extraits des différentes régions étudiées sont représentés dans la (figure 6). La capacité réductrice est proportionnelle à la concentration des extraits.

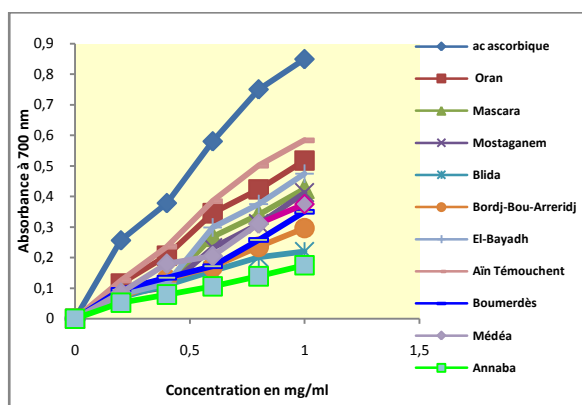


Figure 6 : Pouvoir réducteur des extraits de feuilles de *Vitis vinifera L.* des régions étudiées

L'extrait de feuilles de la région d'Ain Témouchent et celui d'Oran présentent le meilleur effet chélateur sans pour autant être supérieur à celui de l'acide ascorbique.

L'extrait de feuilles de la région d'Annaba présente l'effet chélateur le moins important.

Les concentrations IC50 pour comparer l'activité réductrice des extraits, sont résumées dans le tableau 2.

Tableau 2 : concentration réductrice IC 50 des extraits étudiés

Extrait de feuilles de la région étudiée	IC50 (mg/ml)
Oran	0,89 ± 0,02
Mascara	1,29 ± 0,09
Mostaganem	1,34 ± 0,23
Blida	3,26 ± 0,10
Bordj-Bou-Argeridj	3,13 ± 0,16
El-Bayadh	1,22 ± 0,08
Ain Témouchent	0,78 ± 0,04
Boumerdès	1,21 ± 0,16
Médéa	2,46 ± 0,32
Annaba	3,98 ± 0,05
Acide ascorbique	0,54 ± 0,01

Les concentrations IC50 les plus faibles sont retrouvées dans les extraits de feuilles de la région de Ain Témouchent et d'Oran à raison de 0,78 ± 0,04 et 0,89 ± 0,02 mg/ml respectivement, la concentration la plus élevée a été retrouvée dans l'extrait de feuilles de la région d'Annaba qui est de l'ordre de 3,98 ± 0,05 mg/ml.

L'efficacité de réduction de fer est inversement proportionnelle à la valeur IC50, elle a été classée par ordre croissant comme suit :

acide ascorbique > E Ain Témouchent > E Oran > E Boumerdès > E El-Bayadh > E Mascara > E Mostaganem > E Médéa > E Bordj-Bou-Argeridj > E Blida > E Annaba.

Activités antibactérienne

Les résultats de la détermination de la concentration minimale inhibitrice pour chaque extrait vis-à-vis des souches bactériennes et

fongiques étudiées sont résumés dans le tableau 3.

Tableau 3 : Concentration minimale inhibitrice en mg/ml des extraits de feuilles de *Vitis vinifera L.* sur les souches étudiées

	P	E	S	B	A	C
Oran	2,5	0,312	5	1,25	0,625	0,625
Mascara	5	20	20	10	1,25	2,5
Mostaganem	2,5	0,312	5	10	1,25	0,625
Blida	1,25	10	2,5	10	2,5	1,25
Bordj-Bou-Argeridj	5	5	0,312	2,5	1,25	1,25
El-Bayadh	2,5	5	20	5	2,5	0,312
Ain Témouchent	2,5	0,312	0,312	1,25	1,25	0,312
Boumerdès	5	5	0,312	0,62	2,5	1,25
Médéa	2,5	0,312	2,5	1,25	0,625	0,625
Annaba	5	20	5	20	0,625	0,625

P : *Pseudomonas aeruginosa*, E : *Escherichia coli*, S : *Staphylococcus aureus*, B : *Bacillus cereus*, A : *Aspergillus brasiliensis*, C : *Candida albicans*

Concernant la souche de *Pseudomonas aeruginosa* l'extrait de feuilles de la région de Blida est le plus actif avec une CMI de l'ordre de 1,25 mg/ml, les autres extraits sont moins actifs avec des valeurs de CMI deux à quatre fois plus importantes que celle de la région de Blida.

Pour la souche *Escherichia coli*, plusieurs extraits sont très actifs avec des CMI très basse notamment les extraits de la région d'Oran, de Mostaganem et d'Ain Témouchent qui possèdent la mêmes CMI qui est de 0,312 mg/ml.

L'extrait de feuilles de la région d'Annaba est le moins actif avec une CMI de 20 mg/ml soit plus de soixante fois la CMI des extraits les plus puissants.

Pour la souche de *Staphylococcus aureus* les extraits de feuilles des régions de Bordj-Bou-Argeridj, d'Ain Témouchent et de Boumerdès sont les plus actifs avec une CMI de 0,312 mg/ml,

Les extraits de feuilles de la région de Mascara et de la région d'El-Bayadh ont le pouvoir antistaphylococcique le moins important avec une CMI de 20 mg/ml.

Concernant l'activité contre le *Bacillus cereus*, c'est l'extrait de Boumerdès qui est le plus actifs avec une CMI de 0,625 mg/ml

Les extraits d'Ain Témouchent et d'Oran ont une action modérée contre le *Bacillus cereus*, avec une CMI de 1,25 mg/ml.

L'activité la moins importante est retrouvée avec les extraits de feuilles de la région d'Annaba avec une CMI de l'ordre de 20 mg/ml.

Les extraits ont également un pouvoir antifongique non négligeable, d'une façon générale les valeurs globales des CMI dans l'activité antifongique sont supérieures à celles de l'activité antibactérienne, ce qui indique que les bactéries étudiées sont plus résistantes que les souches fongiques étudiées aux extraits de feuilles de *Vitis vinifera L.*

L'extrait de feuilles de la région d'Oran et celui de la région d'Annaba possède l'effet le plus important vis-à-vis d'*Aspergillus brasiliensis* avec une CMI de 0,625 mg/ml.

Le reste des valeurs des CMI des autres régions varie de 1,25 à 2,5 mg/ml.

Concernant le *Candida albicans*, les extraits de feuilles de la région d'El-Bayadh et de la région d'Aïn Témouchent possèdent les CMI les plus basses de l'ordre de 0,312 mg/ml, comme pour *Aspergillus brasiliensis*, le reste des CMI pour *Candida albicans* vis-à-vis des extraits de feuilles des autres régions varient de 1,25 à 2,5 mg/ml.

Discussion

Une comparaison globale des taux des polyphénols, flavonoïdes et tanins condensés nous indique que les teneurs les plus élevées en flavonoïdes et en tanins condensés ne correspondent pas nécessairement aux teneurs les plus élevées en polyphénols totaux de ce fait leurs répartitions est variables d'une région à une autre. Les résultats obtenus confirment la richesse des feuilles de *Vitis vinifera* L. des régions étudiées. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par **Yu, Lim et al (2014)** qui ont déterminé la teneur en polyphénols des feuilles de *Vitis labruscana* Bailey avec comme teneur moyenne 328.5 ± 1.0 mg Eq en acide gallique / g Ms [15].

En comparant les différentes teneurs des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés entre les différentes régions on remarque que c'est généralement les régions sub-humides et humides telle qu'Oran, Mascara et Boumerdès qui possèdent des taux élevés en polyphénols contrairement aux régions semi-aride et saharienne (Ain Témouchent et El-Bayadh) qui ont des taux plus faibles.

Nous remarquons que les variations des taux des flavonoïdes et des Tanins entre les différentes régions ne suivent pas obligatoirement la nature de l'étage bioclimatique puisque nous observons des taux rapprochés entre des échantillons provenant des régions humides et arides de ce fait d'autres facteurs outre que la nature bioclimatique influencent ces variations.

Il est important de rappeler que les facteurs environnementaux ont un effet majeur sur la teneur en polyphénols. Ces facteurs peuvent être pédoclimatiques (nature du sol, exposition au soleil, Pluviométrie) ou agronomique (culture dans des serres ou dans les champs, culture biologique, culture hydroponique, rendement fruitier par arbre, etc.) [16].

L'ensemble des résultats obtenus par le test TAC indique que les feuilles de toutes les régions étudiées possèdent un potentiel antioxydant. Nos résultats sont supérieurs à ceux retrouvés dans les travaux de **Balik et al (2008)** qui ont obtenu en moyenne, une activité antioxydante totale de

l'ordre de 8mg eq/g de matière sèche sur 6 échantillons de feuilles de vigne rouge provenant de différentes régions de la république chèque.

En comparant l'activité antioxydante totale des échantillons des différentes régions on remarque que les feuilles de la région de Boumerdès possèdent l'activité antioxydante totale la plus importante bien qu'elles ne soient pas les plus majoritaires en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins condensés [17]

Ces variations observées entre l'activité antioxydante totale et le taux en substances polyphénoliques pourraient être expliquée par le fait que ce test évalue l'activité antioxydante des polyphénols ainsi que d'autres agents antioxydants mais qui ne sont pas de nature polyphénolique [18], d'où la nécessité d'effectuer le test de FRAP et du DPPH. Le test de réduction de fer nous a révélé que tous les extraits possédaient une activité réductrice qui est variable d'une région à une autre, nos résultats sont inférieurs à ceux trouvés par **Balik, et al. (2008)** qui ont pu évaluer l'activité réductrice des feuilles de vigne rouge de quatre variétés différentes avec des valeurs IC 50 qui varient de 4 à 6 mg/ml soit deux à trois fois supérieures à nos résultats [17]. En comparant les IC 50 des extrait de feuilles des régions étudiées, on observe que l'extrait de l'échantillon d'Aïn Témouchent possède la meilleur activité réductrice, ceci serait due non seulement à sa richesse en polyphénols mais également en flavonoïdes et en tanins condensés.

Les résultats de l'activité antioxydante par le test au DPPH suggèrent que tous les extraits possèdent une activité antiradicalaire appréciable, concentration dépendante qui dépasse même celle de l'acide ascorbique pour l'échantillon d'Aïn Témouchent (EC 50 = 0.08 mg/ml)

Ce résultat se rapproche de celui des travaux de **Fernandes, Ramalhosa et al (2013)** ou l'IC 50 le plus bas retrouvés parmi 20 échantillons de feuilles de vigne rouge de diverses variétés issues du Portugal était de 0.06 mg/ml [3].

Concernant l'activité antifongique, tous les extraits se sont montré efficace contre *Candida albicans* et *Aspergillus brasiliensis* avec même une synergie entre certains extraits. Ces résultats ont été confirmés par la méthode de microdilution.

Le travail de **Sharifi-Rad, Miri et al (2014)** corrobore nos données, ils ont pu ainsi déterminer une activité antifongique importante de l'extrait méthanolique de feuilles de vigne rouge provenant d'Iran vis-à-vis de *Candida Albicans* et *Aspergillus Niger*, les CMI trouvé dans ce travail était de 75.4 and 80.9 µg/mL respectivement [19]. Concernant l'activité antibactérienne, tous nos extraits ce sont montré efficace vis-à-vis des souches étudiées avec des CMI plus ou moins importante sauf certaines exceptions telle que les

extraits des feuilles de la région de Masacara vis à vis du *Staphylococcus aureus* et *E.coli* et l'extrait des feuilles de la région d'Annaba vis-à-vis de *Bacillus cereus*.

Nos résultats se rapprochent de ceux de **Katalinic, Mozina et al (2013)** qui ont étudié l'activité antibactérienne de 6 extraits de feuilles de vigne rouge de Croatie, les CMI variaient entre 0.38–2.24 mg / ml [6]. Des résultats similaires ont été retrouvés dans les travaux **d'Abramović Terpic et al. (2012)** qui ont étudiée l'activité antibactérienne des extraits de feuilles de six variétés différentes de vigne rouge provenant de Dalmatie et de Croatie, et ont déterminé des CMI de l'ordre de 0.38 et 1.37 mg/ml [20].

En comparant les résultats obtenus entre nos échantillons on remarque une différence d'efficacité des composés phénoliques mais qui n'est pas significative pour toute les phénophases. D'une façon plus spécifique, les extraits des échantillons des régions d'Oran et d'Aïn Témouchent possèdent la meilleurs activité antibactériennes et antifongique, ceci peut être expliqué par leur richesse en flavonoïdes, en effet **Anastasiadi, Chorianopoulos et al. (2009)** ont fait remarqué que les flavonoïdes sont connus pour avoir une bonne activité antibactérienne, ceci a été attribué à leur interaction avec des protéines solubles extracellulaires et /ou de la paroi cellulaire des micro-organismes [21].

Conclusion

L'analyse quantitative spectrophotométrique des principales classes polyphénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés) nous a donné un premier aperçu des variations des teneurs, on a pu constater que les étages bioclimatiques ont une certaine influence sur cette composition, les échantillons prévenants des régions caractérisées par un climat humide sont plus riche en polyphénols que ceux issus des régions aux climats sec. Les variations des teneurs en flavonoïdes et en tanins condensés sont manifestement influencées par d'autres facteurs qui restent à déterminer.

L'activité antioxydante a été largement investiguer par plusieurs tests (FRAP, DPPH).L'analyse des résultats a pu confirmer l'activité antioxydante des extraits de tous les échantillons étudiés notamment celui de la région d'Aïn Témouchent.

La détermination des CMI par la méthode de dilution nous a permis de faire une comparaison de l'ampleur de l'activité antimicrobienne entre les extraits des différentes régions, la teneur en polyphénols est certes responsable d'une activité antimicrobienne mais c'est également la nature du polyphénol qui la conditionne. Dans notre cas ce sont surtout les flavonoïdes qui semblent être responsable de cette activité.

Le premier bilan établi ici ouvre la voie à de multiples perspectives de recherche, en terme de connaissance des composés phénoliques de *Vitis vinifera L.* mais également en terme de compréhension de la variabilité des activités biologiques et de déterminer les entités phénoliques responsables de chaque activité.

Déclaration d'intérêts

Les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêt.

Références bibliographiques

- Hussain, M. S., S. Fareed, S. Ansari, M. A. Rahman, I. Z. Ahmad and M. Saeed (2012). "Current approaches toward production of secondary plant metabolites." *J Pharm Bioallied Sci* 4(1): 10-20.
- Baydar, N. G., G. Özkan and O. Sa?diç (2004). "Total phenolic contents and antibacterial activities of grape (*Vitis vinifera L.*) extracts." *Food Control* 15(5): 335-339.
- Fernandes, F., E. Ramalhosa, P. Pires, J. Verdial, P. Valentão, P. Andrade, A. Bento and J. A. Pereira (2013). "Vitis vinifera leaves towards bioactivity." *Ind Crops Prod* 43: 434-440.
- OIV (2014). *Vine and Wine Outlook 2008-2009*, OIV reports.
- Amirouche, R., et Misset, M. T. (2009). Flore spontanée d'Algérie : différenciation écogéographique des espèces et polyploidie. *Cahiers agricultures*, 18(6), 474-480.
- Katalinic, V., S. S. Mozina, I. Generalic, D. Skroza, I. Ljubenkovic and A. Klančnik (2013). "Phenolic Profile, Antioxidant Capacity, and Antimicrobial Activity of Leaf Extracts from Six *Vitis vinifera L.* Varieties." *Int. J. Food Prop.* 16(1): 45-60.
- Benmeziane, F., R. Djamaï, Y. Cadot and R. Seridi (2014). "Optimization of extraction parameters of phenolic compounds from Algerian fresh table grapes, (*Vitis Vinifera*)." *nt. Food Res. J.* 21(3).
- Ojeil, A., N. El Darra, Y. El Hajj, P. B. Mouncef, T. J. Rizk and R. G. Maroun (2010). "Identification et caractérisation de composés phénoliques extraits du raisin château KSARA." *LSJ* 11(2): 117-131.
- Ying, C. and D. Wan (2012). "Quantitative determination of total and individual flavonoids in stems and leaves of *Buddleja davidii* and *Buddleja albiflora*." *Pharmacogn. Mag.* 8(32): 273-279.
- Schofield, P., Mbugua, D. M., and Pell, A. N. (2001). Analysis of condensed tannins: a review. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 91(1-2), 21-40.
- Prieto, P., M. Pineda and M. Aguilar (1999). "Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of

- a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E." *Anal Biochem* 269(2): 337-341
12. Yildirim, A., A. Mavi and A. A. Kara (2001). "Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts." *J Agric Food Chem* 49(8): 4083-4089.
 13. Sánchez-Moreno, C. (2002). "Review: Methods Used to Evaluate the Free Radical Scavenging Activity in Foods and Biological Systems." *Food Sci Technol Int* 8(3): 121-137
 14. Yasunaka, K., F. Abe, A. Nagayama, H. Okabe, L. Lozada-Perez, E. Lopez-Villafranco, E. E. Muniz, A. Aguilar and R. Reyes-Chilpa (2005). "Antibacterial activity of crude extracts from Mexican medicinal plants and purified coumarins and xanthenes." *J Ethnopharmacol* 97(2): 293-299.
 15. Yu, Q.-M., E.-J. Lim, S.-K. Choi and J.-S. Seo (2014). "Antioxidant effect of grapevine leaf extract on the oxidative stress induced by a high-fat diet in rats." *Food Sci. Biotechnol* 23(3): 849-857.
 16. Król, A., R. Amarowicz and S. Weidner (2014). "Changes in the composition of phenolic compounds and antioxidant properties of grapevine roots and leaves (*Vitis vinifera* L.) under continuous of long-term drought stress." *Acta Physiol. Plant* 36(6): 1491-1499.
 17. Balik, J., M. Kyselakova, N. Vrchotova, J. Tříska, M. Kumšta, J. Veverka, P. Híc, J. Totušek and D. Lefnerová (2008). "Relations between polyphenols content and antioxidant activity in vine grapes and leaves." *Czech J. Food Sci* 26: S25-S32.
 18. Marwah RG, Fatope MO, Mahrooqi RA, Varma GB, Abadi HA, Al-Burtamani SKS.(2007). "Antioxidant capacity of some edible and wound healing plants in Oman". *Food Chem.* ;101(2):465-470.
 19. Sharifi-Rad, J., A. Miri, M. Sharifi-Rad, M. Sharifi-Rad, S. M. Hoseini-Alfatemi and E. Yazdanpanah (2014). "Antifungal and antibacterial properties of Grapevine (*Vitis vinifera* L.) leaves methanolic extract from Iran-in vitro study." *Am Eurasian J Agric Environ Sci* 14(11): 1312-1316.
 20. Abramovi, H., P. Terpinč, I. Generali?, D. Skroza, A. Klan?nik, V. Katalini? and S. Smole Možina (2012). "Antioxidant and antimicrobial activity of extracts obtained from rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and vine (*Vitis vinifera*) leaves." *Croat. J. Food Sci. Technol.*4(1): 1-8.
 21. Anastasiadi, M., N. G. Chorianopoulos, G. J. Nychas and S. A. Haroutounian (2009). "Antilisterial activities of polyphenol-rich extracts of grapes and vinification byproducts." *J Agric Food Chem* 57(2): 457-463.