

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة أبو بكر بلقايد – تلمسان

Université Abou Bekr Belkaid-TLEMCEN

كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون

Université Abou Bekr Belkaid –Tlemcen –

Faculté des sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie

Laboratoire de recherche « Antibiotiques, Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et

Activité Biologique »

MÉMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de MASTER

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie

Présenté par : ZEROUAL Farah et ZEDDAM Houria

Thème :

**Etude phytochimique et évaluation de l'activité
antioxydante et antimicrobienne des extraits bruts des
pépins de raisin (*Vitis vinifera*)**

Soutenu le 24-06-2026 devant les membres de jury :

Présidente

MEDJDOUB Houria

MCA Univ. Tlemcen

Examinatrice

BOUALI Wafaa

Pr Univ. Tlemcen

Encadrant

ABBOU Fayza

MCB Univ. Tlemcen

Année Universitaire : 2025/2026



Remerciement

Au terme de ce travail Nous tenons à exprimer nos remerciements les plus sincères et les plus profonds tous d'abord ALLAH le tout puissant de nous avoir accordé santé, courage, volonté et surtout la patience pour accomplir ce modeste travail.

Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de **M^{elle} ABBOU Fayza**, Maître de conférences classe B, au Département de Biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie, sciences de la terre et de l'univers Université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen, on le remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.

Mes chaleureux remerciements s'adressent à **Mme MEDJDOUB Houria**, Maître de conférences classe A au département de Biologie, faculté SNV/STU, Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen, pour me faire l'honneur de présider ce jury, de participer à l'évaluation de ce travail et de l'enrichir de sa haute compétence scientifique. Je la remercie également pour ses efforts fournis et l'intérêt qu'elle a toujours porté à cette formation.

Nos s'insères remerciements vont s'adresser à **Mme BOUALI Wafaa**, professeur au département de Biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie, sciences de la terre et de l'univers, Université Abou Bakr Belkaïd - Tlemcen pour l'honneur qu'il nous fait en acceptant d'examiner ce travail.

On tient à exprimer nos remerciements à toute l'équipe de laboratoire de recherche « LAPSAB » pour son aide, sa disponibilité tout au long de notre travail.

Notre remerciement s'adresse également à tous nos professeurs pour leur générosité et la grande patience dont ont sa faire preuve malgré leur charge académique.



Dédicace

En tout premier lieu, je remercie le bon **Dieu**, tout puissant, de m'avoir donné la force et le courage d'aller jusqu'au bout.

Je dédie ce travail :

À deux personnes les plus chers à mes yeux, À mes merveilleux parents, je les remerciés pour tout votre amour, leur sacrifices, soutien et leurs encouragements, merci cher **PAPA « Lahcen Zeroual »**, merci chère **MAMAN « Saliha Lazreg »**.

À ma très chère sœurs **Nassima** et mes adorables frères **Sofiane** et **Mohammed**, qui ont étaient toujours à mes côtés.

À ma personne préférée, pour sa disponibilité à entendre mes frustrations et les sources de mon stress. Merci pour son soutien, sa présence et son écoute tout au long de cette période.

À une amie exceptionnelle « **Mokaddem Hadjer** » Que notre amitié soit un voyage rempli de souvenirs inoubliables et de moments de bonheur partagés. Merci d'être là.

À une amie précieuse « **Nouara Ouadah** » Qui m'a donné le soutien, le courage malgré la distance. Merci d'être là.

A toute mes chères amies : **Merwa, Ines, Ismahene, Besma** et **Wissal** pour leurs encouragements, Ainsi que toutes mes collègues de la promo master 2 Biochimie 2025-2026.

À mon binôme de mémoire, **Houria**, Je te remercie pour ta collaboration, tes efforts et ton soutien tout au long de la réalisation de ce travail.

A toute ma famille Zeroual.

Et finalement une grande dédicace pour moi, pour tous mes efforts et ma patience

Farah



Dédicace

﴿وَأَخِرُ دَعْوَاهُمْ أَنِ الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ﴾

Je dédie le fruit de ce modeste travail :

À mon cher père, Merci pour tout l'amour, les sacrifices et le soutien que tu m'as apportés tout au long de mon parcours universitaire. Que Dieu te protège, te préserve et te récompense pour tout ce que tu as fait pour moi.

À ma chère mère, Aucun mot ne saurait exprimer toute ma gratitude envers toi. Merci pour ton amour, ta tendresse, ta patience et tes prières qui m'ont accompagnée à chaque étape de ma vie. Que Dieu te garde et t'accorde santé, bonheur et longue vie.

À mes chères sœurs, **Chaïma** et **Marwa**, ainsi qu'à mon cher frère **Iyad**, Merci pour votre affection sincère, votre soutien constant et vos encouragements tout au long de mon parcours universitaire. Vous avez toujours été pour moi une source de force et de motivation dans les moments difficiles. Que Dieu vous accorde la réussite dans vos études, l'excellence dans votre parcours et la réalisation de tous vos souhaits.

À mon binôme de mémoire, **Farah**, Je te remercie pour ta collaboration, tes efforts et ton soutien tout au long de la réalisation de ce travail. Nous avons partagé ensemble un parcours marqué par le sérieux, la persévérance et le travail acharné. Je te souhaite beaucoup de succès et de réussite dans ta vie professionnelle et personnelle.

HOURLIA

الملخص

يُعدّ العنب (*Vitis vinifera* L.) ، المنتمي إلى فصيلة الكرمايات (Vitaceae) ، مصدراً مهماً للمركبات النشطة بيولوجياً، وخاصة المركبات الفينولية المعروفة بخصائصها الحيوية.

تهدف هذه الدراسة إلى إجراء دراسة فيتوكيميائية وتقييم النشاط المضاد للأوكسدة والنشاط المضاد للميكروبات للمستخلصات الخام المائية-الميثانولية لبذور العنب، المحضرة بطريقة الغليان (EBD) وطريقة النقع (EBM) أظهرت نتائج الاختبارات الفيتوكيميائية وجود الفلافونويدات، التانينات، الكينونات الحرة، القلويدات، التربينويدات، والسكريات المختزلة. كما أظهر تقدير المركبات الفينولية أن المستخلص الخام المائي-الميثانولي المحضر بطريقة الغليان (EBD) سجل أعلى محتوى من البوليفينولات الكلية (0.17 ± 666.48 ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك/ملغ من المستخلص الجاف) وأعلى محتوى من الفلافونويدات الكلية (0.029 ± 355.26 ميكروغرام مكافئ الكاتيشين/ملغ من المستخلص الجاف).

أظهر تقييم النشاط المضاد للأوكسدة باستخدام طريقة التقاط الجذور الحرة +ABTS قدرة عالية للمستخلصات على تثبيط الجذور الحرة. حيث أظهر مستخلص EBD نشاطاً أقوى ($IC_{50} = 23.11 \pm 0.84$ ميكروغرام/مل) مقارنة بمستخلص EBM ($IC_{50} = 42.38 \pm 0.50$ ميكروغرام/مل) وكانت هذه الفعالية أفضل من فعالية Trolox ($IC_{50} = 63.45 \pm 0.01$ ميكروغرام/مل). كما سجل EBD أعلى قدرة مضادة للأوكسدة الكلية (1.28 ± 136.38 ميكروغرام مكافئ حمض الأسكوربيك/ملغ من المستخلص الجاف).

كما أظهرت المستخلصات نشاطاً مضاداً للبكتيريا والفطريات بشكل ملحوظ تجاه السلالات المرجعية المختبرة. وقد أظهر مستخلص EBD نشاطاً أعلى قليلاً من EBM وأكدت قيم التركيز المثبط الأدنى (CMI) التي تراوحت بين 2.5 و 10 ملغ/مل هذه النتائج.

الكلمات المفتاحية: بذور العنب (*Vitis vinifera*) ، المركبات الفينولية، النشاط المضاد للأوكسدة، النشاط المضاد للميكروبات، المستخلصات المائية-الميثانولية.

Résumé

Le raisin (*Vitis vinifera* L.), appartenant à la famille des Vitacées, constitue une source importante de composés bioactifs, notamment les composés phénoliques reconnus pour leurs propriétés biologiques.

Cette étude a pour objectif de réaliser une étude phytochimique et d'évaluer l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits bruts hydro-méthanoliques de pépins de raisin, préparés par décoction (EBD) et macération (EBM).

Les résultats des tests phytochimiques ont révélé la présence des flavonoïdes, des tanins, des quinones libres, des alcaloïdes, des terpenoïdes et des sucres réducteurs. Le dosage des composés phénoliques montre que l'extrait brut hydro-méthanolique préparé par décoction (EBD) a enregistré les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux ($666,48 \pm 0,17 \mu\text{g Eq AG/mg ES}$) et en flavonoïdes totaux ($355,26 \pm 0,02 \mu\text{g Eq C/mg ES}$).

L'évaluation de l'activité antioxydante par méthode de piégeage du radical libre ABTS•+ a révélé une forte capacité antiradicalaire des extraits. L'EBD a présenté une activité plus puissante ($\text{IC}_{50} = 23,11 \pm 0,84 \mu\text{g/mL}$) que celle de l'EBM ($\text{IC}_{50} = 42,38 \pm 0,50 \mu\text{g/mL}$). Cette activité est meilleure que celle du Trolox ($\text{IC}_{50} = 63,45 \pm 0,10 \mu\text{g/mL}$). De même, l'EBD a enregistré la capacité antioxydante totale la plus élevée ($136,28 \pm 1,28 \mu\text{g EAA/mg ES}$).

Les extraits ont également montré une activité antibactérienne et antifongique notable vis-à-vis des souches de référence testées. L'EBD a présenté une activité légèrement supérieure à celle de l'EBM. Des Concentrations minimales inhibitrices (CMI), comprises entre 2,5 et 10 mg/mL, confirment ces résultats.

Les mots clés : Les pépins de raisin (*Vitis vinifera*), composés phénoliques, activité antioxydante, activité antimicrobienne, extraits hydro-méthanoliques.

Abstract

Grape (*Vitis vinifera* L.), belonging to the Vitaceae family, is an important source of bioactive compounds, particularly phenolic compounds known for their biological properties.

The aim of this study was to carry out a phytochemical screening and to evaluate the antioxidant and antimicrobial activities of crude hydro-methanolic extracts of grape seeds, prepared by decoction (EBD) and maceration (EBM).

The phytochemical tests revealed the presence of flavonoids, tannins, free quinones, alkaloids, terpenoids, and reducing sugars. The quantification of phenolic compounds showed that the hydro-methanolic crude extract prepared by decoction (EBD) exhibited the highest contents of total polyphenols (666.48 ± 0.17 μg GAE/mg ES) and total flavonoids (355.26 ± 0.02 μg CE/mg ES).

The evaluation of antioxidant activity using the ABTS $\bullet$ + radical scavenging assay revealed a strong antiradical capacity of the extracts. EBD showed a stronger activity ($\text{IC}_{50} = 23.11 \pm 0.84$ $\mu\text{g/mL}$) than EBM ($\text{IC}_{50} = 42.38 \pm 0.50$ $\mu\text{g/mL}$). This activity was higher than that of Trolox ($\text{IC}_{50} = 63.45 \pm 0.10$ $\mu\text{g/mL}$). Similarly, EBD recorded the highest total antioxidant capacity (136.28 ± 1.28 μg AAE/mg ES).

The extracts also showed notable antibacterial and antifungal activities against the tested reference strains. EBD exhibited slightly higher activity than EBM. Minimum inhibitory concentrations (MICs) ranging from 2.5 to 10 mg/mL confirmed these results.

Keywords: Grape seeds (*Vitis vinifera*), phenolic compounds, antioxidant activity, antimicrobial activity, hydro-methanolic extracts.

Liste des abréviations

- **µg EAG/ mg Es** : microgramme Equivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait sec.
- **µg Eq C/ mg Es** : microgramme Equivalent catéchine par milligramme d'extrait sec.
- **ABTS** : (l'acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)).
- **CAT** : Capacité antioxydante totale
- **CI50** : Concentrations qui inhibent 50%
- **CLSI**: Clinical and Laboratory Standards Institute
- **CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice
- **DMSO** : Diméthylsulfoxyde
- **EBD** : Extrait brut hydro-méthanolique préparé par décoction.
- **EBM** : Extrait brut hydro-méthanolique préparé par macération.
- **HPLC** : La chromatographie en phase liquide à haute performance.
- **UFC/mL** : Unités Formant Colonie par millilitre (concentration bactérienne).
- **V/V** : Volume /volume

Liste des figures

Figure 1: Structure chimique de l'acide hydroxycinnamique et de l'acide hydroxybenzoïque (Liu et al., 2020).....	4
Figure 2: Structure de base des flavonoïdes (Benchikh, 2015).....	4
Figure 3: Structure chimique des tanins hydrolysables (A) et des tanins condensés (B).....	5
Figure 4: Structure chimique de quelques alcaloïdes.....	5
Figure 5: structure de l'isoprène (Yang et al., 2020).....	6
Figure 6: Représentation de raisin (<i>Vitis vinifera</i>) (Parihar et Sharma, 2021).	7
Figure 7: pépins de raisin broyés (photo personnelle)	11
Figure 8: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	23
Figure 9: Courbe d'étalonnage de la catéchine.	23
Figure 10: Pourcentage d'inhibition du radical cation ABTS ^{•+}	25
Figure 11: Pourcentage d'inhibition du radical cationique ABTS en fonction des concentrations d'EBM.....	25
Figure 12: Pourcentage d'inhibition du radical cationique ABTS en fonction des concentrations d'EBD	26
Figure 13: Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique	27

Liste des tableaux

Tableau 1: Rendement d'extraction et caractéristiques des extraits de pépins de raisin (<i>Vitis vinifera</i>).	21
Tableau 2: Les tests phytochimiques des extraits bruts hydro-méthanoliques préparés de pépins de raisin (<i>Vitis vinifera</i>).	22
Tableau 3: Teneurs en composés phénoliques des extraits de pépins de raisin (<i>Vitis vinifera</i>).	24
Tableau 4: Les valeurs des CI50 des extraits de pépins de raisin (<i>Vitis vinifera</i>) et de molécule de référence (Trolox).	26
Tableau 5: Capacité antioxydant total des extraits préparés de pépins de raisin (<i>Vitis vinifera</i>).	28
Tableau 6: Effet antibactérien de Gentamicine exprimée en diamètre de zones d'inhibition en (mm).	28
Tableau 7: Effet antibactérien et antifongique des extraits de pépins de raisin (<i>V. vinifera</i>) exprimés en diamètre de zones d'inhibition en (mm).	29
Tableau 8: Concentration minimale inhibitrice (CMI) de Gentamicine vis-à-vis des différentes souches microbiennes.	30
Tableau 9: Concentration minimale inhibitrice (CMI) des extraits de pépins de raisin (<i>Vitis vinifera</i>) vis-à-vis des différentes souches microbiennes.	30

Table des matières

Remerciement.....	
Dédicace	
المخلص	
Résumé.....	
Abstract	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Table des matières	
<i>Introduction</i>	13
<i>Synthèse bibliographique</i>	2
<i>Matériels et méthodes</i>	10
I. Etude phytochimique	11
1. Matériel végétal.....	11
2. Préparation des extraits	11
2.1. Dégraissage des pépins de raisin par Soxhlet	11
2.2. Préparation de l'extrait brut hydro-méthanolique par macération (EBM)	12
2.3. Préparation de l'extrait brut hydro-méthanolique par décoction (EBD)	12
2.4. Calcul du rendement	12
3. Les tests phytochimiques	12
4. Dosage des composés phénoliques	14
4.1. Dosage des polyphénols totaux	14
4.2. Dosage des Flavonoïdes totaux	15
II. Etude biologique.....	15
1. Evaluation de l'activité antioxydante.....	15

1.1.Evaluation de la Capacité Antioxydante Totale (CAT)	15
1.2..... Piégeage du radical cation ABTS•+ (Acide 2,2'-azino-bis-3 éthylbenzothiazoline-6-sulfonique).....	16
2.Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	17
2.1.Méthode de diffusion sur gélose (méthode des puits).....	17
2.2.Méthode de microdilution	18
3. Evaluation de l'activité antifongique	18
3.1.Méthode de diffusion sur gélose	18
3.2.Méthode de microdilution.....	18
Résultats et interprétations	20
1.Caractéristiques et rendement d'extraction	21
2.Tests phytochimiques	21
3.Dosage des composés phénoliques	22
4.Evaluation de l'activité antioxydante	24
4.1.Méthode de piégeage du radical ABTS•+	24
4.2. Capacité antioxydante totale (CAT).....	27
5.Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	28
5.1. Méthode de diffusion sur gélose (méthode des puits)	28
5.2. Méthode de microdilution en milieu liquide.....	30
Discussions	32
Conclusion	37
Références bibliographiques	40

Introduction

Avec le développement de la chimie de synthèse, les plantes médicinales conservent une place essentielle dans les approches thérapeutiques en raison de leur richesse en métabolites secondaires biologiquement actifs (**Lazli et al., 2019**). Ces composés naturels sont largement reconnus pour leurs propriétés pharmacologiques et constituent une source majeure pour la découverte et le développement de nouvelles molécules à visée thérapeutique (**Twaij et Hasan, 2022**).

À l'échelle mondiale, la phytothérapie repose sur l'utilisation d'un grand nombre d'espèces végétales, exploitées aussi bien en médecine traditionnelle qu'en recherche scientifique. En Algérie, la diversité climatique et écologique confère au territoire une flore riche en espèces spontanées et endémiques, largement utilisées en médecine traditionnelle et de plus en plus étudiées pour leurs propriétés biologiques (**Abbou et al., 2022**).

Parmi ces espèces, *Vitis vinifera* L., appartenant à la famille des Vitacées, occupe une place importante sur les plans économique, nutritionnel et médicinal. Les pépins de raisin, considérés comme un sous-produit, se distinguent par leur richesse en composés bioactifs. Ces composés sont reconnus pour leurs diverses propriétés biologiques, notamment leurs activités antioxydantes et antimicrobiennes, ce qui justifie l'intérêt croissant accordé à leur valorisation dans divers domaines (**Sochor et al., 2020 ; Krasteva et al., 2023 ; Pozzo et al., 2023**). Dans ce cadre, s'inscrit l'objectif de ce travail consacré à l'étude phytochimique et à l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits des pépins de raisin (*Vitis vinifera* L.) récoltés dans la région de Ghazaouet (wilaya de Tlemcen).

L'étude expérimentale est structurée en deux volets : le premier est consacré à l'analyse phytochimique ainsi que le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux, tandis que le second porte sur l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits bruts de pépins de raisin (*Vitis vinifera*).

Synthèse bibliographique

Les plantes médicinales renferment des substances bioactives utilisées depuis longtemps dans la prévention et le traitement de diversesm. Elles occupent une place importante aussi bien dans la médecine traditionnelle que dans la médecine moderne, en raison de leurs nombreuses propriétés thérapeutiques **(Twaij et Hasan, 2022 ; Elshafie et al., 2023)**.

À l'échelle mondiale sont d'une importance considérable dans la recherche scientifique, suscitant un intérêt croissant des industries pharmaceutiques, cosmétiques et agro-alimentaires **(Trane et al., 2020 ; Bhatti et al., 2022)**. L'intérêt porté à ces ressources végétales est principalement attribué à leur richesse en métabolites secondaires.

Les métabolites secondaires sont des composés organiques produits par les plantes. Contrairement aux métabolites primaires, ils ne participent pas directement à la croissance de la plante, mais jouent un rôle essentiel dans l'adaptation aux conditions climatiques, les mécanismes de défense contre le stress environnemental et la communication avec l'environnement **(Yang et al., 2018 ; González Mera et al., 2019)**. Ils sont classés selon leurs structures chimiques en trois grandes familles chimiques, les composés phénoliques, les terpénoïdes et les alcaloïdes **(Twaij et Hasan, 2022)**.

Les composés phénoliques constituent l'un des groupes les plus importants des métabolites secondaires. Ils sont universellement présents dans les plantes et issus des voies biochimiques telles que la voie des pentoses phosphate, du shikimate et des phénylpropanoïdes. Cette famille comprend une grande diversité de molécules, allant des composés simples de faible poids moléculaire comme les flavonoïdes aux polymères complexes tels que les lignines et les tanins **(Kumar et al., 2020)**.

Les acides phénoliques sont caractérisés par la présence d'un seul noyau phénolique relié à un groupe carboxyle et à un ou plusieurs groupes hydroxyles. Ils sont divisés en deux sous-classes : les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque et les dérivés de l'acide hydroxycinnamique **(Figure 01) (Šikuten et al., 2020)**.

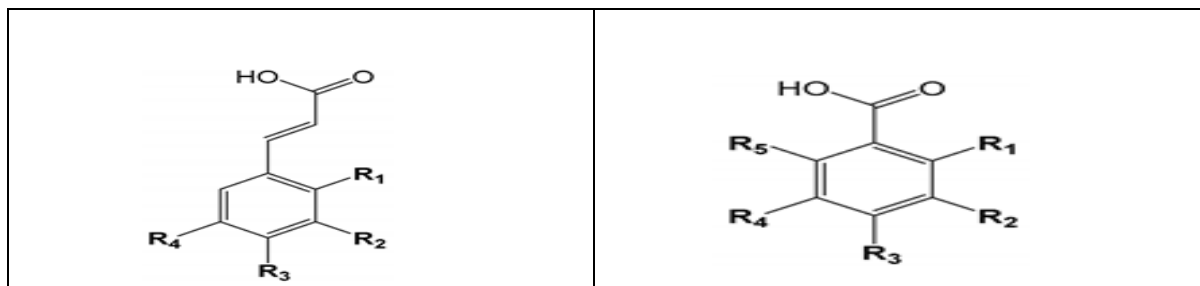


Figure 1: Structure chimique de l'acide hydroxycinnamique et de l'acide hydroxybenzoïque (Liu et al., 2020)

Les flavonoïdes constituent la plus grande famille des polyphénols. Ils possèdent une structure constituée de deux noyaux aromatiques (A et B) reliés par une chaîne carbonée formant un hétérocycle oxygéné (cycle C) (**Figure 02**) (Ekalu et Habila, 2020). Ces métabolites jouent un rôle important dans la couleur, l'arôme et la saveur des plantes (Mutha et al., 2021 ; Bolat et al., 2024).

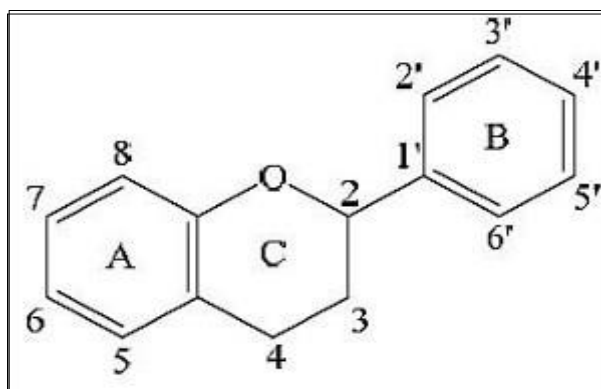


Figure 2: Structure de base des flavonoïdes (Benchikh, 2015).

Les tanins sont des composés de structure complexe qui leur confèrent la capacité de précipiter les protéines et de s'associer avec plusieurs molécules telle que l'amidon et les minéraux. Ils sont responsables de l'astringence de nombreux fruits et légumes. Ces composés sont divisés en tanins hydrolysables et en tanins condensés (**Figure 03**) (Fraga Corral et al., 2021).

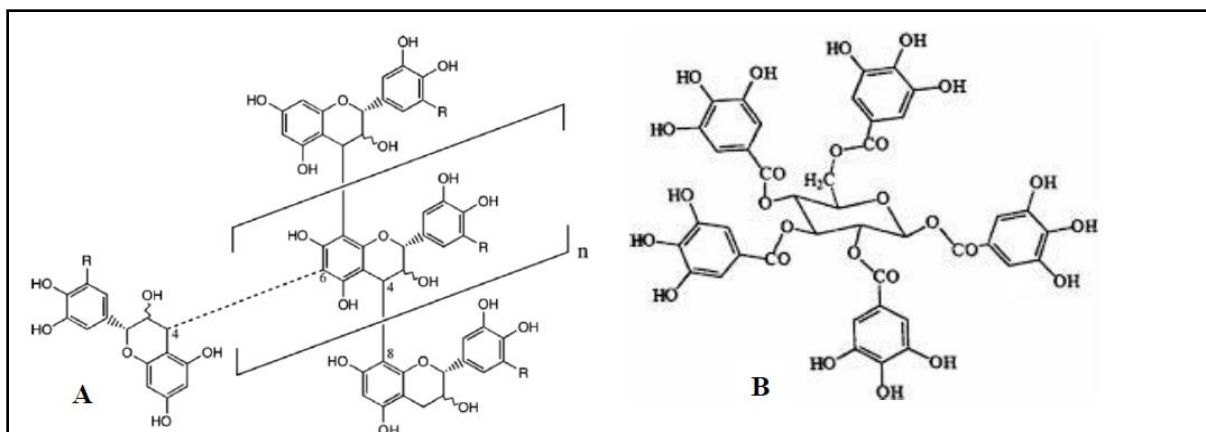


Figure 3: Structure chimique des tanins hydrolysables (A) et des tanins condensés (B)

Les alcaloïdes sont des composés organiques azotés à caractère alcalin d'où leur nom. Leur structure chimique de base est un hétérocycle azoté sauf pour quelques substances dans lesquelles l'azote est extracyclique (**Figure 04**) (Costa et al., 2012).

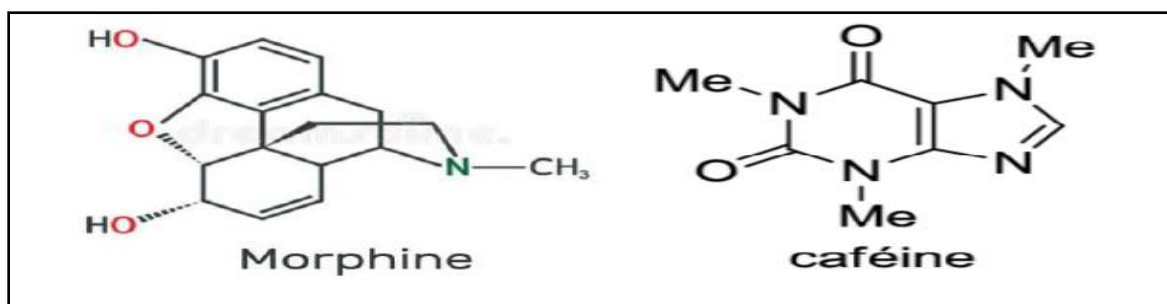


Figure 4: Structure chimique de quelques alcaloïdes.

Les terpénoïdes sont des composés hydrocarbonés dont la structure dérive de l'isoprène (**Figure 05**) (Saravanan et al., 2020). Selon le nombre d'unité isoprénique qui les constituent, on distingue les monoterpènes (2 unités d'isoprène), les sesquiterpènes (3 unités d'isoprène), les diterpènes (4 unités d'isoprène) ...etc. Ils participent à l'arôme et à l'odeur des plantes aromatiques et jouent un rôle protecteur contre les agents pathogènes et les herbivores. Certains terpénoïdes agissent également comme molécules de signalisation entre les plantes (Yang et al., 2020 ; Jin et al., 2025).

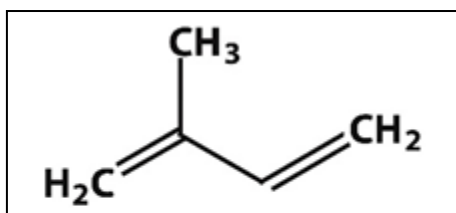


Figure 5: structure de l'isoprène (Yang et al., 2020)

L'intérêt thérapeutique des métabolites secondaires réside dans leurs activités biologiques. De nombreuses études ont mis en évidence leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antibactériennes, antidiabétiques et anticancéreuses. Ces activités résultent de mécanismes d'action variés qui contribuent à la prévention et au traitement de plusieurs pathologies. Ainsi, les métabolites secondaires constituent aujourd'hui une source précieuse de molécules d'intérêt pharmacologique et représentent un axe majeur de recherche dans le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques fondées sur les ressources naturelles (Bruneton, 2009 ; Kurek, 2019 ; Dumanovic et al., 2021 ; Bolat et al., 2024).

C'est dans cette optique s'inscrit le présent travail qui s'intéresse à *Vitis vinifera* ; *Vitis vinifera* est une plante ligneuse vivace caractérisée par une tige ligneuse et des feuilles palmées. Son fruit, le raisin, se présente sous forme de grappes composées de nombreuses baies. Chaque baie est constituée d'une peau externe, d'une pulpe riche en sucres et de pépins localisés au centre du fruit (Kalli et al., 2020 ; Bensaïd et Lechleche, 2021).

Le raisin (*Vitis vinifera*) est l'un des fruits les plus largement cultivés et consommés à l'échelle mondiale avec près de 1000 variétés de raisins blancs et rouges répertoriées (figure06) (Haseeb et al., 2019). Il est principalement implanté dans les zones tempérées et méditerranéennes, notamment en Europe (France, Italie, Espagne) et sur d'autres continents (Amériques, Australie et Afrique du Sud) (Quelenis, 2008 ; Liu et Wang, 2019 ; OIV, 2022).



Figure 6: Représentation de raisin (*Vitis vinifera*) (Parihar et Sharma, 2021).

La classification taxonomique de *Vitis vinifera* est la suivante (Ma et al., 2021) ;

- ✚ Règne : Plantae
- ✚ Division : Magnoliophyta
- ✚ Classe : Magnoliopsida
- ✚ Ordre : Vitales
- ✚ Famille : Vitaceae
- ✚ Genre : *Vitis*
- ✚ Espèce : *Vitis vinifera* L

Le raisin possède une composition chimique variée et il est caractérisé par sa teneur élevée en composés bioactifs comprend principalement des flavonoïdes, des tanins condensés, des anthocyanes, des stilbènes, et des terpènes. Il contient également des lipides, des protéines et des fibres alimentaires, des minéraux et des vitamines (A, C, E, B1, B2, B3, B5, B6, B9). Cette richesse chimique explique leurs propriétés thérapeutiques nombreuses (Beres et al., 2020).

L'analyse chromatographique par HPLC (Chromatographie Liquide Haute Performance) des extraits acétonique et méthanolique des pépins de raisin a révélé la présence des acides phénoliques tels que l'acide gallique, l'acide p-coumarique, l'acide férulique et l'acide caféique, ainsi que des flavonoïdes comme la catéchine et l'épicatéchine (Weidner et al., 2013). Elles contiennent également une huile comestible représentant environ 5 à 10 % du poids total du pépin. Cette huile est particulièrement riche en acides gras insaturés, principalement l'acide linoléique (oméga-6) et l'acide oléique (oméga-9), ainsi qu'en tocophérols et en

phytostérols. En revanche, les acides gras saturés, tels que les acides stéarique, myristique et palmitique, sont présents en plus faibles proportions (**Shinagawa et al., 2015 ; Goetz, 2021**). Par ailleurs, l'huile des pépins de raisin renferme une quantité importante de composés phénoliques, représentant environ 60 à 70 % des constituants hydrophiles de l'huile (**Martin et al., 2020**).

Les pépins de raisin représentent un sous-produit important de l'industrie vitivinicole et constituent une source naturelle riche en composés bioactifs. Ces composés lui confèrent de nombreuses propriétés biologiques ce qui explique leur intérêt croissant dans les domaines alimentaire, pharmaceutique et cosmétique (**Riaz et al., 2022**).

Selon la littérature, les pépins de raisin possèdent une activité antioxydante remarquable grâce à leur richesse en composés phénoliques, notamment les proanthocyanidines, les flavonoïdes, la catéchine et les acides phénoliques (**Kapcsándi et al., 2021**). **Felhi et al., (2016)** ont étudié l'activité antioxydante des extraits de pépins de raisin préparés dans des solvants différents (hexane, dichlorométhane, acétate d'éthyle, éthanol, acétone) par méthode de DPPH et ils ont enregistré des valeurs d'IC₅₀ entre 0,14 et 0,55 mg/ml. De même une étude réalisée par **Da Porto et al. (2013)** sur l'huile de pépins de raisin (*Vitis vinifera*) a montré une activité antiradicalaire importante évaluée par le test DPPH avec une IC₅₀ de 56,69 µg/mL.

Les composés phénoliques qu'ils renferment peuvent agir sur différentes voies biochimiques impliquées dans la réponse inflammatoire, contribuant ainsi à réduire la production des médiateurs inflammatoires dans l'organisme. Cette activité biologique est particulièrement intéressante dans la prévention et la gestion des maladies inflammatoires chroniques, où les antioxydants naturels jouent un rôle protecteur des tissus (**Gülçin, 2012**).

Les extraits de pépins de raisin sont doués également d'une activité antimicrobienne contre divers agents pathogènes d'origine alimentaire (**Silva et al., 2012 ; Ghafoor et al., 2020**). L'huile de pépins de raisin a montré une activité inhibitrice contre plusieurs microorganismes, notamment *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica*, *Yersinia enterocolitica* et *Candida albicans* (**Juricová et al., 2020**).

De même, les composés bioactifs des pépins de raisin peuvent contribuer à la protection du système cardiovasculaire. Les polyphénols et les proanthocyanidines présents dans les pépins

de raisin sont capables de réduire l'oxydation des lipoprotéines de basse densité (LDL), un processus impliqué dans la formation des plaques d'athérosclérose. En limitant ce phénomène, ces composés peuvent contribuer à la prévention des maladies cardiovasculaires et améliorer la santé vasculaire (**Sato et al., 2001**).

Matériels et méthodes

La partie expérimentale de notre travail a été réalisée au sein de laboratoire de recherche « Antibiotiques, antifongiques, physico - chimie, synthèse et activité biologique », département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie, des sciences de la terre et de l'univers, université Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen.

I. Etude phytochimique

1. Matériel végétal

Le raisin (*Vitis vinifera*) a été récolté dans la région de Ghazaouet wilaya de Tlemcen au mois de novembre 2023. Les pépins de raisin sont récupérés puis séchés à l'abri de la lumière et à température ambiante et conservés soigneusement jusqu'à leur utilisation ultérieure pour la préparation des extraits.



Figure 7:pépins de raisin broyés (photo personnelle)

2. Préparation des extraits

2.1. Dégraissage des pépins de raisin par Soxhlet

Dans cette étude nous avons procédé à un dégraissage du matériel végétal en utilisant le Soxhlet en suivant le mode opératoire ci-dessous

➤ Mode opératoire

- Placer les pépins de raisin broyés dans la cartouche de l'appareil Soxhlet ;
- Ajouter 200 mL d'hexane dans le ballon ;
- Chauffer le système jusqu'à l'ébullition du solvant ;
- Maintenir la température stable pendant 3 heures de l'extraction ;

Le marc obtenu est ensuite récupéré pour préparer des extraits bruts hydrométhanoliques par macération et décoction.

2.2. Préparation de l'extrait brut hydro-méthanolique par macération (EBM)

10 g du matériel végétal dégraissé est mis en contact avec 100 ml d'un mélange méthanol/eau (80/20, v/v). Le mélange est laissé macérer pendant 48 heures, à température ambiante et à l'obscurité. Après Filtration, le filtrat est évaporé à l'aide d'un Rotavapor et sécher l'extrait dans une étuve à 37 °C.

L'extrait sec obtenu est récupéré et conservé à l'abri de la lumière.

2.3. Préparation de l'extrait brut hydro-méthanolique par décoction (EBD)

Dans un ballon surmonté d'un réfrigérant, mélanger 10 g du matériel végétal dégraissé avec 200 mL d'un mélange méthanol/eau (80/20, v/v). Chauffer le mélange à une température d'ébullition stable, pendant 45 minutes. Après Filtration, le filtrat est évaporé à l'aide d'un Rotavapor et sécher l'extrait dans une étuve à 37 °C.

L'extrait sec obtenu est récupéré et conservé à l'abri de la lumière.

2.4. Calcul du rendement

Le rendement de chaque extrait est calculé selon la formule suivante :

$$R (\%) = (M1 / M0) \times 100$$

Où :

R (%) : rendement exprimé en pourcentage ;

M1 : masse de l'extrait sec obtenu (g) ;

M0 : masse du matériel végétal utilisé (g).

3. Les tests phytochimiques

Afin de mettre en évidence la présence des métabolites secondaires dans les extraits de pépins de raisin, une étude phytochimique qualitative a été réalisée. Cette analyse repose sur des réactions de coloration, de précipitation ainsi que sur l'observation sous lumière ultraviolette. Les protocoles utilisés ont été adaptés des méthodes décrites par **Bruneton (1999)** et **Harborne (1998)**.

- **Test des alcaloïdes**

Dans deux tubes à essai, introduire 0,5 ml de l'extrait à analyser. Acidifier le milieu par quelques gouttes d'acide chlorhydrique (HCl à 1 %). Ensuite 0,5 mL du réactif de Mayer a été ajouté au premier tube et 0,5 mL du réactif de Wagner au second. La formation d'un précipité blanc ou brun, respectivement témoigne de la présence d'alcaloïdes.

- **Test des tanins**

0,25 mL de chlorure ferrique (FeCl_3 à 1 %) a été mélangé avec 1 mL de l'extrait a été mélangé. Après incubation de 15 minutes à température ambiante, l'apparition d'une coloration verte indique la présence des tanins catéchiques, tandis que le développement d'une coloration bleu-noirâtre révèle la présence de tanins galliques.

- **Test des flavonoïdes**

1 mL d'acide chlorhydrique (HCl) à 37% et quelques copeaux de magnésium ont été ajoutés à 1 mL d'extrait. L'apparition d'une coloration rose, rouge ou jaune révèle la présence de flavonoïdes.

- **Test des quinones libres**

0,1 mL d'hydroxyde de sodium (NaOH à 1 %) a été ajouté à 1 mL d'extrait. Le développement d'une coloration jaune, rouge ou violette traduit la présence de quinones libres.

- **Test des anthraquinones**

1 mL d'hydroxyde d'ammonium (NH_4OH) à 10 % a été ajouté à 1 mL d'extrait. L'apparition d'une coloration violette indique la présence d'anthraquinones.

- **Test des coumarines (test de fluorescence UV)**

Deux tubes contenant chacun 1 mL de l'extrait, L'un est considéré comme témoin tandis que l'autre est traité avec 0,1 mL de NH_4OH (10 %). Une goutte de chaque préparation a été déposée sur un papier filtre puis observée sous une lampe UV à 366 nm. Une fluorescence intense est caractéristique de la présence de coumarines.

- **Test des saponines : (test de mousse)**

2 ml de l'extrait ont été introduits dans un tube à essai puis agités vigoureusement pendant 15 secondes. Après un repos de 15 minutes, l'apparition d'une mousse persistante d'une hauteur

supérieure à 1 cm est considérée comme un indicateur positif de la présence de saponines.

- **Test des terpénoïdes (test de Salkowski)**

A 1 ml de l'extrait 0,4 mL de chloroforme et 0,6 mL d'acide sulfurique concentré ont été ajoutés. La formation de deux phases et une couleur marronne à l'interphase indique la présence de terpénoïdes.

- **Test composés réducteurs**

Le test a été réalisé en ajoutant 1 mL de liqueur de Fehling (0,5 mL du réactif A et 0,5 mL du réactif B) à 1 mL de l'extrait à analyser. Le mélange est ensuite incubé pendant 8 minutes dans un bain-marie bouillant. L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence de composés réducteurs.

4. Dosage des composés phénoliques

4.1. Dosage des polyphénols totaux

❖ Principe

Le dosage a été réalisé selon méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu de couleur jaune, et qui est composé de l'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). L'oxydation des phénols réduit ce réactif en un mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène en présence de carbonate de sodium (Na_2CO_3). La coloration produite absorbe entre 725 et 750 nm (Vermerius et Nicholson 2006).

❖ Mode Opératoire

0,1 ml d'extrait est mélangé avec 2 ml d'une solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 2%. Après 5 minutes d'incubation 0,1 ml du réactif de Folin-Ciocalteu (1N) est ajouté. Ensuite l'absorbance est mesurée à 725 nm contre un blanc après une incubation de 30 minutes à températures ambiante et à l'abri de la lumière.

Une gamme d'étalonnage a été réalisée dans les mêmes conditions à partir d'acide gallique à différentes concentrations (50 à 350 $\mu g/ml$). Les résultats sont exprimés en microgramme Equivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait sec (μg Eq AG/ mg ES).

4.2. Dosage des Flavonoïdes totaux

❖ Principe

La méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium (AlCl_3) et à la soude (NaOH) a été utilisée pour déterminer la teneur en flavonoïdes totaux. La soude ionise les groupes hydroxyles des flavonoïdes et le trichlorure d'aluminium mène à la formation d'un complexe de couleur jaune-orangée entre les ortho-hydroxyles et les fonctions carbonyles aromatiques et qui absorbe à 510 nm.

❖ Mode Opératoire

La teneur en flavonoïdes totaux a été déterminée selon le protocole décrit par **Zhishen et al., (1999)**. 0,5 ml de l'extrait est mélangé avec 2 ml d'eau distillée et 0,15 ml d'une solution de nitrite de sodium (NaNO_2) à 15 %. Après incubation pendant 6 minutes 0,15 ml de solution de Trichlorure d'aluminium chlorure d'aluminium (AlCl_3) et 2 ml (NaOH) à 4% sont ajoutés et le volume finale est ajusté à 5 ml avec d'eau distillé. Après agitation, le mélange est incubé pendant 15 minutes à température ambiante et l'absorbance est mesuré à 510 nm contre un blanc.

Une gamme d'étalonnage a été préparée dans les mêmes conditions en utilisant la catéchine à différentes concentrations (50 à 350 $\mu\text{g/ml}$). Les résultats obtenus sont exprimés en microgramme équivalent catéchine par milligramme d'extrait sec ($\mu\text{g Eq C /mg ES}$).

II. Etude biologique

1. Evaluation de l'activité antioxydante

1.1. Evaluation de la Capacité Antioxydante Totale (CAT)

❖ Principe

La capacité antioxydante totale (CAT) est déterminée par la méthode du phosphomolybdène. Cette méthode repose sur la réduction du molybdène Mo(VI) en Mo(V) par les composés antioxydants présents dans l'extrait, conduisant à la formation d'un complexe phosphomolybdène de couleur verte en milieu acide. L'intensité de cette coloration est mesurée à 695 nm, et elle est proportionnelle à la capacité antioxydante totale de l'échantillon (**Prieto et al., 1999**).

❖ Mode opératoire

Mélangé 0,2 mL de l'extrait avec 2mL du réactif de phosphomolybdène (acide sulfurique (0,6 M), phosphate de sodium (28 mM) et molybdate d'ammonium (4 mM)). Incuber les tubes à 95 °C pendant 90 minutes. Après refroidissement à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 695 nm contre le tube blanc. La capacité antioxydante totale déterminée à partir de la gamme étalon de l'acide ascorbique, est exprimée en microgramme équivalents d'acide ascorbique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g eq EAA/mg E}$).

1.2. Piégeage du radical cation $\text{ABTS}^{\bullet+}$ (Acide 2,2'-azino-bis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)

❖ Principe

La méthode ABTS repose sur la capacité des composés antioxydants à neutraliser le radical cationique $\text{ABTS}^{\bullet+}$ (2,2'-azino-bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)) de couleur bleu-vert. La réduction de ce radical par un antioxydant se traduit par une décoloration mesurable par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 734 nm (**Re et al., 1999**).

❖ Mode opératoire

Selon le protocole de **Re et al., 1999**, la solution d' $\text{ABTS}^{\bullet+}$ est obtenue par le mélange de l'ABTS (7 mM) avec du persulfate de potassium ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) (2,45 mM). Le mélange est stocké pendant 12 à 16 heures, à l'abri de la lumière et à température ambiante. Avant l'utilisation, le réactif d' $\text{ABTS}^{\bullet+}$ est ajusté à une absorbance de $0,7 \pm 0,02$ à 734 nm. 50 μL d'extrait à différentes concentrations ont été ajouté à 950 μL d' $\text{ABTS}^{\bullet+}$. Après incubation pendant 10 minutes à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 734 nm. Le trolox a été utilisé comme antioxydant de référence. Le pourcentage d'inhibition (I%) est calculé selon la formule suivante :

$$\text{I \%} = [(\text{Absorbance contrôle} - \text{Absorbance échantillon}) / \text{Absorbance contrôle}] \times 100$$

L'activité anti-radicalaire est exprimée en valeur d'IC50 qui représente la concentration responsable de la réduction de 50% de la forme radicalaire de l' $\text{ABTS}^{\bullet+}$. Cette valeur est déterminée graphiquement à partir des équations des courbes de régression logarithmiques.

2. Evaluation de l'activité antimicrobienne

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits a été testée vis-à-vis des bactéries (Gram⁺ et Gram⁻), et de levure.

- *Bacillus Cereus* ATCC 10876
- *Bacillus subtilis* ATCC 6633
- *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603
- *Enterococcus faecalis* ATCC 49452
- *Staphylococcus aureus* ATCC 6538
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
- *Bacillus Escherichia coli* ATCC 8739
- *Candida albicans* ATCC 10231.

2.1. Méthode de diffusion sur gélose (méthode des puits)

L'activité antibactérienne des extraits a été effectuée par la méthode de diffusion des puits sur milieu gélosé de Mueller Hinton. Cette méthode, est basée sur la capacité de diffusion des extraits testés dans le milieu en inhibant la croissance des bactéries par formation des zones d'inhibition de diamètres variables autour du dépôt de l'extrait (CLSI, 2015 ; Balouiri et al., 2016).

L'inoculum a été préparé à partir d'une culture bactérienne fraîche de 24 heures sur un milieu gélosé non sélectif. Quelques colonies ont été prélevées et suspendues dans une solution de chlorure de sodium (NaCl) à 0,9 %. La suspension bactérienne est ensuite ajustée à 10⁸ UFC/mL, à l'aide d'un spectrophotomètre à 625 nm (Altayb et al., 2022). L'ensemencement de l'inoculum est effectué par écouvillonnage sur des boîtes de pétri contenant le milieu Muller-Hinton agar. Ensuite des puits ont été réalisés sur la gélose inoculée, puis 20 µL de différentes concentrations d'extraits ou de gentamicine (5 à 40 mg/mL) ont été déposés dans chaque puits, selon la méthode décrite par (Valgas et al., 2007). Après incubation à 37 °C pendant 24 h, l'activité antibactérienne a été déterminée par la mesure du diamètre des zones d'inhibition, exprimé en millimètres (mm). L'interprétation des résultats est réalisée selon les critères suivants :

$D < 9$ mm : absence d'activité antibactérienne ;

$9 \leq D \leq 12$ mm : activité antibactérienne modérée ;

$13 \leq D \leq 18$ mm : bonne activité antibactérienne ;

$D < 18$ mm : forte activité antibactérienne.

2.2. Méthode de microdilution

L'activité antibactérienne des extraits a également été évaluée quantitativement par la détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) en utilisant la méthode de microdilution en milieu liquide, conformément aux recommandations du CLSI (2012). Le milieu de culture utilisé est le Mueller-Hinton liquide, ajusté à un pH de $7,2 \pm 0,2$.

Une suspension bactérienne de 10^6 UFC/mL a été préparée à partir d'une culture de 24 h dans une solution de chlorure de sodium (NaCl) à 0,9 %. 100 μ L d'extraits à différentes concentrations (10 à 0,0049 mg/mL) sont déposés dans une microplaque stérile à 96 puits, ensuite 100 μ L de l'inoculum sont ajoutés.

Après incubation à 37 °C pendant 16 à 20 heures la CMI a été définie comme la plus faible concentration d'extrait pour laquelle aucune croissance bactérienne visible à l'œil nu n'a été observée.

3. Evaluation de l'activité antifongique

3.1. Méthode de diffusion sur gélose

Le milieu de culture utilisé est le Mueller Hinton Agar supplémenté de 2% de glucose et 0,5 μ g/mL de bleu de méthylène à un pH de $7,2 \pm 0,2$. L'inoculum a été réalisé dans les mêmes conditions décrites pour les bactéries sachant que l'ajustement a été réalisé à 530 nm. L'ensemencement a été effectué par écouvillonnage. Ensuite des puits ont été réalisés sur la gélose inoculée, puis 20 μ L de différentes concentrations d'extraits. Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24h et la lecture a été réalisée de la même façon que celle décrite pour les bactéries.

3.2. Méthode de microdilution

La CMI des extraits a été déterminée par la méthode de microdilution en milieu liquide de la même manière que celles des bactéries, sauf que le milieu de culture était le RPMI 1640 tamponné avec l'acide morpholine propane sulfonique (MOPS) L'inoculum a été ajusté à une absorbance entre 0,12 à 0,15 lue à 530 nm, ce qui correspond à un inoculum équivalent à 10^3 UFC/mL. 100 μ L d'extraits à différentes concentrations (10 à 0,0049 mg/mL) sont déposés

dans une microplaque stérile à 96 puits, ensuite 100 µL de l'inoculum sont ajoutés. La lecture a été réalisée de la même façon que celle décrite pour les bactéries.

Analyse statistique

Les teneurs en composés phénoliques et l'évaluation de l'activité antioxydant et antimicrobienne des extraits testés sont réalisées en plusieurs répétitions et les résultats sont présentés en moyenne et en erreur standard :

Moyenne

$$x = \frac{(x_1 + x_2 + \dots + x_n)}{(n)} = \frac{1 \sum x_i}{n}$$

Erreur standard

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (x_i - x)^2}{n - 1}} / \sqrt{3}$$

Résultats et interprétations

1. Caractéristiques et rendement d'extraction

Les rendements d'extraction des extraits bruts hydro-méthanoliques des pépins de raisin (*Vitis vinifera*), obtenus par macération (EBM) et décoction (EBD), ont été calculés après évaporation à sec par rapport à la masse végétale sèche initiale.

Les rendements et les caractéristiques des différents extraits préparés de pépins de raisin sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 1: Rendement d'extraction et caractéristiques des extraits de pépins de raisin (*Vitis vinifera*).

Les extraits	EBM	EBD
Rendement (%)	10,34	12,8
Solubilité	Méthanol	Méthanol
Couleur	Marron	Marron
Aspect	Cristaux	Cristaux

EBM : extrait brut hydro-méthanolique préparé par macération ; **EBD** : extrait brut hydro-méthanolique préparé par décoction.

Les extraits bruts hydro-méthanoliques de pépins de raisin, préparés par macération (EBM) et décoction (EBD) ont été récupérés sous forme de cristaux de couleur marron et qui sont soluble dans le méthanol. Les rendements d'extraction obtenus étaient de 10,34 % et 12,8 % pour l'EBM et l'EBD, respectivement.

2. Tests phytochimiques

Le criblage phytochimique est une analyse qualitative qui permet de mettre en évidence les différentes familles de métabolites secondaires présentes dans les extraits. Ces tests sont basés sur des réactions spécifiques qui se traduisent par des changements de couleur, la formation de précipités ou l'apparition d'une mousse. Les résultats de cette analyse sont regroupés dans le **tableau 02**.

Tableau 2: Les tests phytochimiques des extraits bruts hydro-méthanoliques préparés de pépins de raisin (*Vitis vinifera*).

Métabolites secondaires		EBM	EBD
Saponines		-	-
Alcaloïdes	Mayer	+	-
	Wagner	+	-
Flavonoïdes		+	+
Terpénoïdes		+	+
Tanins		+	+
Quinones libres		+	+
Anthraquinones		-	-
Coumarines		-	-
Composés réducteurs		+	+

(+) : présence ; (-) : Absence

EBM : extrait brut hydro-méthanolique préparé par macération ; **EBD** : extrait brut hydro-méthanolique préparé par décoction.

L'analyse phytochimique a montré que les flavonoïdes, les tanins, les terpénoïdes, les quinones libres et les composés réducteurs sont présents dans l'ensemble des extraits testés (EBM et EBD). La présence des alcaloïdes a été observée uniquement dans l'EBM. Tandis que les saponines les coumarines et les anthraquinones sont absents dans extraits étudiés (EBM et EBD).

3. Dosage des composés phénoliques

Le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux a été réalisé selon la méthode colorimétrique en utilisant le réactif du Folin-Ciocalteu et le trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) respectivement.

Les résultats sont exprimés en microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait sec ($\mu\text{g Eq AG/ mg Es}$) en utilisant la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (**Figure 08**) et en microgramme Equivalent de catéchine par milligramme d'extrait sec ($\mu\text{g Eq AG/ mg Es}$) en utilisant la courbe d'étalonnage de catéchine (**Figure 09**). Les teneurs en polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux sont représentés dans le tableau **03**.

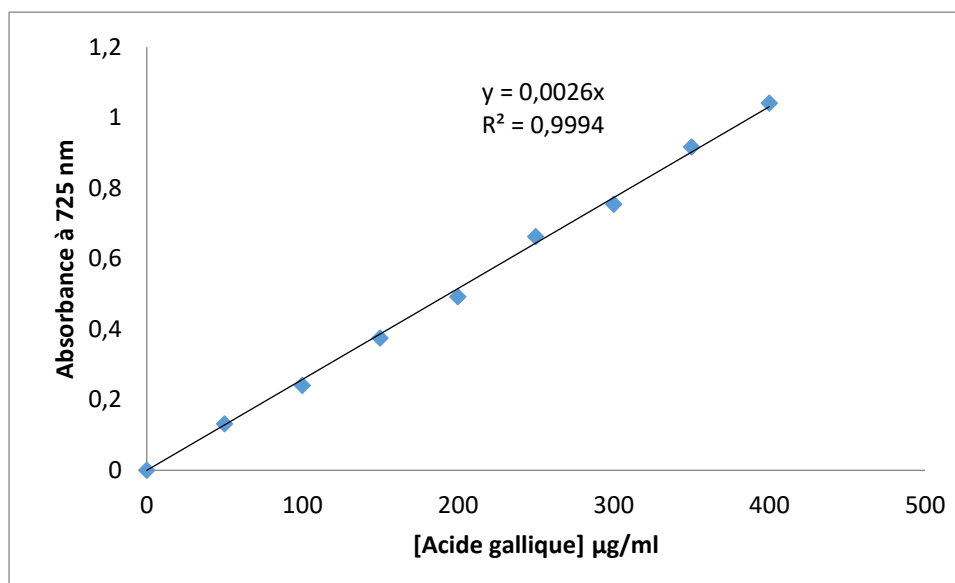


Figure 8: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

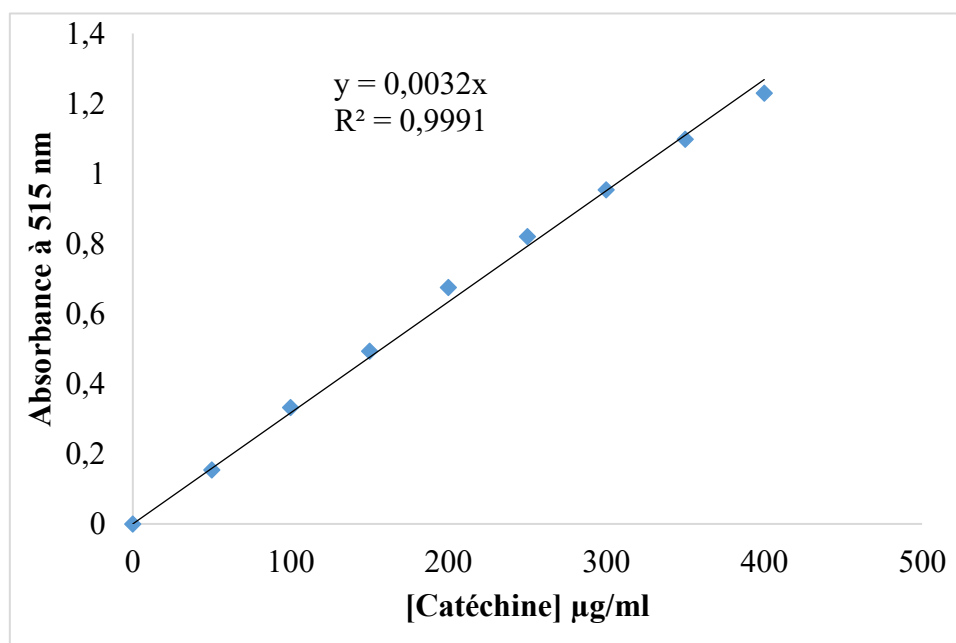


Figure 9: Courbe d'étalonnage de la catéchine.

Tableau 3: Teneurs en composés phénoliques des extraits de pépins de raisin (*Vitis vinifera*).

Extraits	Moyenne $\pm$ Erreur standard	
	Polyphénols totaux ($\mu\text{g Eq AG/ mg ES}$)	Flavonoïdes totaux ($\mu\text{g Eq C/mg ES}$)
EBM	647,81 $\pm$ 0,00	325,45 $\pm$ 0,11
EBD	666,48 $\pm$ 0,17	355,26 $\pm$ 0,02

EBD : extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction ; **EBM** : extrait brut hydrométhanolique préparé par macération.

Les résultats obtenus dans le tableau 3 ont montré des teneurs très élevées en polyphénols totaux et flavonoïdes dans les extraits bruts hydro-méthanoliques (EBM et EBD).

L'EBD présente la teneur la plus élevée en polyphénols totaux et flavonoïdes de l'ordre de à 666,48 ($\mu\text{g Eq AG/ mg E}$) et 355,26 ($\mu\text{g Eq AG/ mg E}$) respectivement, tandis que l'EBM a présenté une teneur estimée à 647,81 ($\mu\text{g Eq AG/ mg E}$) pour les polyphénols totaux et 325,45 ($\mu\text{g Eq AG/ mg E}$) pour les flavonoïdes.

4. Evaluation de l'activité antioxydante

4.1. Méthode de piégeage du radical ABTS $\bullet^+$

L'activité antiradicalaire des extraits a été évalué par la méthode de piégeage du radical ABTS $\bullet^+$. Nous avons obtenu des courbes logarithmiques de pourcentage d'inhibition du radical libre ABTS $\bullet^+$ en fonction des concentrations des extraits (EBM, EBD) (**Figure 11 et 12**) ou de molécule de référence le trolox (**Figure 10**) à partir desquels nous avons calculé les IC₅₀. Les résultats exprimés en valeurs IC₅₀ sont illustrés dans le **tableau 04**.

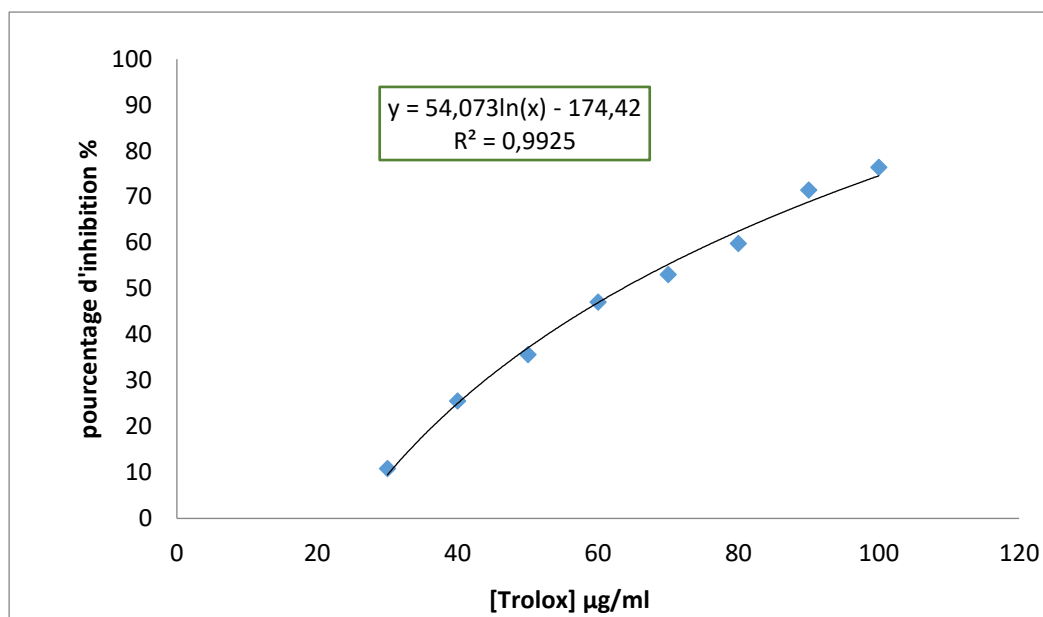


Figure 10: Pourcentage d'inhibition du radical cation ABTS•+

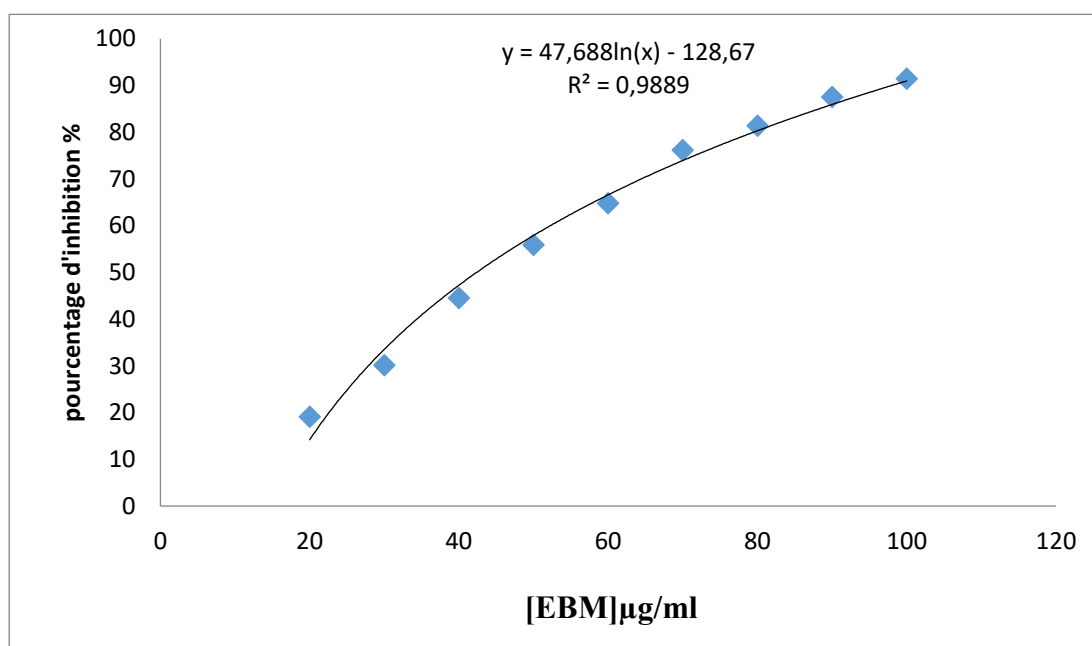


Figure 11: Pourcentage d'inhibition du radical cationique ABTS en fonction des concentrations d'EBM

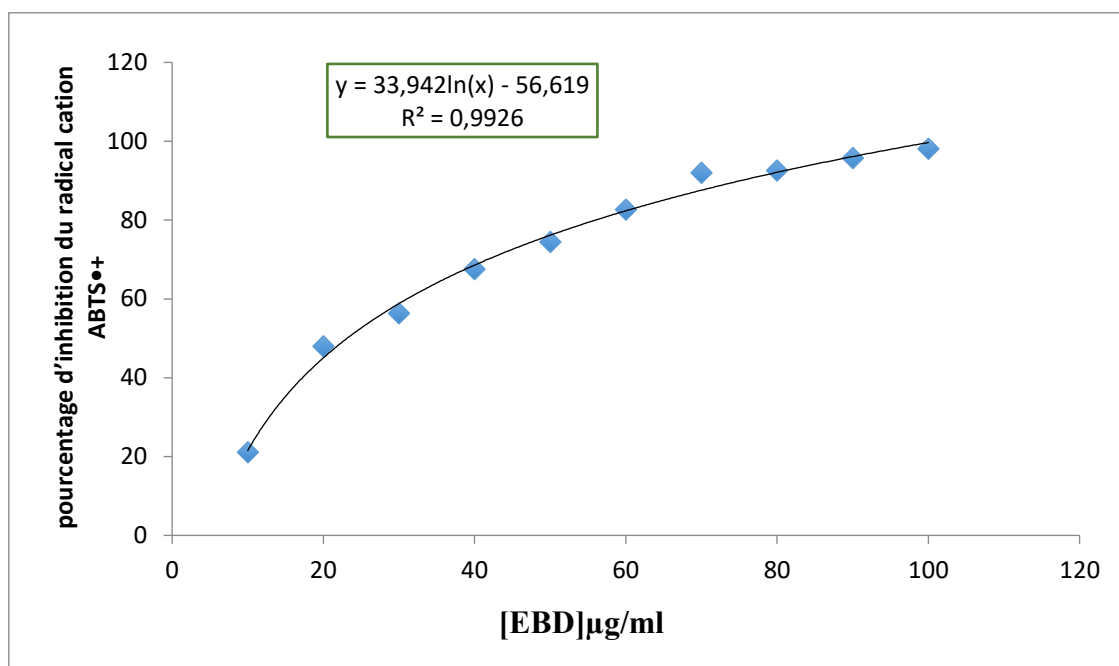


Figure 12: Pourcentage d'inhibition du radical cationique ABTS en fonction des concentrations d'EBD

Les résultats illustrés dans les **figures 10,11,12** ont montré une augmentation proportionnelle des pourcentages d'inhibition du radical libre **ABTS^{•+}** en fonction de différentes concentrations des extraits de pépins de raisin (*Vitis vinifera*) et du Trolox.

Tableau 4: Les valeurs des CI50 des extraits de pépins de raisin (*Vitis vinifera*) et de molécule de référence (Trolox).

Extraits / référence	CI ₅₀ (µg/ml) ± Erreur standard
EBM	42,38 ±0,50
EBD	23,11 ±0,84
Trolox	63,45±0,10

EBD : extrait brut hydrométhanolique préparé par décoction ; **EBM** : extrait brut hydrométhanolique préparé par macération.

D'après les résultats résumés dans le **tableau 04**, nous avons constaté que l'EBM et l'EBD ont enregistré une activité antiradicalaire meilleure à celle du Trolox ($IC_{50} = 63,45 \pm 0,10 \mu\text{g/ml}$). De plus, l'extrait brut préparé par décoction (EBD) ($IC_{50} = 23,11 \pm 0,84 \mu\text{g/ml}$) a montré une activité antiradicalaire supérieure que celui de l'extrait brut préparé par macération (EBM) ($IC_{50} = 42,38 \pm 0,50 \mu\text{g/ml}$).

4.2. Capacité antioxydante totale (CAT)

Les résultats de la capacité antioxydante totale (CAT) des extraits de pépins de raisin (*Vitis vinifera*) exprimés en μg équivalent d'acide ascorbique par mg d'extrait sec ($\mu\text{g eq AG/mg ES}$) obtenu à partir de la courbe d'étalonnage (**figure 13**) sont regroupés dans le **tableau 05**, montrent que les deux extraits possèdent un pouvoir antioxydant important.

L'extrait préparé par décoction (EBD) présente l'activité antioxydante la plus forte ($136,28 \pm 1,28 \mu\text{g EAA/mg Es}$) comparativement à l'extrait hydro-méthanolique préparé par macération (EBM) ($132,45 \pm 2,52 \mu\text{g EAA/mg Es}$).

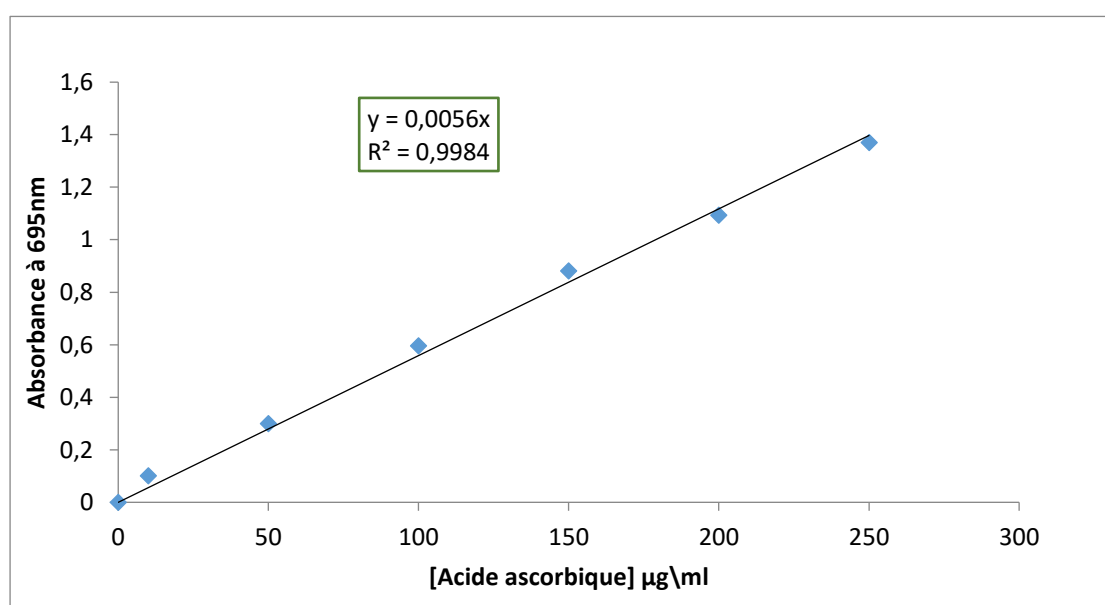


Figure 13: Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique

Tableau 5: Capacité antioxydant total des extraits préparés de pépins de raisin (*Vitis vinifera*).

Extraits	CAT (µg EAA / mg E) ± Erreur standard
EBM	132,45 ±2,52
EBD	136,28 ±1,28

5. Evaluation de l'activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne des extraits de pépins de raisin (*Vitis vinifera*) a été évaluée sur 7 souches bactériennes de référence : Gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* et *Enterococcus faecalis*) et Gram négatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae*) et une souche de référence de levure (*Candida Albicans*).

5.1. Méthode de diffusion sur gélose (méthode des puits)

Les résultats de l'effet antibactérien et antifongique des extraits testés par la méthode de diffusion sur milieu solide et exprimés en diamètre de zones d'inhibition sont représentés dans les tableaux 06 et 07.

Tableau 6: Effet antibactérien de Gentamicine exprimée en diamètre de zones d'inhibition en (mm).

Les souches	Diamètres des zones d'inhibition (mm)		
	Concentrations (µg/ml)		
	40	20	10
<i>Escherichia coli</i>	19	15	8
<i>Staphylococcus aureus</i>	20	17	15
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14	10	8
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6	6	6
<i>Enterococcus faecalis</i>	26	19	12
<i>Bacillus cereus</i>	20	16	13
<i>Bacillus subtilis</i>	25	18	12

Tableau 7: Effet antibactérien et antifongique des extraits de pépins de raisin (*V. vinifera*) exprimés en diamètre de zones d'inhibition en (mm).

Extraits	EBM				EBD			
	Concentrations (mg/ml)							
Les souches	40	20	10	5	40	20	10	5
<i>Escherichia coli</i>	13	11	10	8	13	11	8	8
<i>Staphylococcus aureus</i>	16	16	12	12	14	12	10	7
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13	13	9	8	10	10	9	8
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6	6	6	6	11	9	8	8
<i>Enterococcus faecalis</i>	13	11	10	9	12	11	9	8
<i>Bacillus cereus</i>	14	12	11	9	14	12	9	8
<i>Bacillus subtilis</i>	15	12	11	10	12	11	8	8
<i>Candida albicans</i>	13	12	10	9	13	11	10	9

Les résultats regroupés dans le **tableau 6** montrent que les extraits de pépins de raisin (*V. vinifera*) exercent une activité antibactérienne notable aussi bien envers les bactéries à gram positif que les bactéries à gram négatif. L'extrait brut macéré (EBM) est le plus actif, notamment vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*, avec des diamètres des zones d'inhibition respectifs de 16 mm et 15 mm à 40 mg/mL, tandis que, l'extrait brut décocté (EBD) s'est avéré actif envers *Klebsiella pneumoniae* avec un diamètre d'inhibition de 11 mm à la même concentration. L'évaluation de l'effet antifongique des extraits a montré un effet inhibiteur sur la croissance de *C. albicans* avec des diamètres des zones d'inhibition compris entre 9 et 13 mm.

Quant à la gentamicine, son utilisation comme contrôle positif a permis de confirmer la sensibilité différentielle des bactéries étudiées avec des diamètres d'inhibition variant entre 6 et 26 mm. *Enterococcus faecalis* et *Bacillus subtilis*, étant les plus sensibles avec des diamètres d'inhibition respectifs de 26 mm et 25 mm à 40 µg/mL. En revanche, *Klebsiella pneumoniae* semble être résistante à toutes les concentrations testées (**Tableau 7**).

En ce qui concerne l'activité antifongique, nous remarquons que les extraits ont présenté une activité antifongique remarquable contre *C. albicans*, avec des zones d'inhibition allant de 10 à 13 mm.

5.2. Méthode de microdilution en milieu liquide

L'activité antimicrobienne des extraits de pépins de raisin (*Vitis vinifera*) a été également évaluée par la méthode de microdilution. Les résultats exprimés en concentration minimale inhibitrice (CMI) sont représentés dans les **tableaux 08 et 09**.

Tableau 8: Concentration minimale inhibitrice (CMI) de Gentamicine vis-à-vis des différentes souches microbiennes.

Les souches	CMI (µg/ml)
<i>Escherichia coli</i>	10
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,01953
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,3125
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5
<i>Enterococcus faecalis</i>	0,15625
<i>Bacillus cereus</i>	0,15625
<i>Bacillus subtilis</i>	5

Tableau 9: Concentration minimale inhibitrice (CMI) des extraits de pépins de raisin (*Vitis vinifera*) vis-à-vis des différentes souches microbiennes.

Les extraits	EBM	EBD
Les souches	CMI (mg/ml)	
<i>Escherichia coli</i>	10	10
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	10
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2,5	10
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10	10
<i>Enterococcus faecalis</i>	10	10
<i>Bacillus cereus</i>	5	5
<i>Bacillus subtilis</i>	5	5
<i>Candida albicans</i>	2,5	2,5

Parmi les bactéries étudiées, *Bacillus cereus* et *Bacillus subtilis* se sont révélés les plus sensibles aux extraits de pépins de raisin (décoction et macération) avec une CMI de 5 mg/mL. Cette valeur de CMI est la même que celle obtenue avec l'EBM envers *Pseudomonas aeruginosa*. Le reste des souches montre des CMIs qui sont identiques (10 mg/mL) vis-à-vis des extraits testés. L'antibiotique a montré une activité antibactérienne très marquée, en particulier envers *Staphylococcus aureus* avec une CMI de 0,019 µg/mL. Il est à noter que la comparaison de l'effet antibactérien des extraits avec celui de l'antibiotique reste difficile, en raison de la nature des composants, de leurs mécanismes d'action et leur mode de diffusion, qui ne sont pas totalement comparable.

Quant à l'effet antifongique, *C. albicans* a montré une sensibilité marquée aux extraits avec une CMI de 2,5 mg/mL.

Discussions

L'Algérie se distingue par sa richesse en variétés de raisin (*Vitis vinifera* L.) qui est parmi les cultures fruitières les plus importantes mondialement. Les pépins de raisin sont reconnus par leur richesse en composés phénoliques, auxquels sont attribuées de nombreuses propriétés biologiques anticholinergiques, antidiabétiques, anticancéreux, antioxydantes et antimicrobienne (Labri et al., 2020 ; Chaudhary et al., 2021).

Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique des extraits bruts hydro-méthanoliques des pépins de raisin récoltés à la région de Ghazaouet ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne.

Les rendements d'extraction des extraits bruts hydro-méthanoliques de pépins de raisin révèlent des pourcentages différents selon le mode d'extraction utilisé. L'extrait préparé par macération (EBM) a enregistré un rendement de l'ordre de 10,34 % suivi par l'extrait préparé par décoction (EBD) (12,8 %).

Nos résultats concordent avec ceux de Ghouila et al. (2016) qui ont enregistré un rendement d'extraction de l'ordre de 14,16 % pour l'extrait hydrométhanolique préparé par macération de pépins de raisin récoltée dans le sud de l'Algérie.

Hassan et al. (2019) ont rapporté des rendements d'extraction variant de 6 à 10 % pour les extraits de pépins de raisin récoltées en Égypte préparés dans différents solvants organiques (méthanol, éthanol, acétone et chloroforme).

Les résultats des tests phytochimiques ont révélé la présence des flavonoïdes, des tanins, des terpénoïdes, des quinones libres et des composés réducteurs. Les alcaloïdes sont présents uniquement dans l'EBM, tandis que les saponines, les anthraquinones et les coumarines sont absentes dans l'EBM et l'EBD.

Les résultats obtenus dans notre étude concordent avec d'autres travaux ;

L'analyse phytochimique qualitative réalisée par Hanaa et al. (2015) sur les extraits acétoniques, éthanoliques et méthanoliques de pépins de raisin a montré la présence des terpénoïdes, des tanins, des saponines, des alcaloïdes ainsi que des flavonoïdes.

De même, Felhi et al. (2016) ont révélé la présence des tanins, des flavonoïdes, des saponines, des terpénoïdes dans l'extrait éthanolique et méthanolique de pépins de *Vitis vinifera* collecté en Inde.

Les résultats de l'analyse quantitative effectuée sur les extraits bruts hydro-méthanoliques de pépins de raisin (EBM et EBD) ont démontré des teneurs élevées en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux. Les teneurs enregistrées étaient de $647,81 \pm 0,00 \mu\text{g Eq AG/mg ES}$ et $325,45 \pm 0,11 \mu\text{g Eq C/mg ES}$ pour l'EBM et de $666,48 \pm 0,17 \mu\text{g Eq AG/mg ES}$ et $355,26 \pm 0,02 \mu\text{g Eq C/mg ES}$ pour l'EBD.

Hanaa et al. (2015) ont rapporté des teneurs respectives en flavonoïdes totaux de l'ordre de $305 \pm 17,32 \mu\text{g Eq C/mg E}$ et de $372,5 \pm 5 \mu\text{g Eq C/mg ES}$ pour les extraits éthanolique et méthanolique de pépins de raisin récolté en Egypte.

De même, l'étude réalisée par **Radulescu et al. (2020)** a enregistré des teneurs en polyphénols totaux de l'ordre de $55,69 \pm 3,18 \mu\text{g Eq AG/mg E}$ et $47,04 \pm 1,87 \mu\text{g Eq AG/mg E}$ pour les extraits hydroalcooliques (éthanol/eau) de pépins de raisin de la variété Pinot Noir et Merlot. Les teneurs en flavonoïdes totaux étaient de $43,94 \pm 3,84 \mu\text{g Eq C/mg E}$ et $26,28 \pm 1,46 \mu\text{g Eq C/mg E}$ pour les mêmes extraits, respectivement.

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de pépins de raisin a été réalisée par la méthode de piégeage du radical libre ABTS•+ et la méthode de la CAT.

Les résultats ont montré que les extraits hydro-méthanoliques de pépins de raisin (EBM et EBD) possèdent une activité antiradicalaire puissante. L'extrait préparé par décoction (EBD) a présenté une capacité de piégeage du radical ABTS•+ ($\text{IC}_{50} = 23,11 \pm 0,84 \mu\text{g/ml}$) meilleure à celle de la molécule de référence ; trolox ($\text{IC}_{50} = 63,45 \pm 0,10 \mu\text{g/ml}$). Cette activité élevée pourrait être attribuée à la richesse en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux.

Habib et al. (2022) ont évalué l'activité antioxydante d'un extrait de proanthocyanidines de pépins de raisin (*Vitis vinifera*) par la méthode de piégeage du radical libre ABTS•+ et ils ont rapporté une forte activité antiradicalaire avec une valeur d' IC_{50} de l'ordre de $68,11 \pm 0,85 \mu\text{g/ml}$.

Concernant la capacité antioxydante totale (CAT), les extraits bruts hydrométhanoliques de pépins de raisin ont révélé une forte activité antioxydante, avec une légère supériorité de l'extrait préparé par décoction (EBD) ($136,28 \pm 1,28 \mu\text{g EAA / mg ES}$).

Oh et al. (2013) ont évalué la capacité antioxydante totale de l'extrait méthanolique de pépins de raisin et ont révélé une valeur de l'ordre de 60,13 (mg EAA/g E).

De même, **Kapcsándi et al. (2021)** ont étudié la capacité antioxydante totale des extraits de pépins de raisin (*Vitis vinifera*) de plusieurs variétés et ont enregistré une capacité antioxydante élevée, avec des valeurs comprises entre 228,50 et 438,33 mg AAE/g.

Dans notre travail nous avons également évalué l'effet antibactérien et antifongique des extraits en utilisant la méthode de diffusion sur milieu solide et la méthode de microdilution vis-à-vis des souches de références (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* et *Candida albicans*).

Les extraits hydro-méthanoliques de pépins de raisin ont présenté une activité antimicrobienne variable selon les souches testées et la concentration utilisée. Les diamètres des zones d'inhibition augmentaient avec la concentration de l'extrait, traduisant un effet dose-dépendant. L'extrait hydro-méthanolique préparé par macération (EBM) a montré une activité légèrement supérieure à celle de l'extrait préparé par décoction (EBD) contre la majorité des microorganismes testés. Les plus grands diamètres de zones d'inhibition ont été observés contre *Staphylococcus aureus* (16 mm), *Bacillus subtilis* (15 mm) et *Bacillus cereus* (14 mm), tandis que *Klebsiella pneumoniae* s'est révélée la souche la moins sensible, notamment vis-à-vis de l'EBM (6 mm).

Nanda et al., (2024) ont montré que l'extrait éthanolique de pépins de raisin a présenté une activité inhibitrice vis-à-vis *Enterococcus faecalis* avec un diamètre d'inhibition de 15,49 mm.

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des extraits de pépins de raisin varient de 2,5 à 10 mg/mL, traduisant une activité antimicrobienne notable contre l'ensemble des microorganismes testés. Les plus faibles CMI ont été observées contre *Pseudomonas aeruginosa* pour l'extrait EBM (2,5 mg/mL) et contre *Candida albicans* pour les deux extraits (EBD et EBM) (2,5 mg/mL), indiquant une sensibilité élevée de ces souches. En revanche, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* et *Enterococcus faecalis* ont présenté des CMI de 10 mg/mL.

De même, l'étude de **Krasteva et al. (2023)** a montré que les extraits hydroalcooliques de pépins de raisin obtenus par extraction (éthanol/eau, 70:30 v/v) exercent une activité inhibitrice contre plusieurs bactéries Gram positives et Gram négatives, notamment *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* et *Escherichia coli*.

De même l'huile de pépins de raisin, **Dordevski et al. (2022)** ont rapporté une activité inhibitrice contre *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* et *Candida albicans*. Cette activité a été attribuée à la présence d'acides gras insaturés, de tocophérols et de composés phénoliques présents dans l'huile.

Les extraits de *Vitis vinifera* présentent une activité antimicrobienne importante liée à leur richesse en composés phénoliques, notamment les flavonoïdes, les tanins condensés et les procyanidines (**Pozzo et al., 2023**). Ils inhibent la croissance de plusieurs micro-organismes pathogènes tels que *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Salmonella* par l'altération de la membrane cellulaire et la perturbation des fonctions métaboliques bactériennes (**Veiko et al., 2023**).

Dans la présente étude les teneurs élevées en composés phénoliques (polyphénols totaux et flavonoïdes totaux) des extraits bruts hydrométhanoliques de pépins de raisin sont probablement responsables du pouvoir antioxydant puissant et l'activité antimicrobienne importante de nos extraits. En revanche les composés phénoliques sont parmi les antioxydants les plus puissants, ceci grâce à leur capacité importante de piéger des radicaux libres et également de réduire et de chélater les ions de transition. Ces composés peuvent agir également sur les micro-organismes selon plusieurs mécanismes d'actions qui sont en relation avec la nature chimique de ces composés. Ils peuvent inhiber la synthèse des protéines ou de l'ADN, déstabiliser la membrane cellulaire ou inhiber la pompe à efflux membranaires (**Simões et al., 2012**).

Conclusion

Notre étude porte sur l'analyse phytochimique des extraits bruts hydrométhanoliques des pépins de raisin (*Vitis vinifera* L.) récolté dans la région de Ghazaouet, obtenus par décoction (EBD) et macération (EBM), ainsi que l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante et antimicrobienne. D'après les résultats obtenus, nous sommes parvenus aux conclusions suivantes :

Les tests phytochimiques et les dosages quantitatifs réalisés sur les extraits bruts hydrométhanoliques de pépins de raisin, préparés par macération et décoction ont révélé une richesse notable en composés phénoliques, notamment en polyphénols totaux et flavonoïdes totaux, confirmant le potentiel bioactif des extraits étudiés ;

L'extrait obtenu par décoction a enregistré les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux ($666,48 \pm 0,17 \mu\text{g Eq AG/mg ES}$) et en flavonoïdes totaux ($355,26 \pm 0,02 \mu\text{g Eq AG/mg ES}$).

L'évaluation de l'activité antioxydante par la méthode de piégeage du radical libre ABTS $\bullet+$ a montré une forte capacité antiradicalaire des deux extraits, avec une activité plus marquée pour l'EBD ($\text{IC}_{50} = 23,11 \pm 0,84 \mu\text{g/mL}$) comparativement à l'EBM ($\text{IC}_{50} = 42,38 \pm 0,50 \mu\text{g/mL}$), dépassant celle du Trolox ;

Les extraits bruts hydrométhanoliques de pépins de raisin ont montré une capacité antioxydante totale importante avec des valeurs respectives de l'ordre de $132,45 \pm 2,52 \mu\text{g EAA/mg ES}$ pour l'EBM et de $136,28 \pm 1,28 \mu\text{g EAA/mg ES}$ pour l'EBD ;

Les extraits ont également présenté une activité antimicrobienne remarquable intéressante contre les souches bactériennes testées avec une efficacité plus importante de l'EBD par rapport à l'EBM. Les bactéries Gram positives se sont révélées plus sensibles que les bactéries Gram négatives, tandis qu'une activité antifongique a été observée contre *Candida albicans* ;

Ces résultats ne constituent qu'une étude préliminaire, soulignent l'importance cruciale de mener des études complémentaires, approfondies et précises afin d'améliorer notre compréhension, avec les perspectives suivantes :

- Séparation et identification des composés phénoliques par des méthodes chromatographiques (la chromatographie sur colonne, HPLC...), ou des méthodes spectrophotométriques (la RMN, la spectroscopie de masse...) ;
- Évaluer les activités biologiques *in vivo* afin de confirmer les résultats obtenus *in vitro* ;

- Approfondir l'étude de l'activité antimicrobienne en testant un plus large panel de souches microbiennes et en déterminant les mécanismes d'action des extraits ;
- Étudier d'autres activités biologiques : anti-inflammatoire, anticancéreuse et antidiabétique.

Références bibliographiques

- **Altayb, H. N., Yassin, N. F., Hosawi, S., Aljuaid, B. S., Alharthi, S. A., Alghamdi, S., & Alsolami, M. A. (2022).** In-vitro and in-silico antibacterial activity of *Azadirachta indica* (Neem) methanolic extract and identification of beta-D-mannofuranoside as a promising antibacterial agent. *BMC Plant Biology*, 22, Article 262.
- **Benchikh, Y. (2015).** *Étude des composés phénoliques et des flavonoïdes dans les plantes médicinales* [Mémoire de master, Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen].
- **Bensaïd, A., & Lechleche, S. (2021).** *Étude morphologique et phytochimique du raisin (Vitis vinifera L.)*. Mémoire de Master, Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen.
- **Beres, C., Costa, G. N., Cabezudo, I., & Mellinger-Silva, C. (2020).** *Grape by-products: Chemical composition and bioactive compounds*. *Food Research International*, 132, 109050.
- **Bhatti, A. M., Shahzad, A., Khan, M. K. I., & Mahmood, S. (2022).** Bioactive compounds from medicinal plants and their therapeutic potential: A review. *Frontiers in Pharmacology*, 13, Article 1015173.
- **Bolat, E., Sarıtaş, S., Duman, H., Eker, F., Akdaşçi, E., Karav, S., & Witkowska, A. M. (2024).** *Polyphenols: Secondary metabolites with a biological impression*. *Nutrients*, 16(15), 2550.
- **Bruneton, J. (1999).** *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales* (3e éd.). Lavoisier.
- **Bruneton, J. (2009).** *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales* (4e éd.). Lavoisier.
- **Clinical and Laboratory Standards Institute. (2012).** *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically* (9th ed., CLSI standard M07-A9). Clinical and Laboratory Standards Institute.
- **Costa, T. D. S. A., Vieira, R. F., Bizzo, H. R., Silveira, D., & Gimenes, M. A. (2012).** Secondary Metabolites. In *Chromatography and Its Applications*, (Sasikumar, pp. 155–167).
- **Da Porto, C., Porretto, E., & Decorti, D. (2013).** *Comparison of ultrasound-assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape seeds*. *Journal of Food Engineering*, 116(1), 1–7.
- **Đorđevski, N., Stojković, D., Živković, J., Pljevljakušić, D., Ristanović, E., Nikolić, B., & Ćirić, A. (2022).** *Tamjanika, a Balkan native variety of Vitis vinifera L.: Chemical characterization, antibacterial, and anti-dermatomycosis potential of seed oil*. *Food Science & Nutrition*, 10(4), 1312–1319.

- **Dumanović, J., Nepovimova, E., Natic, M., Kuča, K., & Jačević, V. (2021).** The significance of reactive oxygen species and antioxidant defense system in plants: A review. *Frontiers in Plant Science*, 12, 684761.
- **Ekalu, A., & Habila, J. D. (2020).** Flavonoids: Isolation, characterization, and health benefits. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 9(1), 45.
- **Elshafie, H. S., Caputo, L., De Martino, L., Sakr, S. H., & Camele, I. (2023).** Medicinal plants as a source of bioactive compounds: Recent advances and future perspectives. *Plants*, 12(5), 1024.
- **Felhi, S., Baccouch, N., Ben Salah, H., Smaoui, S., Allouche, N., Gharsallah, N., & Kadri, A. (2016).** *Nutritional constituents, phytochemical profiles, in vitro antioxidant and antimicrobial properties, and gas chromatography-mass spectrometry analysis of various solvent extracts from grape seeds (Vitis vinifera L.)*. *Food Science and Biotechnology*, 25(6), 1537–1544.
- **Felhi, S., et al. (2016).** *Phenolic composition and antioxidant activity of grape seed extracts from different solvents*. *Industrial Crops and Products*, 88, 105–113.
- **Fraga-Corral, M., García-Oliveira, P., Pereira, A. G., Lourenço-Lopes, C., Jimenez-Lopez, C., Prieto, M. A., & Simal-Gandara, J. (2021).** *Technological application of tannins and their derivatives in food systems: A review*. *Molecules*, 26(9), 3021.
- **Ghafoor, K., et al. (2020).** *Antibacterial potential of grape seed extracts and their bioactive compounds*. *LWT – Food Science and Technology*, 118, 108786.
- **Ghouila, Z., Laurent, S., Henoumont, C., Vander Elst, L., Muller, R. N., & Baaliouamer, A. (2016).** Rich extract on total polyphenols and antioxidant activity obtained by conventional and non-conventional methods from Ahmeur Bouamer grape seed. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 8(3), 692–711.
- **Goetz, M. (2021).** *Grape seed oil composition and nutritional properties*. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 123(5), 2000345.
- **González Mera, I. F., González Falconí, D. E., & Morera Córdova, V. (2019).** *Secondary metabolites in plants: Main classes, phytochemical analysis and pharmacological activities*. *Bionatura*, 4(4), 1000–1009.
- **Gülçin, İ. (2012).** *Antioxidant and anti-inflammatory properties of plant phenolics*. *Current Pharmaceutical Design*, 18(21), 3106–3114.
- **Habib, H. M., Al Meqbali, F. T., Kamal, H., Souka, U., & Ibrahim, W. H. (2022).** *Bioactive components, antioxidant and DNA damage inhibitory activities of grape seed extract*. *Food Bioscience*, 49, 101852.

- **Hanaa, M., Elshafie, M., Ismail, H., Mahmoud, M., & Ibrahim, H. (2015).** Chemical studies and phytochemical screening of grape seeds (*Vitis vinifera* L.). *Minia J. Agric. Res. Dev*, 35, 313-325;
- **Harborne, J. B. (1998).** *Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis* (3rd ed.). Chapman & Hall.
- **Haseeb, M., et al. (2019).** *Grapes (Vitis vinifera L.): Nutritional composition, phytochemistry and health benefits*. *Journal of Food Biochemistry*, 43(10), e12965.
- **Hassan, Z. M., Osheba, A. S., Khallaf, M. F., & Abdel Fattah, A. A. (2019).** Assessment of grape seeds as a source of antioxidant compounds. *Arab Universities Journal of Agricultural Sciences*, 27(1), 501–509.
- **Jin, W., Yang, Z., Xu, K., Liu, Q., Luo, Q., Li, L., & Xiang, X. (2025).** *A Comprehensive Review of Plant Volatile Terpenoids, Elucidating Interactions with Surroundings, Systematic Synthesis, Regulation, and Targeted Engineering Production*. *Biology*, 14(5), 466.
- **Juricová, H., et al. (2020).** *Antimicrobial activity of grape seed oil against pathogenic microorganisms*. *Molecules*, 25(12), 2890.
- **Kalli, M., et al. (2020).** *Morphological and biochemical characterization of Vitis vinifera L. varieties*. *Journal of Horticultural Science*, 25(3), 210–218.
- **Kapcsándi, V., Hanczné Lakatos, E., Sik, B., Linka, L. Á., & Székelyhidi, R. (2021).** Antioxidant and polyphenol content of different *Vitis vinifera* seed cultivars and two facilities of production of a functional bakery product. *Chemical Papers*, 75(11), 5711–5717.
- **Krasteva, D., Ivanov, Y., Chengolova, Z., & Godjevargova, T. (2023).** *Antimicrobial potential, antioxidant activity, and phenolic content of grape seed extracts from four grape varieties*. *Microorganisms*, 11(2), 395.
- **Kumar, N., Goel, N., & Kumar, V. (2020).** *Phenolic compounds: Structure, classification, and biological activities*. Dans les ouvrages et revues sur les composés phénoliques et les produits naturels.
- **Kurek, J. (2019).** *Alkaloids as bioactive compounds: Biological activities and pharmaceutical potential*. *Molecules*, 24(16), 2920.
- **Labri, K., Moghrani, H., Kord, A., Doukara, A. B., Gueffai, A., & Assia, A. (2020).** Phytochemical screening, antioxidant and antimicrobial activities of grape (*Vitis vinifera* L.) seed extracts from red globe and Valenci Algerian varieties. *Acta Period. Technol.*, 220(51), 137-147 ;

- **Liu, J., Du, C., Beaman, H. T., & Monroe, M. B. B. (2020).** *Characterization of phenolic acid antimicrobial and antioxidant structure–property relationships. Pharmaceutics*, 12(5), 419.
- **Liu, Y., & Wang, X. (2019).** *Distribution and cultivation of Vitis vinifera in temperate regions. Agricultural Sciences*, 10(6), 845–856.
- **Luque de Castro, M. D., & Priego-Capote, F. (2010).** Soxhlet extraction: Past and present panacea. *Journal of Chromatography A*, 1217(16), 2383–2389.
- **Ma, X., et al. (2021).** *Taxonomic classification and genetic diversity of Vitis vinifera L. Plant Systematics and Evolution*, 307(3), 1–12.
- **Martin, A., Soto, C., & Garcia, J. (2020).** *Phenolic compounds in grape seed oil and their biological activity. Journal of Functional Foods*, 67, 103874.
- **Mutha, R. E., Tatiya, A. U., & Surana, S. J. (2021).** Flavonoids as natural phenolic compounds: Biosynthesis, biological activities and applications. *Journal of Herbal Medicine*, 28, 100438.
- **Nanda, E. V., Hamida, F., Puspita, D., & Syafriana, V. (2024).** *Antibacterial activity of grape seed extract (Vitis vinifera L.) against Enterococcus faecalis. Bioeduscience*, 8(1).
- **Oh, J., Jung, S. R., Lee, Y. J., Park, K. W., Kim, S. Y., & Han, J. (2013).** Antioxidant and antiobesity activities of seed extract from Campbell Early grape as a functional ingredient. *Journal of Food Processing and Preservation*, 37(4), 291–298.
- **Organisation Internationale de la Vigne et du Vin. (2022).** *State of the world vitivinicultural sector*.
- **Pozzo, L., Grande, T., Raffaelli, A., Longo, V., Weidner, S., Amarowicz, R., & Karmać, M. (2023).** *Characterization of antioxidant and antimicrobial activity and phenolic compound profile of extracts from seeds of different Vitis species. Molecules*, 28(13), 4924.
- **Prieto P; Pineda M; Aguilar M., 1999.** Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry* :269; Pp: 337-341.
- **Quelinis, P. (2008).** *Viticulture mondiale et répartition des cépages*. Éditions agricoles.
- **Radulescu, C., Buruleanu, L. C., Nicolescu, C. M., Olteanu, R. L., Bumbac, M., Holban, G. C., & Simal-Gandara, J. (2020).** Phytochemical profiles, antioxidant and antibacterial activities of grape (*Vitis vinifera* L.) seeds and skin from organic and conventional vineyards. *Plants*, 9(11), 1470.
- **Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999).** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free*

- Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237.
- **Riaz, M., Ahmad, A., & Khan, M. A. (2022).** *Grape seed: A valuable by-product with health-promoting properties. Food Bioscience*, 47, 101650.
 - **Saravanan, R., & Saritha, V. (2020).** Terpenoids: Chemistry, biological significance and pharmacological applications. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 9(3), 143–150.
 - **Sato, M., Bagchi, D., Tosaki, A., & Das, D. K. (2001).** *Grape seed proanthocyanidin reduces lipid peroxidation and protects against cardiovascular damage. Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 37(6), 699–709.
 - **Shinagawa, F. B., Santana, F. C., Torres, L. R. O., & Mancini-Filho, J. (2015).** *Grape seed oil: Composition, properties and health benefits. Food Science and Technology*, 35(2), 192–198.
 - **Šikuten, I., Štambuk, P., Andabaka, Ž., Tomaz, I., Marković, Z., Stupić, D., Maletić, E., Karoglan Kontić, J., & Preiner, D. (2020).** *Grapevine as a rich source of polyphenolic compounds. Molecules*, 25(23), 5604.
 - **Silva, V., Igrejas, G., & Poeta, P. (2012).** *Antimicrobial activity of grape seed extracts against foodborne pathogens. Food Control*, 27(1), 201–206.
 - **Trane, R., Bouchentouf, S., Kabouche, Z., & Kabouche, A. (2020).** Medicinal plants and their biological activities: An overview. *Phytothérapie*, 18(4), 211–220.
 - **Twaij, B. M., & Hasan, M. N. (2022).** Bioactive secondary metabolites from medicinal plants: A review of their therapeutic potential. *Molecules*, 27(11), 3369.
 - **Valgas, C., De Souza, S. M., Smânia, E. F. A., & Smânia Jr., A. (2007).** Screening methods to determine antibacterial activity of natural products. *Brazilian Journal of Microbiology*, 38(2), 369–380. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822007000200034>
 - **Veiko, A. G., Olchowik-Grabarek, E., Sekowski, S., Roszkowska, A., Lapshina, E. A., Dobrzyńska, I., Zamaraeva, M., & Zavodnik, I. B. (2023).** *Antimicrobial activity of flavonoids (quercetin, naringenin and catechin): Effects on bacterial membranes and inhibition of Staphylococcus aureus. Molecules*, 28(3), 1252.
 - **Vermerius, W. et Nicholson, R. (2006).** Isolation and Identification of Phenolic Compounds. In: *Phenolic Compound Biochemistry*. Springer, Dordrecht, p. 35-191 ;
 - **Weidner, S., Karolak, M., & Karamac, M. (2013).** *Phenolic compounds in grape seeds: HPLC analysis and antioxidant activity. Food Chemistry*, 141(3), 2868–2876.
 - **Yang, L., Wen, K.-S., Ruan, X., Zhao, Y.-X., Wei, F., & Wang, Q. (2018).** *Response of plant secondary metabolites to environmental factors. Molecules*, 23(4), 762.

- **Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W. (1999).** The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem.* 64, 555-559.

الملخص

عذ العنب (*Vitis vinifera* L.)، المنتمي إلى فصيلة الكرمايات (Vitaceae)، مصدراً مهماً للمركبات النشطة بيولوجياً، وخاصة المركبات الفينولية المعروفة بخصائصها الحيوية.

تهدف هذه الدراسة إلى إجراء دراسة فيتوكيميائية وتقييم النشاط المضاد للأكسدة والنشاط المضاد للميكروبات للمستخلصات الخام المائية-الميثانولية لبذور العنب، المحضرة بطريقة الغليان (EBD) وطريقة النقع (EBM).

أظهرت نتائج الاختبارات الفيتوكيميائية وجود الفلافونويدات، التانينات، الكينونات الحرة، القلويدات، التربينويدات، والسكريات المختزلة. كما أظهر تقدير المركبات الفينولية أن المستخلص الخام المائي-الميثانولي المحضر بطريقة الغليان (EBD) سجل أعلى محتوى من البوليفينولات الكلية (0.17 ± 666.48 ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك/ملغ من المستخلص الجاف) وأعلى محتوى من الفلافونويدات الكلية (0.029 ± 355.26 ميكروغرام مكافئ الكاتيشين/ملغ من المستخلص الجاف). أظهر تقييم النشاط المضاد للأكسدة باستخدام طريقة التقاط الجذور الحرة $ABTS^{•+}$ قدرة عالية للمستخلصات على تثبيط الجذور الحرة. حيث أظهر مستخلص EBD نشاطاً أقوى ($IC_{50} = 23.11 \pm 0.84$ ميكروغرام/مل) مقارنةً بمستخلص EBM ($IC_{50} = 42.38 \pm 0.50$ ميكروغرام/مل) وكانت هذه الفعالية أفضل من فعالية Trolox ($IC_{50} = 63.45 \pm 0.01$ ميكروغرام/مل). كما سجل EBD أعلى قدرة مضادة للأكسدة الكلية (1.28 ± 136.38 ميكروغرام مكافئ حمض الأسكوربيك/ملغ من المستخلص الجاف).

كما أظهرت المستخلصات نشاطاً مضاداً للبكتيريا والفطريات بشكل ملحوظ تجاه السلالات المرجعية المختبرة. وقد أظهر مستخلص EBD نشاطاً أعلى قليلاً من EBM وأكدت قيم التركيز المثبط الأدنى (CMI) التي تراوحت بين 2.5 و 10 ملغ/مل هذه النتائج.

الكلمات المفتاحية: بذور العنب (*Vitis vinifera*)، المركبات الفينولية، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للميكروبات، المستخلصات المائية-الميثانولية.

Résumé

Le raisin (*Vitis vinifera* L.), appartenant à la famille des Vitacées, constitue une source importante de composés bioactifs, notamment les composés phénoliques reconnus pour leurs propriétés biologiques.

Cette étude a pour objectif de réaliser une étude phytochimique et d'évaluer l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits bruts hydro-méthanoliques de pépins de raisin, préparés par décoction (EBD) et macération (EBM).

Les résultats des tests phytochimiques ont révélé la présence des flavonoïdes, des tanins, des quinones libres, des alcaloïdes, des terpénoides et des sucres réducteurs. Le dosage des composés phénoliques montre que l'extract brut hydro-méthanolique préparé par décoction (EBD) a enregistré les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux ($666,48 \pm 0,17 \mu\text{g Eq AG/mg ES}$) et en flavonoïdes totaux ($355,26 \pm 0,02 \mu\text{g Eq C/mg ES}$).

L'évaluation de l'activité antioxydante par méthode de piégeage du radical libre $ABTS^{•+}$ a révélé une forte capacité antiradicalaire des extraits. L'EBD a présenté une activité plus puissante ($IC_{50} = 23,11 \pm 0,84 \mu\text{g/mL}$) que celle de l'EBM ($IC_{50} = 42,38 \pm 0,50 \mu\text{g/mL}$). Cette activité est meilleure que celle du Trolox ($IC_{50} = 63,45 \pm 0,10 \mu\text{g/mL}$). De même, l'EBD a enregistré la capacité antioxydante totale la plus élevée ($136,28 \pm 1,28 \mu\text{g EAA/mg ES}$).

Les extraits ont également montré une activité antibactérienne et antifongique notable vis-à-vis des souches de référence testées. L'EBD a présenté une activité légèrement supérieure à celle de l'EBM. Des Concentrations minimales inhibitrices (CMI), comprises entre 2,5 et 10 mg/mL, confirment ces résultats.

Les mots clés : Les pépins de raisin (*Vitis vinifera*), composés phénoliques, activité antioxydante, activité antimicrobienne, extraits hydro-méthanoliques.

Abstract

Grape (*Vitis vinifera* L.), belonging to the Vitaceae family, is an important source of bioactive compounds, particularly phenolic compounds known for their biological properties.

The aim of this study was to carry out a phytochemical screening and to evaluate the antioxidant and antimicrobial activities of crude hydro-methanolic extracts of grape seeds, prepared by decoction (EBD) and maceration (EBM).

The phytochemical tests revealed the presence of flavonoids, tannins, free quinones, alkaloids, terpenoids, and reducing sugars. The quantification of phenolic compounds showed that the hydro-methanolic crude extract prepared by decoction (EBD) exhibited the highest contents of total polyphenols ($666.48 \pm 0.17 \mu\text{g GAE/mg ES}$) and total flavonoids ($355.26 \pm 0.02 \mu\text{g CE/mg ES}$).

The evaluation of antioxidant activity using the $ABTS^{•+}$ radical scavenging assay revealed a strong antiradical capacity of the extracts. EBD showed a stronger activity ($IC_{50} = 23.11 \pm 0.84 \mu\text{g/mL}$) than EBM ($IC_{50} = 42.38 \pm 0.50 \mu\text{g/mL}$). This activity was higher than that of Trolox ($IC_{50} = 63.45 \pm 0.10 \mu\text{g/mL}$). Similarly, EBD recorded the highest total antioxidant capacity ($136.28 \pm 1.28 \mu\text{g AAE/mg ES}$).

The extracts also showed notable antibacterial and antifungal activities against the tested reference strains. EBD exhibited slightly higher activity than EBM. Minimum inhibitory concentrations (MICs) ranging from 2.5 to 10 mg/mL confirmed these results.

Keywords: Grape seeds (*Vitis vinifera*), phenolic compounds, antioxidant activity, antimicrobial activity, hydro-methanolic extracts.