République Algérienne Démocratique et Populaire Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique Université A. MIRA - Bejaïa

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département de microbiologie. Spécialité biotechnologie microbienne



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

Activité antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de pêcher *Prunus persica*

Présenté par :

Messaoudi sylia & Mohellebi djedjiga

Soutenu le: 29/06/2019

Devant le jury composé de :

| M Kecha.Mouloud | Professeur | Président |
|------------------------|------------|--------------|
| M Bettache .Azzeddine | MCA | Promoteur |
| M Mokrani .Abderrahmen | MCB | Co-promoteur |
| Mm Tafoukt Ryma | MAA | Examinatrice |

Année universitaire: 2018 / 2019

Remerciements

Avant tout, nous tenons à remercier Dieu le tout puissant qui nous a donné la santé, la volonté, la patience et nous a guidé à réaliser ce modeste travail.

Au terme de ce modeste travail, nous tenons à exprimer nos vifs remerciements:

A notre promoteur M^r Bettache. A maître de conférences du département microbiologie université de Bejaia qui nous a fait l'honneur de réaliser ce travail sous sa direction, pour avoir toujours eu confiance en nous et pour son soutien sa simplicité, sa collaborations, sa disponibilité ainsi à ces précieux conseils et pour nous avoir donnés les moyens et l'assistance nécessaire tout au long de notre mémoire sans lesquels ce travail n'aurait pas vu le jour, qu'il trouve ici l'expression de notre gratitude.

Un grand merci à **M^r Moukrani**. A maitre de conférences du département science alimentaire université de Bejaïa, qui nous a accompagner tout au long de ce travail, s'est toujours montré a l'écoute, ainsi pour son aide, sa patience, ces conseils judicieux et le temps qu'il a bien voulu nous consacrer. Nous luis en seront éternellement reconnaissant.

Nous remercions M^r Kecha. M d'avoir accepté de présider notre jury et qui a pris le temps de lire et de corriger ce mémoire. C'est un honneur pour nous de vous avoir dans notre jury. Nous adressons également nos hommages les plus respectueux à M^m Tafoukth. R qui nous a fait l'immense honneur d'accepter d'être examinatrice de ce modeste travail.

Nous exprimons nos reconnaissances à tous les enseignants du département de biologie pour avoir fortement contribué à enrichir nos connaissances.

Enfin, à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Merci



Grace à dieu le tout puissant, je dédie ce travail:

Aux personnes les plus chères au monde mes parents.

Qui m'ont doté d'une éducation digne, qui a donné toute leurs vies pour mon bonheur. Pour leur sacrifices, leur soutiens, leurs encouragement toute au long de mes études. Que dieu vous procure bonheur, santé et longue vie. Que ce travail soit pour vous un motif de fierté et de satisfaction.

A mes frères et à ma sœur.

A mes très chers grands-parents paternels et maternels pour leurs encouragements et leur soutien moral.

A mon oncle et à sa famille

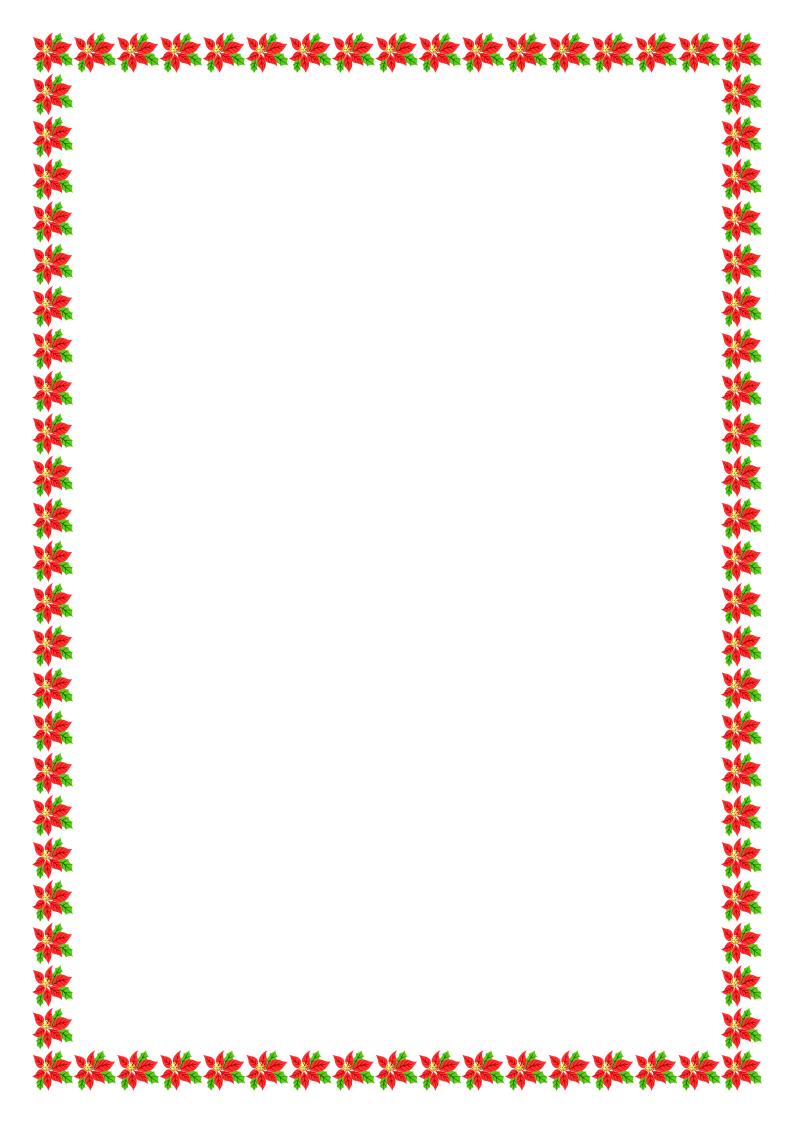
A la personne qui m'a donné la force de continué

A ma binôme sylia et à sa famille

A toute ma famille et mes amis sans exception. Que Dieux nous guide tous au long de notre vie.

Sans oublier mes encadrants Mr Bettache Azzeddine et Mr Mokrani Abderrahmane.

Djedjiga





Je dédie ce modeste travail à tous ceux qui sont très chères à moi

A mes parents qui m'ont soutenue tout au long de mes études, qui sont une source de vie pour moi car sans eux, sans leurs sacrifices, leur affection, je ne pourrais pas arrivé jusqu'au bout, qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde reconnaissance. Puisse dieu le très haut vous accorder bonheur sante et langue vie.

Que cet humble travail soit le meilleur cadeau que je puisse vous offrir.

A mes sœurs et frère qui me donnent de l'amour, la vivacité et la force de continuer en particulier ma petite sœur dihia qui donne la joie et le bonheur pour toute la famille.

A mon cher fiancé qui a su me soutenir moralement et qui a partagé avec moi les moments d'émotions lors de la réalisation de ce travail, il m'a chaleureusement supporté et encouragé tout au long de ce parcours.

A mes amis avec qui j'ai partagé des moments les plus agréables et à qui je souhaite plus de sucés.

A ma chère binôme et copine djedjigua.

Et a toute ma famille sans exception

Sans oublier mes encadrants Mr Bettache Azzeddine et Mr Mokrani Abderrahmane.

Sylia

Liste des tableaux

| Tableau | Titre | | |
|---------|---|------------------------------|--|
| I | Classification systématique de <i>Prunus persica</i> . | | |
| II | Activités biologiques de quelques composés phénoliques. | ques composés phénoliques. 9 | |
| III | les pourcentages d'extraction des extraits des feuilles de | | |
| | prunus persica. | | |
| IV | Résultats de l'activité antibactérienne d'extrait phénolique | | |
| | des différents extraits de pêche par méthode de diffusion sur | | |
| | gélose. | | |
| V | Les Résultats de l'activité antibactérienne des différents | | |
| | extraits phénoliques des feuilles de pêcher sur les souches | | |
| | testées. | | |

Liste des Figures

| Figure | Titre | |
|--------|---|----|
| 1 | Structure des acides phénoliques. | |
| 2 | Structure de base des flavonoïdes. | |
| 3 | Structures des principales classes de flavonoïdes. | |
| 4 | Schéma explicatif de la méthode de micro-dilutions sur microplaque. | |
| 5 | Teneur en polyphénols totaux des extraits des feuilles de Prunus persica. | 22 |
| 6 | Teneur en flavonoïdes des extraits des feuilles de <i>Prunus</i> persica. | |
| 7 | Valeurs de DPPH des extraits des feuilles de <i>Prunus persica</i> . | 26 |
| 8 | Valeurs de l'ABTS des extraits des feuilles de | |
| 9 | Prunus persica. Pouvoir réducteur des extraits des feuilles de Prunus persica. | |
| 10 | Pouvoir chélateur du fer des extraits des feuilles de <i>Prunus</i> persica. | |
| 11 | Capacité antioxydante totale (TCA) des extraits des feuilles de <i>prunus persica</i> . | |
| 12 | Effet d'extraits phénoliques sur la croissance bactérienne des deux souches (Escherichia coli et Staphylococcus aureus) | 34 |

Liste des Tableaux et Figures

Abs: Absorbance

ABTS+□: Acide 2-2-azinobis-3-éthybenzothiazoline-6-sulfonique

ADN: Acide désoxyribonucléique

ANOVA: Analysis of one variance (analyse d'une seul variance)

CMI: Concentration minimale inhibitrice.

DMSO: Diméthylsulfoxyde.

DPPH: 2,2-diphinol-1-picrylhydrazyl

EAA: Equivalent Acide Ascorbique.

EAG: Equivalent d'acide gallique

ERO: Espèce réactive a l'oxygène = Reactive oxygen species

E.D: Eau distillée

EDTA: Acide éthylènediaminetétraacétique

ET: Equivalent Trolox.

EQ: Equivalent Quercétine.

ES: Extrait sec

FeCl3: Chlorure de fer.

Fe³⁺: Fer Ferrique.

Fe²⁺ : Fer ferreux.

H2O2: Peroxyde d'hydrogène.

HCL: Acide chlorhydrique.

MH: gélose Mueller-Hinton.

Nacl: Chlorure de sodium.

NaOH: Hydroxyde de sodium.

Na₂CO₃: Carbonate de sodium.

nm: Nanomètre

OH: Radical hydroxyle.

pH: Potentiel d'hydrogène.

r : Coefficient de corrélation.

rpm: Rotation Par Minute.

ROS: Espèces réactives oxygénées.

 R^2 : Coefficient de détermination.

SB: Suspension bactérienne.

SM: Solution Mère.

T°: Température.

TCA: Trichloroacétique.

ZI: Zone d'Inhibition.

.

Table de matières

Liste des tableaux Liste des figures Liste des abréviations

| Introduction | 1 |
|--|-----|
| Partie bibliographique | |
| I. Les plantes médicinales | |
| I. La phytothérapie et les plantes médicinales | 3 |
| II. Avantages des plantes médicinales | 3 |
| II. Prunus persica | |
| II.1 Généralités | 4 |
| II.2 Description de la plante | 4 |
| II.3 Classification de la plante | 4 |
| II.4 Propriétés thérapeutique | 5 |
| III. Les composés phénoliques | |
| III.1. Généralités | 7 |
| III.2 Classification des polyphénols | 7 |
| III.2.1 Acide phénolique | 7 |
| III.2.1.1 Acides hydroxybenzoïque | 7 |
| III.2.1.2 Acides hydroxycinnamique | 7 |
| III.2.2 Les flavonoïdes | 8 |
| III.3 Propriétés biologiques des composés phénoliques | 9 |
| III.4 Activités antibactérienne des composés phénoliques | .10 |
| III.5 Descriptions de quelques souches | 10 |

IV. Radicaux libres et stress oxydatif

| IV.1 Radicaux libres |
|---|
| IV.1.1 Définition |
| IV.1.2 Sources des radicaux libres11IV.1.3 Dommages liés aux radicaux libres11IV.2 Stress oxydatif12 |
| IV.2.1 Définition |
| Matériel et méthodes |
| Etude phytochimique |
| I. Matériel végétal.13II. Extraction des composés phénoliques.13III. Dosages des antioxydants.13III.1 Les composés phénoliques.13 |
| III.1.1 dosage des polyphénols totaux |
| III.1.2 Dosage des flavonoïdes totaux |
| IV.1 Activité anti radicalaire en utilisant le DPPH14 |
| IV.2 Evaluation de l'activité antiradicalaire par l'ABTS |
| IV.3 pouvoir réducteur |
| IV.4 Chélation de fer |
| IV.6 Analyse statistique16 |
| Etude microbiologique |
| I. Les souches bactériennes utilisées |
| II. Revivification des souches |

| III. Evaluation de l'activite antimicrobienne | 1/ |
|---|----|
| III.1 Teste de l'activité antimicrobienne des extrais de feuilles du pêcher sur milieu solide | |
| III.1.1 Préparation de l'inoculum. III.1.2 Ensemencement. | |
| III.1.3 Préparation des dilutions des extraits des feuilles du pêcher | 18 |
| III.1.4 Méthode de diffusion des disques sur milieu solide | 18 |
| III.2 Activité antifongique | 18 |
| III.3 Activité antibactérienne sur milieu liquide méthode de microdilutions | 19 |
| III.3.1 Préparation de la microplaque | 19 |
| III.3.2 Les dilutions | 19 |
| III.3.3 Préparation de l'inoculum. | 19 |
| III.3.4 Lecture. | 20 |
| | |
| Résultats et discussion | |
| I. Rendement d'extraction | 21 |
| II. Dosage des antioxydants | |
| II.1. La teneur en polyphénols totaux | 22 |
| II.2. Teneur en flavonoïdes | 24 |
| III. L'activité antioxydante | 25 |
| III.1. Activité de piégeage du radical DPPH (Activité antiradicalaire) | 25 |
| III.2 Activité de piégeage du radical ABTS (Activité antiradicalaire) | 27 |
| III.3. Pouvoir réducteur | 29 |
| III.4. Pouvoir chélateur de fer | 30 |
| III.5. Capacité antioxydante totale (TCA | 31 |
| IV. Corrélations entre les antioxydants et l'activité antioxydante | 33 |
| V. Activité antimicrobienne | 33 |
| V.1. Méthode de diffusion en milieu solide (Méthode des disques | 33 |
| V.2. Méthode en milieu liquide | 36 |

Table de matières

| Conclusion | |
|----------------------------|----|
| Conclusion | 38 |
| Références bibliographique | |
| Annexes | |

INTRODUCTION

Introduction

Depuis toujours, les populations humaines utilisent les éléments de leurs environnements, en particulier les plantes, pour se soigner. Pendant longtemps, les remèdes naturels et surtout les plantes médicinales furent le principal recours de la médecine de nos grands-parents **EL Rhaffari and Zaid.**, (2004). De nos jours encore et malgré les progrès spectaculaires accomplis dans les domaines scientifiques, l'organisation mondiale de la santé (OMS) estime que la médecine traditionnelle couvre les besoins en soins de santé primaires de 80 % de la population des pays en voie de développement. Roumanatou et al., (2014), pour laquelle la majeure partie des thérapies impliquent l'exploitation des principes actifs des plantes médicinales (Basli and Chiban., 2011).

L'usage des plantes médicinales est actuellement en progression régulière, dans le grand public comme chez les professionnels de santé. Face à l'inflation galopante des dépenses de soins et aux risques liés à un usage excessif des médicaments chimiques (manifestation d'effets secondaires) (Jean-Michel Morel, 2008).

Le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques, et la toxicité des antioxydants synthétiques a conduit de chercher de nouvelles substances antibactériennes efficaces et à large spectre d'action. Une des stratégies pour cette recherche consiste à explorer les plantes utilisées en médecine traditionnelle. Par ailleurs beaucoup de plantes sont connue par leurs effets thérapeutiques grâce à leurs grandes potentialités métaboliques de substances dites secondaires. Ces composés sont synthétisés dans les différentes parties de la plante (racines, tige, feuilles...) (Basli and Chiban., 2011).

Le genre *Prunus* inclut des espèces végétales médicinales bien connue possédants diverses propriétés biologiques. *Prunus persica* est un fruit diététique, joue un rôle de premier plan dans la protection contre le stress oxydatif due aux radicaux libres grâce à sa teneur en antioxydants et en anti-inflammatoires (composées phénoliques et caroténoïdes), de ce fait, réduits le risque de développer des maladies généralement liées au stress oxydatif, les maladies cardiovasculaires, lute aussi contre le cancer **Juciano** *et al.*, (2014). Le pêcher est utilisé pour traiter la constipation, possède des propriétés laxatives qui favorisent l'évacuation des selles avec des actions stomachiques, qui facilitent la digestion, tout en stimulant les fonctions digestives **Gorinstein** *et al.*, (2002). Utilisés également pour améliorer la vue,

abaissement du taux de cholestérol, maintenir la tension artérielle et détoxifier les reins (Azar et al., 2018).

L'objectif du présent travail est l'étude des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes des feuilles de cette espèce végétale *Prunus persica* et cela par l'estimation des teneurs en composés actifs essentiels, pour cela notre travail a été structuré en trois parties :

La première partie est consacrée à la synthèse bibliographique où sont exposées des généralités sur les plantes médicinales et sur l'espèce *Prunus persica*, les radicaux libres et sur quelques propriétés thérapeutiques.

La deuxième partie expose l'ensemble des méthodes expérimentales mises en œuvre pour l'extraction des composés phénoliques, dosages des antioxydants et évaluation de l'activité antimicrobienne des extrais de feuilles du pêcher.

La troisième partie relate et discute les résultats obtenus au cours de cette étude avant de finaliser par une conclusion et perspectives.

PARTIE THÉORIQUE

I. Les plantes médicinales

I.1. La phytothérapie et les plantes médicinales

La phytothérapie est une tradition vieille de 1000 ans, est l'utilisation des plantes à effet thérapeutique. Le pouvoir thérapeutique de ces plantes était connu par nos ancêtres et nos parents de façon empirique (Nacoulma, 1996). Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS) estiment que la médecine traditionnelle couvre les besoin en soin de santé primaire de 80% de la population des pays en voie de développement (Bousta and Ennabili, 2001).

En Algérie, on a longtemps eu recours à la médecine traditionnelle grâce à la richesse et la diversité de sa flore qui compte environ 3000 espèces, appartenant à plusieurs familles botaniques (**Bouzabata**, 2016).

La phytothérapie désigne la médecine basée sur les extraits des plantes, comme la pluparts des plantes dans le monde possèdent des effets thérapeutiques, car elles contiennent des principes actifs naturels qui agissent directement sur l'organisme. On les utilise en médecine classique aussi bien qu'en phytothérapie elles présentent des avantages dont les médicaments sont souvent dépourvus (**Iserin et** *al.*, **2001**).

I.2. Avantages des plantes médicinales

Depuis l'antiquité, les plantes ont joués à travers le monde un rôle capital dans l'art de guérir. En effet les hommes n'ont que les plantes pour se soigner qu'il s'agisse de maladies bénignes, rhum ou toux, ou plus grave tel que la tuberculose ou la malaria. Aujourd'hui, les traitements avec les plantes médicinales reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments décroit. Les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et résistent de plus en plus. Le cout est faible par rapport aux traitements standardisés et qu'elle est donc plus accessible au pays du tiers monde (**Iserin et al.,2001**).

II. Prunus persica

II.1 Généralités

La pêche a été donnée par le philosophe grec Théophraste. Le non (*Prunus persica*) vient du latin *persica* tirant son origine de *pomum persicum* qui signifie fruit de perse (**Leterne and Lespinasse**, 2008).

Aujourd'hui les botanistes s'accordent tous, à attribuer au pêcher la chine pour pays d'origine. Les variétés chinoises, empruntant la route de la soie, arrivèrent en Perse, trouvant un climat favorable à leur épanouissement, les Grecs les ont introduites en Europe et comme pour beaucoup de fruits, les Romains contribuèrent à les disséminer (**Scordinor**, **2012**).

II.2 Description de la plante

Le pêcher est un arbre qui appartient à la famille des rosacées. Mesure entre 7et 8 m de haut. Ses feuilles caduques vertes alternées, étroitement lancéolées, dont la longueur varie entre 8 et 15 cm, ont un léger parfum d'amande, elles apparaissent à la fin de floraison, elles tombent plus ou moins tôt en automne (pinkas et al., 1996). Ecorce grise ou cendrée. Fleurs roses apparaissent au printemps ou en été, selon les espèces (Leterne and Lespinasse, 2008). Son fruit est une drupe c'est-à-dire fruit a noyau comprenant de l'extérieur à l'intérieur : l'exocarpe (peau), le mésocarpe (chair), l'endocarpe (noyau) et l'amande.

Prunus persica a près de 200 espèces cultivées pour leurs fruits comestibles et les graines (Rheder, 1940).

II.3 Classification de la plante

La classification de *Prunus persica* est représentée dans le tableau I suivant (**Leterne and Lespinasse**, **2008**) :

Tableau I : Classification systématique de *Prunus persica* (Leterne and Lespinasse, 2008).

| Règne | Plantae |
|--------------|----------------|
| Sous règne | Tracheobionta |
| Division | Magnoliophyta |
| Classe | Magnoliopsida |
| Sous classe | Rosidae |
| Ordre | Rosales |
| Famille | Rosaceae |
| Sous famille | Amygdaloideae |
| Genre | Prunus |
| Espèce | Prunus persica |

II.4 Propriétés thérapeutique

Le pêcher a un effet thérapeutique et nutritionnel très important. La consommation de ce fruit peut réduire la production des espèces réactives oxygénées(ROS) dans le plasma humain et fournit une protection contre plusieurs maladies, en raison de la présence de composés phénoliques présentant un pouvoir antiradicalaire important (**Belhadj et al., 2016**).

Selon Jung et al., (2002), les feuilles de pêcher ont des antioxydants principaux, tels que le prunetin, la quercétine et le kaempferol. Elles sont vermifuges, insecticide, sédative, diurétique adoucissantes, expectorant, et sont utilisés en leucoderme, le traitement de la gastrite, la coqueluche et la bronchite chronique. La pâte de feuille est employée pour tuer des vers dans les blessures et infections fongiques (Kritikar and Basu, 1984). Elles sont aussi capables à faire éliminer la fièvre (Laffont, 1995). Utilisé en bain de pied et de mains, en friction, elles sont utiles contre les douleurs, les dartres, les rhumatismes, les démangeaisons et les inflammations (Laffont, 1975).

La Pulpe de pêche montre également une certaine bioactivité, y compris l'atténuation induite par la chimiothérapie de hépatotoxicité, et l'inhibition de l'activité inflammatoire et allergique (Lee et *al.*, 2008).

III. Les composés phénoliques

III.1. Généralités

Les polyphénols aussi appelés composés phénoliques regroupent plus de 8000 molécules, classées en différentes classes chimiques. Ce sont les composés naturels les plus répandu dans la nature dont les principales sources sont les sécrétions végétales. Ils font partie de l'alimentation animale, où l'homme à titre d'exemple ingurgite quotidiennement l'équivalent de 10 g de ces composés (**Bahorun**, **1997**).

Les composés phénoliques proviennent principalement de secrétions de bourgeons, des exsudats de divers organes de plantes, ils sont représentés essentiellement par les flavonoïdes et les acides phénoliques (Amniot et al., 1989)

III.2 Classification des polyphénols

III.2.1 Acide phénolique

On distingue deux classes appartenant à cette sous-famille :

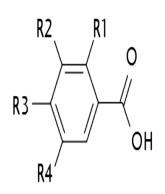
III.2.1.1 Acides hydroxybenzoïque

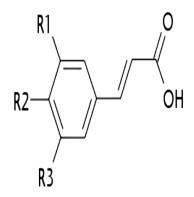
Ils sont des dérivés de l'acide benzoïque et ont une formule de base de type (C6-C1) (figure 1). Ils existent souvent sous forme d'esters ou de glycosides (**Zeghad., 2009**).

III.2.1.2 Acides hydroxycinnamique

Les acides hydroxycinnamique sont plus abondants que les acides hydroxybenzoïques. Ils dérivent de l'acide cinnamique et ont une structure générale de base de type (C6-C3). Ils existent souvent sous forme combinée avec des molécules organiques. Les degrés d'hydroxylation et de méthylation du cycle benzénique conduisent une réactivité chimique importante de ces molécules (**Zeghad**, **2009**).

La structure des acides phénoliques est représentée dans la figure 1.





| R1=R2=R3=R4=H | Acide benzoïque (non phénolique) | R1=R2=R3=H | Acide cinnamique (non phénolique) |
|-------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| R1=R4=H, R2=R3=OH | Acide protocatéchique | R1=R3=H, R2=OH | Acide <i>p</i> -coumarique |
| R1=H, R2=R3=R4=OH | Acide gallique | R1=R2=OH, R3=H | Acide caféique |
| R1=OH, R2=R3=R4=H | Acide salicylique | R1=OCH ₃ , R2=OH, R3=H | Acide férulique |
| R1=R4=OH, R2=R3=H | Acide gentisique | R1=R3=OCH ₂ , R2=OH | Acide sinapique |

Acides hydroxybenzïques

Acides hydroxycinnamiques

Figure 1: Structure des acides phénoliques (Laguerre et al., 2007).

III.2.2 Les flavonoïdes

La structure de base des flavonoïdes est le noyau Flavan, qui se compose de 15 atomes de carbone disposés en trois cycles (C6-C3-C6) qui sont nommés cycle A, cycle B et cycle C (figure 2). Sont des molécules poly-substituées ubiquitaires chez les plantes, formées à partir des acides aminés aromatiques phénylalanine, tyrosine et du malonate (**Stalikas, 2007**).

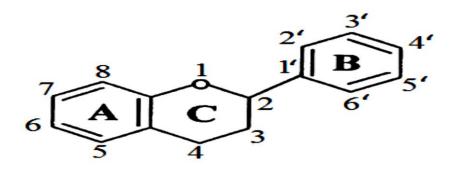


Figure 2 : Structure de base des flavonoïdes (Ghedira, 2005).

Ils représentent plusieurs classes de molécules, dont les plus importantes sont les flavones, les flavonols, les flavanones, les dihydroflavonols, les isoflavones et les anthocyanidines (**Pietta**, **2000**).

Figure 3 : Structures des principales classes de flavonoïdes (Robards and Antolovich, 1997).

III.3 Propriétés biologiques des composés phénoliques

Les composés phénoliques ont plusieurs activités biologiques dépendantes de leurs structures chimiques. Ils constituent une importante famille d'antioxydants dans les plantes, les fruits et les légumes. L'oxydation est très importante pour de nombreux organismes vivants pour les métabolismes biologiques et la production d'énergie, cependant l'oxygène métabolisé par notre organisme se transforme en radicaux libres qui jouent un rôle dramatique dans la pathogenèse de certaines maladies telle que le cancer, les maladies cardiovasculaires, l'athérosclérose et l'inflammation (**Ren and** *al.*, **2010**).

Les différentes propriétés biologiques des composés phénoliques sont représentées dans le **Tableau II.**

Tableau II: Activités biologiques de quelques composés phénoliques (Mohammedi., 2011).

| Composés phénoliques | | Activités biologique |
|----------------------|-------------------|------------------------------------|
| Acide phénolique | Acide caféique | Antibactérienne |
| | Acide salicylique | antifongique, antioxydante. |
| Flavonoïdes | Lutéoléine | antitumorale, anticancerigène, |
| | Catéchine | anti -inflammatoire, antioxydante, |
| | Hespéridine | antiallergique, antiulcéreuse, |
| | Quercétine | antivirale, antimicrobienne, |
| | Naringénine | hypotenseur diurétique. |

III.4 Activités antibactérienne des composés phénoliques

Le traitement des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents, peut entraîner la sélection de souches multirésistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles voies qui constituent une source d'inspiration de nouveaux médicaments à base de plantes (Billing and Sherman, 1998).

La contamination des végétaux par les microorganismes pathogènes entraine une forte augmentation des teneurs en composés phénolique, ce qui correspond à la mise en place de mécanisme de défense de la plante. Les composés phénoliques, sont reconnus par leurs toxicités vis-à-vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrolases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhésines microbiennes, les protéines de transport et de l'enveloppe cellulaire (**Cowan, 1999**).

III.5 Description de quelques souches

Les microorganismes sont des organismes vivants, invisibles à l'œil nu, ils peuvent être sous différentes formes dont on cite les bactéries et les champignons.

Escherichia coli Gram : est l'espèce prédominante de la flore aérobie-anaérobie facultative du tube digestif chez l'homme et chez de nombreuses espèces animales, elle peut être responsable de pathologies extra-intestinales (méningites, infections urinaires) soit des pathologies intestinales (diarrhées, intoxications alimentaire) (Alpha, 2013).

Salmonella typhi Gram⁻ : de la famille des entérobactéries, bacilles, responsable d'une fièvre dite typhoïde (**Pierre and Bernard-Alex, 2018**).

Entérococus faecalis Gram⁺: présente dans le tractus intestinal des mammifères dont l'homme, plus rarement au niveau du vagin ou de la cavité buccale cause souvent des infections urinaires, des péritonites, des abcès intra-abdominaux, des bactériémies nosocomiales ou des endocardites. (**Isnard, 2017**).

Pseudomonas aerogenosa Gram⁻: elle est responsable de 16% des cas de pneumonie nosocomiale, 12% des infections urinaires, 8 % des infections suites aux blessures chirurgicales (Van Delden and Iglewski, 1998).

Staphylococcus aureus Gram⁻ : représente la cause de méningite, ostéomyélite et la diarrhée (**Steven et** *al.*, **2004**).

Klebsiella pneumoniae Gram : est une entérobactérie responsable d'infections nosocomiales (infection urinaire, intra-abdominale, du site opératoire, septicémie et pneumonie) (Najiby, 2013).

SARM : Staphylococcus aureus résistante a la methicilline

Trichoderma afroharzianum : un champignon connu comme agent potentiel en agroalimentaire pour sa production de substances bioactives et comme agent de lutte biologique pour son effet antagoniste contre un large spectre de pathogènes (**Zahir et** *al.*, **2018**).

IV. Radicaux libres et stress oxydatif

IV.1 Radicaux libres

IV.1.1 Définition

Les radicaux libres sont des molécules ou des substances chimiques portant un ou plusieurs électrons non appariés, cet électron est comblé par l'acceptation d'un autre électron ou bien sera transféré sur une autre molécule. Ces molécules radicalaires sont produites d'une manière continue au sein de notre organisme, dans de nombreux phénomènes biologiques comme par exemple la respiration cellulaire, l'oxygène moléculaire se transforme en diverses substances oxygénées, communément appelées radicaux libres de l'oxygène ou espèces réactives oxygénées (*ReactiveOxygenSpecies : ROS*). D'une façon générale, les radicaux libres contribuent au stress oxydatif par une série de réactions en chaîne. Leurs durées de vie est très courte (**Ré et al., 1999**).

IV.1.2 Sources des radicaux libres

Les radicaux libres sont produits en permanence dans l'organisme dans des conditions physiologiques ou pathologiques **Ouchemoukh.,(2012)**. Leur production est une conséquence inévitable du métabolisme aérobie. En effet, l'organisme a besoin d'O₂ pour produire de l'énergie, via une réduction tétravalente séquentielle d'O₂ en eau au cours du processus dit de respiration mitochondriale **Curtay and Robin., (2000)**. Toutefois, une partie de l'O₂ échappe à sa réduction en eau (1-5%), qui peut alors être à l'origine de la production de H₂O₂ au niveau du transporteur d'électron ubiquinone (coenzyme Q) (**Jahn et** *al.*, **2008**).

IV.1.3 Dommages liés aux radicaux libres

Les radicaux libres sont toxiques de par leur nature instable, ils interagissent avec toute une série de substrats biologiques importants et induisant la dénaturation des protéines, l'inactivation des enzymes et l'oxydation du glucose. Ils augmentent la possibilité de mutation en provocant des altérations au niveau de l'ADN. Les processus de peroxydation lipidique peuvent alors apparaître avec des conséquences souvent irréversibles pour la cellule pouvant aller jusqu'à la mort cellulaire. C'est pourquoi les phénomènes de vieillissement cellulaire sont étroitement liés à certains radicaux (**Pincemail et al., 2002**).

IV.2 Stress oxydatif

IV.2.1 Définition

Les radicaux libres sont générés en permanence et en faible quantité, dans des circonstances quotidiennes normales. Une production parfaitement maîtrisée par un système de défense efficace et adaptatif au niveau de radicaux libres présents dans le milieu. L'excès de ces radicaux est appelé stress oxydatif.

Par conséquent le stress oxydatif se définit comme étant le déséquilibre entre la génération des espèces réactives de l'oxygène et la capacité du corps à neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs (Favier, 2003).

IV.2.2 Conséquences du stress oxydant

Les radicaux libres sont responsables des dommages sur toutes les molécules biologiques comme les lipides, les protéines, les acides nucléiques, ou les hydrates de carbone. Le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies comme le cancer, œdème pulmonaire, syndrome de détresse respiratoire aigüe, vieillissement accéléré.

Il est aussi l'un des facteurs potentiels de l'apparition des maladies plurifactorielles tel que la maladie d'Alzheimer, le diabète, les maladies cardiovasculaires et les rhumatismes (Favier, 2003).

MATÉRIEL ET

MÉTHODES

Etude phytochimique

I. Matériel végétal

Notre étude s'est portée sur les feuilles de pécher. Ces feuilles ont été récoltées au niveau de l'ITAFV (institut technique de l'Arboriculture fruitière et de la vigne) sis à Tessala El-Merjia, localité de Birtouta, Alger .Apres récolte, les feuilles ont été lavées puis séchées a l'ombre .Apres séchage , les feuilles ont été broyées jusqu'à obtention d'une poudre fine .les poudres obtenues ont été tamisées à travers un tamis de 200 µm de diamètres puis conservées a 4°C jusqu'à analyse .

II. Extraction des composés phénoliques

Ce travail est basé sur une variété de feuilles de pêcher fourni par Mr MOKRANI Abderrahmane (maitre de conférences au département des sciences alimentaires, université de Bejaia). Afin de mettre en évidence l'activité antioxydante et antimicrobienne de ces feuilles.

Un échantillon de 5g de poudre de feuilles de pêcher à été additionné a 300ml de différents solvants : l'eau distillée, l'acétone, l'éthanol, méthanol, acétone 60%, éthanol 60% et le méthanol à 60%. Le mélange a subit une agitation magnétique pendant 3h à température ambiante , l'extrait a été ensuite centrifuger a 5000rpm pendant 20 min puis filtré. Les extraits ont été ensuite séchés à l'évaporateur rotatif puis lyophilisés. les extraits lyophilises ainsi obtenus ont été conserves a 4°C jusqu'à analyse.

Les extraits secs ont été dissous dans du DMSO a la concentration de 1mg/1ml pour le dosage des antioxydants (polyphénols totaux, flavonoïdes), mesure de l'activité antioxydante (pouvoir réducteur, activité antiradicalaire, chélation de fer et activité antioxydante totale) et l'étude de l'activité antimicrobienne.

III. Les composés phénoliques

III.1 Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des poly phénol sa été effectué selon la méthode de Folin-Ciocaltreu (**Junaid** et *al.*, **2013**). Le réactif Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration produite, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits (**Boizot and Charpentier**, **2006**).

Un volume 100 µl d'extraits sont mélanger avec 500 µl du réactif de Folin (10 fois diluer), après 4 min, 400 µl de Na₂CO₃ (7,5 %) étaient additionnés au milieu réactionnel. Le mélange est agité et incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 min, l'absorbance est mesurée à 765 nm. La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec l'acide gallique et elle est exprimée en mg d'équivalent d'acide gallique par 100 gramme d'extrait sec (mg EAG/100g ES). (Annexe I ; figure 1).

III.2 Dosage des flavonoïdes totaux

L'estimation de la teneur en flavonoïdes totaux contenus dans les extraits de feuilles de pécher est réalisée par la méthode de trichlorure d'aluminium AlCl3 de **Bahorun et al.**, (1996). Un volume de 0.5 ml d'extrait à été additionné à 0,5 ml de chlorure d'aluminium à 2 %, le mélange est incubé pendant 1h à température ambiante. L'absorbance est lue a 420 nm contre un blanc contenant le DMSO a la place de l'extrait. Les concentrations des flavonoïdes sont déduites à partir de la courbe d'étalonnage établie avec la quercétine. Les résultats sont exprimés en (mg EQ / 100g ES) (Annexe I; figure 2).

IV. Activité antioxydante

IV.1 Activité anti radicalaire en utilisant le DPPH

Ce test est réalisé par la méthode de piégeage du 2,2-diphényle-2-picryl-hydrazyle (DPPH). Ce composé chimique fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure activité antioxydante des composés phénoliques (**Brand-Williams et al.**, **1995**). 100 µl d'extrait sont mélangés avec 900 µl de la solution DPPH (0,04 mg/ml dans le méthanol pure), après 20min d'incubation à température ambiante, l'absorbance est mesurer à 517 nm, l'activité antiradicalaire de DPPH a été déduite à partir de la courbe d'étalonnage établie avec l'acide ascorbique. Les résultats sont exprimés en (mg EAA /100 g ES) (**Annexe I ; figure 3**).

IV.2 Evaluation de l'activité antiradicalaire par l'ABTS

Le protocole de **Karaçelik et** *al.* (2015) à été adopté pour détermination de la capacité des extraits de feuilles de pêcher à piéger le radical cationique ABTS.⁺ (acide 2'2, azinobis-(3-éthylebenzothiazoline-6-sulfonique).

La solution stock d'ABTS (ABTS à 7 mM et persulfate de potassium à 2,45 mM) est incubée à l'abri de la lumière pendant 12 à 16 heures. Cette solution stock est ensuite diluée avec l'éthanol pour obtenir une absorbance finale de $0,7\pm0,02$ à 734 nm, puis 40 μ l d'extrait est ajouté à 960 μ l de la solution ABTS le mélange est incubé 7 min a l'obscurité à température ambiante la lecture est réalisé à l'aide d'un spectrophotomètre à 734.

Les résultats sont exprimé en (mg ET/100 g ES) on se référant à la courbe d'étalonnage de Trolox (Annexe I ; figure 4).

IV.3 pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. Cette technique a été développée pour mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe³⁺) présent dans le complexe ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ en fer ferreux (Fe²⁺). En effet le Fe³⁺ participe à la formation du radical hydroxyle par la réaction de Fenton. (**Oyaizu**, **1986**).

Le protocole est effectué selon la méthode rapportée par **Oyaizu** (**1986**), un volume de 0,2 ml d'extrait est mélangé à 0,5ml de tampon phosphate (0,2 M, pH= 6,6) et 0,5 ml de ferricyanure de potassium 1 %, le mélange est incubé à 50 °C pendant 20min dans un bain marie, après refroidissement à température ambiante 0,5 ml de TCA à 10 % sont ajoutés. 0,5ml de ce mélange est additionné à 0,5 ml d'eau distillé et 0,1ml de FeCl₃ (0,1 %) laisser réagir pendant 10 min. l'absorbance est lue à 700 nm.

Le pouvoir réducteur a été déterminé à partir de la courbe d'étalonnage établie avec l'acide ascorbique. Les résultats sont exprimés en (mg EAA /100 g ES) (Annexe I ; figure 5).

IV.4 Chélation de fer

La ferrozine peut former quantitativement des complexes avec Fe²⁺. Cependant, en présence d'agents chélateurs, la formation du complexe est perturbée, ce qui entraîne une diminution de la couleur rouge du complexe. La mesure de la réduction de la couleur permet donc d'estimer l'activité de chélation du chélateur coexistant.

La capacité de chélation de fer a été réalisé par la méthode de **Dinis et al.**, (1994). 200 µl d'extrait de pêche sont dilués dans du méthanol, ensuite 400 µl d'eau distillée et 200 µl de FeSO₄ (0,2 mM) ont été mélangé, puis de 200 µl de ferrozine (2 mM) ont été additionné au mélange.

Après 10 min d'incubation à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 562 nm. Un témoin a été réalisé en remplaçant l'extrait par du méthanol. L'eau distillée a été utilisée comme blanc à la place de la ferrozine.

Une courbe d'étalonnage a été réalisée avec l'EDTA et les résultats exprimés en mg équivalent d'EDTA par gramme d'extrait (mg EEDTA /g) (Annexe I ; figure 6).

IV.5 Activité antioxydante totale (TCA)

Selon **Nagavani et al.**, (2010), la méthode utilisant le phosphomolybdate d'ammonium est un test antioxydant important basé sur la réduction de Mo⁺⁶ en Mo⁺⁵ par un composé antioxydant. Ceci conduit à la formation d'un complexe de phosphate /Mo⁺⁵, de couleur verte, avec une absorption maximale à 695 nm.

L'activité totale antioxydante est mesurée selon la méthode de **Prieto et al., (1999)**. 100 µl d'extrait sont mélangés à 1ml de la solution suivante (0,6 M d'acide sulfurique 28 mM de phosphate de sodium et 4 mM de molybdate d'ammonium), la réaction est incubée à 95 °C pendant 90 min dans un bain marie, l'absorbance est mesurer à 695 nm. La capacité antioxydante totale est exprimée en (mg EAG/100 g MS) selon la courbe d'étalonnage. (**Annexe I ; figure 7**)

IV. Analyse statistique

Tous les résultats obtenus sont la moyenne de 3 essais, le programme Microsoft office Excel est utilisé pour calculer les moyennes et les écartypes et les corrélations. Le logiciel STATISTICA 7.1 est utilisé pour réaliser l'analyse de la variance à un seul critère de classification (ANOVA) suivie du test LSD (la plus petite différence significative) au seuil p <0.001 est appliquée afin de mettre en évidence les différences significatives entre les extraits des feuilles de pêcher pour chaque paramètre étudié.

Les corrélations entre les différents paramètres analysés sont calculées avec la statistique élémentaire en utilisant la matrice de corrélation. Les résultats obtenus sont classés par ordre décroissant a> b> c> d> e> f> g et les valeurs obtenues portant la même lettre ne présentent aucune différence du point de vue statistique.

Etude microbiologique

I. Les souches bactériennes utilisées

Sept souches de références de l'American type culture collection (ATCC), (dont quatre sont à Gram négatif et trois à Gram positif ont été utilisées. Les souches ont été fournies par Mme AMIR Akila et Mme YANAT Betitra (*Escherichia coli ATCC 25922*; *Entérococus faecalis*; *Staphylococcus aureus* résistante a la methicilline, *Pseudomonas aerogenosa ATCC 27853*; *Salmonella typhi ATCC 14028*; *Klebseilla pneumoniae ATCC700603*; *Staphylococcus aureus ATCC 25923*). Une souche fongique *Trichoderma afroharzianum* a été également utilisée (Fournie par la doctorante Azzouz Zahra).

II. Revivification des souches

Les souches ont été repiquées sur une gélose nutritive (annexe III) pour les bactéries afin d'obtenir une culture jeune de 18 à 24 h à 37 °C.

Pour le champignon, il a été repiques sur un milieu PDA (**annexe III**) et incuber 72 h à 28°C.

III. Evaluation de l'activité antimicrobienne

Deux méthodes différentes ont été employées pour l'évaluation de l'effet antimicrobien des différents extraits bruts de feuilles de pêcher.

- La méthode de diffusion à partir d'un disque de papier qui permet la mise en évidence de l'activité antimicrobienne des différents extraits (milieu solide)
- La méthode des microdilutions qui a pour objectif la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) à partir d'une gamme de concentrations de l'extrait dans le milieu de culture (milieu liquide).

III.1 Teste de l'activité antimicrobienne des extrais de feuilles du pêcher sur milieu solide

III.1.1 Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture jeune obtenue après (18 à 24h), on prélève à l'aide d'une anse de platine 4 à 5 colonies isolées et parfaitement identiques, on ensemence l'anse dans 5ml d'eau physiologique stérile et on homogénéise la suspension bactérienne à l'aide d'un vortex.

La suspension est ajustée à une DO entre 0,08 et 0.1 (lue à 625 nm) ce qui correspondra une suspension contenant 10⁸ UFC.

Pour le champignon une solution sporale est préparée à raison de 10⁷ spores/ml.

III.1.2 Ensemencement

Des boites de Petri coulées au préalables avec la gélose MULLER-HINTON (annexe III) sont ensemencées par écouvillonnage : l'écouvillon est tremper dans la suspension bactérienne préparée après l'avoir diluer au 1/10 (environ 10⁷ UFC/ml) ,ensemencer sur la totalité de la surface de la gélose du haut en bas en stries parallèles et serrées ,l'opération est répétée trois fois en tournant la boite de 60°chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon a la périphérique de la gélose.

III.1.3 Préparation des dilutions des extraits des feuilles du pêcher

Les différents extrais des feuilles ont été dissous dans du diméthyle sulfoxyde DMSO pure a une concentration de 125 mg/ml, puis des dilutions 16 %, 32 % l'équivalent de 20 mg/ml ,40 mg/ml respectivement ont été réalisées.

III.1.4 Méthode de diffusion des disques sur milieu solide

Des disques de papier Whattman (N°1,diamètre de 6mm) préalablement stériliser à 120°C pendant 30min au four pasteur (**AnnexeIII**), ils sont ensuite imprégner de 25 µl de chaque extraits (reconstitué selon la concentration voulue) et déposer à distances égale les uns des autres (4 disques par boîte) de telle façon à éviter le chevauchement des zones d'inhibition sur la gélose préalablement ensemencer avec la souche testée , une légère pression sera exercée sur chaque disque afin d'obtenir une bonne adhérence. Un témoin négatif (disque contenant 25µl de DMSO 16 %) préparé dans les même conditions, laissé 2h au réfrigérateur pour une bonne diffusion incubation à 37°C pendant 24h.

III.2 Activité antifongique

Les mêmes opérations ont été effectuées avec le champignon, le milieu de culture utilisé est le milieu PDA (**Annexe III**). Le champignon est activé pendant 7 jours dans des boites de Petri à une température de 28 °C avant le test, après incubation l'inoculum du champignon est préparé et l'ensemencement est réalisé par écouvillonnage sur boites de Petri coulés contenant le milieu de culture PDA.

La lecture de l'antibiogramme est réalisée après 72 h d'incubation à 28 °C.

III.3 Activité antibactérienne sur milieu liquide méthode de microdilutions

III.3.1 Préparation de la microplaque

A l'aide d'une micropipette on distribue 100ul du bouillon MULLER-HINTON (annexes III) dans chaque cupule sauf pour la première ou l'on met 200 μl du bouillon, ou on y ajoute un volume de 25 μl d'extrais de feuilles de pêcher pour une concentration de 20 mg/ml.

III.3.2 Les dilutions

Apres avoir bien mélangé la solution avec le bouillon MH à l'aide de la micropipette, on prélève 100 µl de ce mélange et l'ajoutera la cupule adjacente et ainsi de suite jusqu'à l'avant dernière cupule et jeter les 100 µl restants.

La dernière cupule (cupule12) ne contenant pas d'extraits servira de témoin négatif pour le contrôle de l'inoculum.

III.3.3 Préparation de l'inoculum

Préparation d'une suspension bactérienne à raison de 10⁸ UFC/ml pour chaque souche à tester.

Inoculation de 5 μ l de la suspension dans chaque cupule à commencer par la colonne qui ne contient pas d'extraits (témoin négatif) jusqu'à la cupule contenant la concentration d'extraits la plus élevée (cupule1) (sens inverse de la dilution)

Incubation des microplaques à 37°c pendant 18h.

25µl d'extrait 1/2 1/3 1/4 1/5 1/6 1/7 1/8 1/9 1/10 1/11 T A B C D E F G H

Les dilutions

Figure 4 : schéma explicatif de la méthode de micro-dilutions sur microplaque

III.3.4 Lecture

Vérifier d'abord s'il y'a une croissance dans la cupule témoin (présence du culot). Un test de confirmation a été réalisé sur des boites de Petri contenant le milieu MH on ensemence à partir de la suspension ou il n'y as plus de trouble visible a l'œil nu puis on incube pendant 24 h à 37 °C.

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

I. Rendement d'extraction

Les feuilles de la plante de *Prunus persica* ont été soumises à une extraction liquide – solide en utilisant différents solvants (acétone pure, acétone 60 %, méthanol pure, méthanol 60 %, éthanol pure, éthanol 60 %, eau distillé). Après évaporation de ces solvants, un résidu sec d'extrait brut a été obtenu.

Le calcul du rendement d'extraction pour chaque extrait a donné les résultats présentés dans le **tableau IV**, utilisant la loi suivante :

$$R(\%) = P_1/P_2 \times 100$$

P₁: poids de l'extrait après l'évaporation

P₂: poids de l'échantillon de la plante (5 g)

Tableau IV: Les pourcentages d'extraction des extraits des feuilles de *Prunus persica*.

| L'extrait | P ₁ (g) | Rendement (%) |
|---------------|--------------------|---------------|
| ED | 0 ,73 | 14,6 |
| Acétone 60 % | 1,22 | 24,4 |
| Ethanol 60 % | 1,42 | 28,4 |
| Méthanol 60 % | 1,11 | 22,2 |
| Acétone pure | 0,44 | 8,8 |
| Ethanol pur | 0,27 | 5,4 |
| Méthanol pur | 1,25 | 25 |

D'après les résultats, l'éthanol 60 % a donné le rendement d'extraction le plus élevé (28,4 %) suivi par le méthanol pure (25 %). Selon Sulaiman et al., (2011), la différence de rendement d'extraction avec les sept extraits est due à la différence de la nature chimique des composés phénoliques des extraits et la nature des solvants utilisés. La différence dans les polarités des solvants d'extraction influence la solubilité des constituants chimiques d'un échantillon ainsi que le rendement d'extraction. La présence d'eau dans ces derniers augmenterait la perméabilité des tissus végétaux et favoriserait le phénomène de diffusion de masse dans l'étape d'extraction (Moure et al., 2000; Arimboor and Arumughan, 2011).

II. Dosage des antioxydants

II.1. La teneur en polyphénols totaux

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont des métabolites secondaires des végétaux, largement distribués. Ils possèdent plusieurs groupements phénoliques, avec la présence ou l'absence d'autres fonctions et composants, au moins 9000 structures différentes connues (**Bahorun**, 1997).

La figure ci-dessous illustre les résultats en polyphénols totaux enregistrées sur les différents extraits de feuilles de *Prunus persica*.

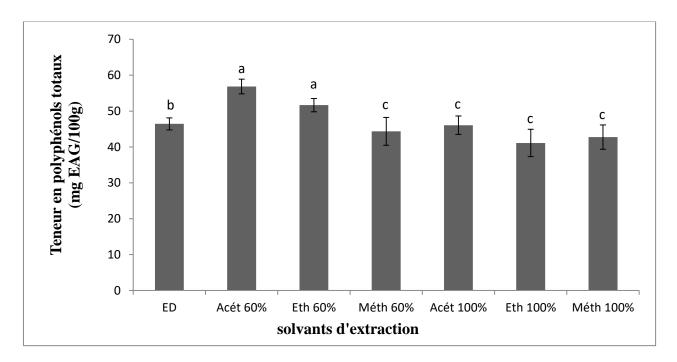


Figure 5 : Teneur en polyphénols totaux des extraits de feuilles de Prunus persica

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type.

Les valeurs portant des lettres différentes (a, b, c, d, e, f, g) présentent des différences significatives (p<0.05).

Les résultats sont classés par ordre décroissant ; a > b > c > d > e > f > g

Les taux des composés phénoliques totaux des différents échantillons d'extraits des feuilles de pêcher analysés oscillent de 41±4 (Ethanol 100 %) à 57±2mg EAG/100g) (Acétone 60 %) (Figure 5).

L'étude statistique révèle que l'extraits acétone 60 % possède la teneur en polyphénols totaux la plus élevé 57 mg EAG/100g, néanmoins cet échantillon a montré un rendement assez faible comparé aux autres extraits. **Maisuthisakul et al. (2008)** ont rapporté que les extraits avec un rendement élevé ne présentent pas forcement des teneurs les plus importantes en polyphénols. Cette teneur se différent significativement des autres extraits à l'exception de l'extrait éthanol 60 %, tous les extraits de feuilles de pêcher se différent significativement, hormis les extraits (acétone 100 %, éthanol 100 %, méthanol 100 % et méthanol 60%).

Les polyphénols, classe de molécules plutôt hydrosolubles, sont majoritairement extraits par des solvants de polarité moyenne ou forte. Les solvants aqueux donnent les meilleurs rendements d'extraction que les solvants absolus (**Zerargui Fatima.2015**).

Dans de nombreuses études, l'acétone diluée dans l'eau est considérer comme étant le meilleur solvant pour l'extraction des composés phénoliques. Le système acétone-eau est l'un des systèmes les plus utilisés pour l'extraction des polyphénols car d'une part il permet d'extraire des teneurs considérables en polyphénols comparé à l'éthanol et au méthanol aqueux (Troszyńska et al., 2002) et d'autre part ce système limite l'extraction d'autres composés comme les polysaccharides et les peptides (Awika et al., 2004; Wang et al., 2009)

Les résultats trouvé par **Hayouni et al.**, (2007), effectués sur l'effet des solvants sur les teneurs en composés phénoliques de deux plantes *Quercus coccifera* L et *Juniperus phonicea* L montrent que l'acétone a donné les meilleurs teneurs en polyphénols totaux pour les deux plantes (143±1,02 EAG/g de Ms, 173±21 EAG/g de Ms).

Dans l'étude des grain de *Prunus avium* L, **Faniadis et al.**, (2010) ont rapporté des teneurs supérieur à la présente étude, Burlat (153,3 mg EAG/100g de poids frais), Tragana (143,4 mg EAG/100g de poids frais).

En comparaison avec les résultats de deux variétés d'abricot Luizet I et Luizet II (658,7 mg EAG/100g de poids sec ; 923,89 mg EAG/100g de poids sec) (**Imatouken andKehoul., 2011**), les teneurs en polyphénols sont largement supérieurs à celle obtenue dans la présente étude.

Cette teneur en polyphénols est différente par rapport aux valeurs d'autres auteurs, qui peuvent être dues à plusieurs raisons, y compris des facteurs génétiques, les différentes conditions environnementales (lumière du soleil, sols, précipitation, endroit et la saison), stade de maturité, différentes variétés, la partie utilisée de la plante, en outre, il peut être également dû à la méthode d'extraction et la procédure analytique utilisés.

II.2. Teneur en flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent une classe de polyphénols très abondante dans le règne végétale. Ils possèdent des propriétés similaires que celle des polyphénols. Les flavonoïdes possèdent également une forte activité antioxydante et sont donc très bénéfiques pour la santé humaine (**Bahorun**, 1997).

La figure ci-dessous illustre les teneurs en flavonoïdes enregistrées sur les différents extraits de feuilles de *Prunus persica*.

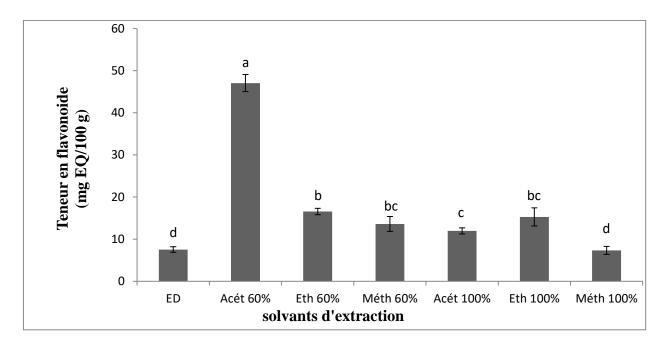


Figure 6: Teneur en flavonoïdes des extraits de feuilles de *Prunus persica*

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type.

Les valeurs portant des lettres différentes (a, b, c, d, e, f, g) présentent des différences significatives (p<0.05).

Les résultats sont classés par ordre décroissant ; a > b > c > d > e > f > g

Le principe de dosage des flavonoïdes repose sur la propriété de ces composés à chélater les ions aluminium. En présence du chlorure d'aluminium, le complexe flavonoïdes-Al peut se former entre les ions Al et les atomes d'oxygène portés par les carbones 4 et 5 des flavonoïdes. La couleur jaune ainsi obtenue est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes dans l'extrait (Berset, 2006; Djeridane et al., 2006; Lagnika, 2005; Ribérau-Gayon, 1968).

Les teneurs en flavonoïdes des échantillons d'extrait de feuilles de pêcher analysés varient de 7±1 (Méthanol 100 %) à 47±2 (Acétone 60 %) mg EQ/100g.

La présente étude indique que l'extrait acétone 60 % est le plus riche en flavonoïdes dont la teneur est de 47 mg EQ/100g. Cette teneur se différent significativement de celle des autres extraits. Les extraits éthanol 60 %, méthanol 60 %, acétone 100 %, éthanol 100 % ne présente pas de différence significative entre eux, de même que pour les extraits à l'eau distillé et au méthanol 100 %.

En ce qui concerne le solvant d'extraction, quel que soit le mode d'extraction, l'éthanol et l'acétone restent les meilleurs extracteurs des flavonoïdes (Mahmoudi Souhila et al 2013).

Les différentes teneures en flavonoïdes peuvent être dues à leurs formes structurales qui leurs permettent d'interagir avec les solvants d'extraction et/ou à la méthode d'extraction.

III. L'activité antioxydante

Pour déterminer la capacité antioxydante des sept extraits des feuilles de *Prunus persica*, cinq méthodes colorimétriques ont été utilisées :

III.1. Activité de piégeage du radical DPPH (Activité antiradicalaire)

Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) est un radical stable lors du déplacement de son électron célibataire autours de la molécule.

L'activité antioxydante est basée sur la réduction de la coloration violette intense du DPPH qui réagit avec un antioxydant, qui a la capacité de réduire le DPPH en cédant un atome d'hydrogène ou un électron. La diminution de l'intensité de la couleur violette est due à la présence des antioxydants (Gulcin et al. 2003).

La figure ci-dessous illustre les résultats de l'activité anti-radicalaire, trouvé par les différents extraits de *Prunus persica* analysés.

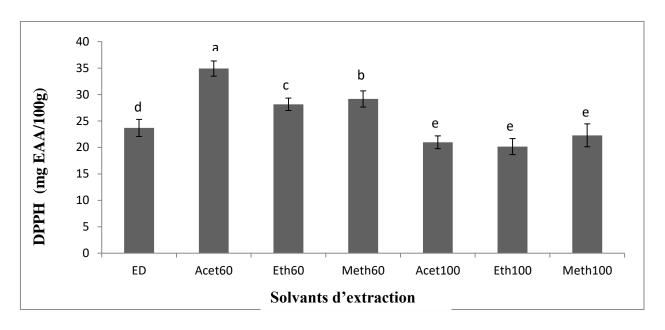


Figure 7: Valeurs de DPPH des extraits des feuilles de Prunus persica

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type.

Les valeurs portant des lettres différentes (a, b, c, d, e, f, g) présentent des différences significatives (p<0.05).

Les résultats sont classés par ordre décroissant ; a > b > c > d > e > f > g

L'activité antiradicalaire des différents extraits de feuilles de pêcher analysés varient de 20±2 (éthanol 100 %) à 35±1 (acétone 60 %) mg ET/100g.

Ces valeurs sont relativement similaires à celles obtenues par **Ren** et al., (2010), qui ont rapporté une valeur de 28.56 ± 2.11 mg EAA/100g DW pour la pulpe et 22.44 ± 1.92 mg EAA/100g DW pour la graine de *Ziziphus jujuba*.

Plusieurs études ont montré que la pêche présente une activité antiradicalaire élevée : 437-13 505 µg ET/ poids frais (**Vizzotto** *et al.*, **2007**).

L'étude statistique révèle que l'extrait acétone 60 % présente l'activité antiradicalaire la plus élevé avec une valeur de 35 mg ET/100g. Ceci peut être expliqué par sa richesse en polyphénols et flavonoïdes ; on constate que les teneurs en polyphénols et flavonoïdes se corrèlent avec l'activité antiradicalaire DPPH ; ceci est en accord avec les résultats obtenus avec **Bakchiche et al (2013)** qui montre qu'il y a une corrélation entre la teneur en flavonoïdes et l'activité antiradicalaire de l'extrait hydroalcolique des feuilles du *Zizyphus lotus*. Les extraits présentent des différences significatives à l'exception des extraits acétone 100 %, éthanal 100 % et méthanol 100 % qui ne présente aucune différence significative.

La différence d'activité antioxydante de différents extraits de *Prunus persica* dépendent de la quantité totale de phénols, de flavonoïdes.la capacité antioxydante ne peut être attribuée seulement aux polyphénols mais à d'autres composés mineurs présents (tanins, saponines, phénanthrènes...) dont leur teneur et leur activité antioxydante au niveau des végétaux est non négligeable (**Mota, 1985**), par ce que la synergie entre les différents produits chimiques l'un avec l'autre devrait être prise en considération dans l'activité biologique (**Bourgou et al., 2008**). D'un autre côté, la fraction phénolique n'incorpore pas tous les antioxydants et les interactions synergiques entre les antioxydants dans un mélange fait que l'activité antioxydante dépend non seulement de la concentration, mais également de la structure et la nature des antioxydants (**Falleh et al., 2008**). Cette conclusion indique que les extraits de *Prunus persica* sont une bonne source potentielle de composés phénoliques, et peuvent être utilisés comme antioxydants naturels contre les dommages oxydatifs des radicaux libres dans le corps humain.

III.2 Activité de piégeage du radical ABTS (Activité antiradicalaire)

La méthode utilisant le radical ABTS se base sur la capacité d'un radical cationique ABTS.⁺ (2,2'-azobis-ethylbenzothiazoline-6-sulphonique) de coloration bleu-vert qui se transforme en ABTS incolore, par piégeage d'un proton par l'antioxydant. La décroissance de l'absorbance causée par l'antioxydant reflète la capacité de capture du radical libre (**Re** *et al.*, 1999).La figure ci-dessous illustre les résultats de l'activité antiradicalaire, trouvé par les différents extraits de *Prunus persica* analysés

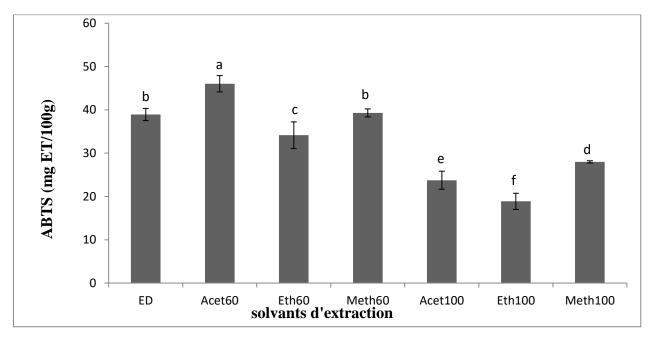


Figure 8: Valeurs de l'ABTS des extraits de feuilles de *Prunus persica*.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type.

Les valeurs portant des lettres différentes (a, b, c, d, e, f, g) présentent des différences significatives (p<0.05).

Les résultats sont classés par ordre décroissant ; a > b > c > d > e > f > g

L'activité antiradicalaire des différents extraits de feuilles de pêcher analysés varient de 19±2 (éthanol 100 %) à 46±2 (acétone 60 %) mg ET/100g.

L'analyse de la variance montre que l'extrait acétone 60 % présente l'activité antiradicalaire la plus élevé avec une valeur de 46 mg ET/100g, et que les autres extraits ne présentent aucune différence significative à l'exception de l'eau distillé et le méthanol 60 %. Cela est dû à leur composition qualitative en composé phénoliques et/ou flavonoïdes.

Liu et al. (2007) ont démontré que l'utilisation de différents types de solvants est déterminant dans l'efficacité antioxydante et ceci par la variation du contenu et la concentration des composés phénolique extrait par ces solvants. Par ailleurs, il est bien établi que l'activité antioxydante se corrèle positivement avec la structure des polyphénols, généralement, les polyphénols avec un nombre élevé du groupements hydroxyles présentent l'activité antioxydante la plus élevée (Heim et al., 2002) et cela due à leur pouvoir de donner plus d'atomes pour stabiliser les radicaux libres (Torres de pinedo et al., 2007), ce qui peut expliquer en partie que l'activité antiradicalaire est dépendante du nombre, de la position et de la nature des substituant sur les cycles B et C (groupements hydroxyles, metaxylés, glycosylés) et le degré de polymérisation (Popovici et al., 2010). Ainsi, l'effet antioxydant n'est pas seulement concentration-dépendant mais également structure-dépendant (Rodriguez-Bernaldo et al., 2010).

Selon **Ordonez et al.**, (2006) l'activité antioxydante d'un extrait ne peut pas être forcément associé à son contenu phénolique total, des interactions synergique ou d'antagonisme peuvent avoir lieu entre les composants phénoliques entre eux et/ou autres composants d'extrait.

III.3. Pouvoir réducteur

La méthode de réduction de ferricyanure de potassium permet d'estimer le potentiel antioxydant des extraits de feuilles de pêcher par la présence des agents réducteurs dans les extraits ce qui induit la réduction du fer ferrique (Fe⁺³) au fer ferreux (Fe⁺²). Cette réduction est mesurée par l'intensité de la couleur bleu vert qui résulte. Les valeurs élevées de l'absorbance indiquent que le pouvoir réducteur est important (**Ouchemoukh**, **2012**).

La figure illustre les résultats du pouvoir réducteur enregistrés des extraits de feuilles de *Prunus persica*

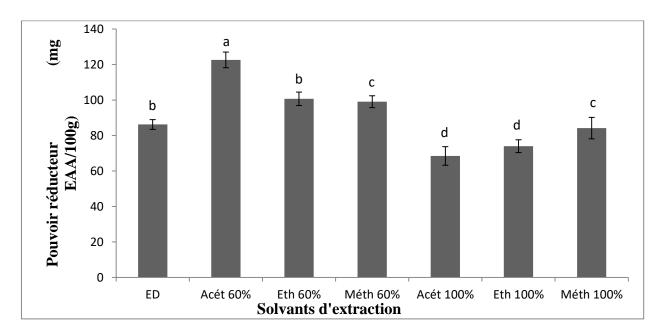


Figure 9: Pouvoir réducteur des extraits de feuilles de Prunus persica.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type.

Les valeurs portant des lettres différentes (a, b, c, d, e, f, g) présentent des différences significatives (p<0.05). Les résultats sont classés par ordre décroissant ; a > b > c > d > e > f > g

Les valeurs d'activité antioxydante des extraits de feuilles de pêcher étudiés oscillent de 68±5 (acétone 100 %) à 123±4 (acétone 60 %) mg EAA/100g.

L'analyse statistique montre l'absence de différences hautement significative entre les extraits : eau distillé (86±3 mg EAA/100g), éthanol 60 % (101±4 mg EAA/100g), méthanol 60 % (99±3 mg EAA/100g), méthanol 100 % (84±6 mg EAA/100g) ainsi que pour les extraits acétone 100% (68±5 mg EAA/100g), éthanol 100 % (74±4 mg EAA/100g) cependant l'extrait

acétone 60 % se diffère significativement de tous les autres extraits. Cela peut être dû à la nature et à la concentration en antioxydants qui peuvent moduler l'intensité du pouvoir réducteur.

Ces résultats pourront être expliqués par le fait que l'extrait acétone 60% présente un pouvoir réducteur important, renfermant ainsi des molécules ayant un potentiel réducteur donneur d'électron plus fort tandis que les extraits qui a montré un pouvoir réducteur moins important pourraient renfermer des molécules à potentiel réducteur donneur d'électron moins fort.

III.4. Pouvoir chélateur de fer

La capacité chélatrice est déterminée en suivant l'inhibition de la formation du complexe Fe²⁺ ferrozine après leur incubation avec le fer divalent. Les molécules de ferrozine forment des complexes avec le Fe⁺⁺ donnant une coloration violet foncé. Toutefois, en présence d'autres agents chélateurs, la formation de ces complexes est atténuée donc l'intensité de la couleur diminue (**Ebrahimzadeh** *et al.*, **2007**).

La figure ci-dessous illustre les résultats du test du pouvoir chélateur du fer enregistrés sur des extraits des feuilles de *Prunus persica*.

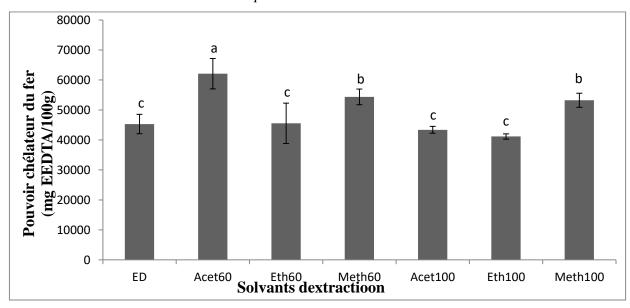


Figure 10: Pouvoir chélateur du fer des extraits des feuilles de *Prunus persica*.

Chaque valeur représente la moyenne ± écart type.

Les valeurs portant des lettres différentes (a, b, c, d, e, f, g) présentent des différences significatives (p<0.05).

Les résultats sont classés par ordre décroissant ; a > b > c > d > e > f > g

Le pouvoir chélateur des extrait de feuilles de pêcher étudiés oscillent de 68±5 (acétone 100 %) à 123±4 (acétone 60 %) mg EAA/100 g.

La présente étude révèle que l'extrait acétone 60% présente la plus grande capacité de chélater le fer avec une valeur de 62095 mg EEDTA/100 g. Plusieurs chercheurs ont attribué l'activité antioxydante des composes phénoliques principalement au transfert d'électron de la chélation du métal et au potentiel redox du composé antioxydant, par le faite de céder l'atome d'hydrogène par le radical libre, Selon Morris (1995) et Brown (1998), les composés phénoliques s'avèrent comme de bons chélateurs des ions métalliques. La valeur trouvée se différent significativement de celle des autres extraits. Les extraits : eau distillé, éthanol 60 %, éthanol 100 % et l'acétone 100 % ne présentent pas de différence significative, de même que pour les extraits méthanol 60 % et méthanol 100 %. Ceci peut être expliqué par sleur teneur similaire en agents chélateur du fer.

III.5. Capacité antioxydante totale (TCA)

La capacité antioxydant totale (TCA) des extraits des feuilles est évaluée par la méthode phosphomolybdéne. Cette technique est basée sur la réduction de molybdéne Mo présent sous la forme d'ions molybdate MoO4²⁻ à molybdéne MoO² en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/Mo à pH acide (**Prieto et al. :1999**).

La figure ci-dessous montre les résultats du test de l'activité antioxydante totale enregistrés sur des extraits des feuilles de *Prunus persica*.

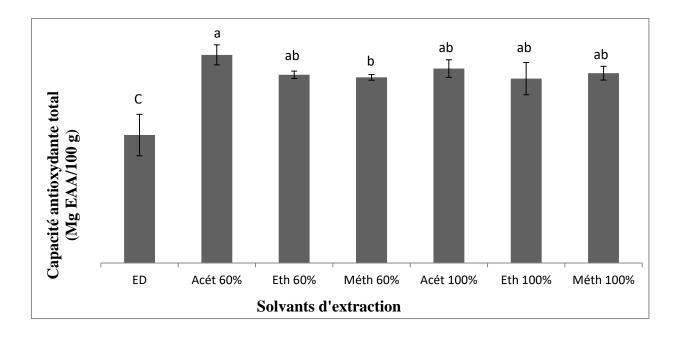


Figure 11: Capacité antioxydante totale (TCA) des extraits des feuilles de *Prunus persica*.

Chaque valeur représente la moyenne \pm écart type.

Les valeurs portant des lettres différentes (a, b, c, d, e, f, g) présentent des différences significatives (p<0.05).

Les résultats sont classés par ordre décroissant ; a > b > c > d > e > f > g

La capacité antioxydante totale (TCA) des extrait de feuilles de pêcher étudiés oscillent de 53±9 (Eau distillé) à 85±5 (acétone 60 %) mg EAA/100 g.

Les résultats de l'étude statistique montrent des différences hautement significatives selon les extraits des feuilles de pêcher analysées. Parmi les sept extraits, l'extrait acétone 60 % représente l'activité la plus élevé avec une capacité antioxydante de 85 mg EAA/100 g qui diffère significativement des autres extraits, par contre les extraits éthanol 60 %, méthanol 60 %, acétone pure, éthanol pure et méthanol pure ne présentent aucune différence significative.

Ce pouvoir antioxydant observer dans l'extrait acétone 60% peut être dû essentiellement à sa richesse en polyphénols particulièrement les flavonoïdes, et aussi en fonction des structures chimiques des molécules bioactives.

IV. Corrélations entre les antioxydants et l'activité antioxydante

Afin d'évaluer la relation entre les différentes classes des composés phénoliques totaux et leurs contributions à l'efficacité antioxydante des extraits des feuilles de pêcher, une analyse de régression linéaire a été réalisée pour toutes les classes déterminées.

Dans la présente étude, les polyphénols totaux et les flavonoïdes, semblent contribuer d'une façon hautement significative à l'activité antioxydante (activité antiradicalaire, le pouvoir réducteur et le test de chélation de fer) des extraits des feuilles de pêcher

Les taux en antioxydants et les activités antioxydantes des extraits de feuilles de pêcher analysés enregistrent des corrélations positives entre l'activité antioxydante (pouvoir réducteur et activité antiradicalaire) et les polyphénols totaux, flavonoïdes, sauf entre les polyphénols totaux et la chélation de fer. Les concentrations en phénols totaux présentent une corrélation linéaire hautement significative avec l'activité antiradicalaire (DPPH, ABTS) et le pouvoir réducteur dont les coefficients de corrélations sont: r = 0,68, r = 0,60 et r = 0,73 respectivement (annexe II).

De même, cette analyse statistique montre des expressions hautement significative entre les flavonoïdes et le test de l'activité antiradicalaire (DPPH, ABTS) (r=0.81; r=0.59), ainsi avec le pouvoir réducteur (r=0.77) et chélation de fer (r=0.62) (annexe II).

Les résultats de **Abidi et al.**, (2011) sont les même que notre étude, ils ont rapporté des corrélations positives significatives entre la capacité antioxydante et les composés phénoliques sur les flavonoïdes des fruits de pécher.

Activité antimicrobienne

1. Méthode de diffusion en milieu solide (Méthode des disques)

L'objectif de ce travail est d'évaluer la capacité des extraits des feuilles de pêcher à produire des composés bioactifs pouvant présenter un effet thérapeutique antimicrobien. A travers l'étude *in vitro*, le pouvoir antimicrobien des extraits a été effectué par la méthode des disques sur un milieu gélosé solide (Mueller-Hinton) en mesurant les zones d'inhibitions.



Staphylococcus aureus



Escherichia coli

Figure 12 : Effet d'extraits phénoliques sur la croissance bactérienne des deux souches.

Les résultats obtenu dans cette étude (**tableau 5**), montrent que les extraits de *Prunus persica* présentent une activité antibactérienne sur différentes espèces de bactéries à Gram positive et à Gram négative à une concentration de 20 mg/ml. Trois souches bactériennes dont *Pseudomonas aerogenosa, Kleiibseilla pneumonea* (Grams négatifs) *et Staphylococcus aureus* (Gram positif) ont montré une sensibilité élevée, pour différentes extraits de feuille de pécher à des zones d'inhibition claire au tour des disques qui varient entre (8 –15 mm).

Cela pourrait être attribué à la présence des polyphénols totaux et/ou flavonoïdes qui ont une activité antimicrobienne.

Tableau V: Résultats de l'activité antibactérienne d'extrait phénolique des différents extraits de pêche par la méthode de diffusion des disques sur gélose (zone d'inhibition est mesuré en mm).

| Extraits | ED | Acét | Eth | Méth | Acét | Eth | Meth |
|---------------------------|----|------|------|------|------|------|------|
| SB | | 60 % | 60 % | 60 % | pure | pure | pure |
| Klebsiella pneumoniae | 6 | 10 | 6 | 6 | 12 | 6 | 6 |
| Escherichia coli | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |
| Salmonella typhi, | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |
| SARM | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |
| Staphylococcus aureus | 6 | 15 | 8 | 6 | 15 | 13 | 13 |
| Entérococus faecalis | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |
| Pseudomonas aerogenosa, | 6 | 7 | 6 | 9 | 12 | 6 | 8 |
| Trichoderma afroharzianum | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |

6 : le diamètre des disques

Le travail de **Baranwal** *et al.*, (2013) effectué sur l'évaluation antimicrobienne des extrait des grains de deux plantes *Prunus persica* et *Annona squamosa* ont également noté des effets antimicrobiens plus élevé que la présente étude avec des zones d'inhibition légèrement plus élevé (13-25 mm).

Par contre les extraits s'avèrent inactifs contre les autres bactéries (*Escherichia coli*, *SARM*, *Salmonella typhi*, *Entérococus faecalis*) (tableau 3), celle-ci présente une résistance élevée contre l'action antibactérienne des extraits. Selon **Hayouni et al.**, (2007), la résistance de la souche testée peut être attribuée à la capacité de l'agent antibactérien de diffuser uniformément dans l'agar.

Ceci peut être également attribué à la différence au niveau des enveloppes externes des bactéries Gram négatif et Gram positif, les bactéries Gram négatif possèdent une couche additionnelle (la membrane externe), qui se compose des phospholipides, des protéines et de lipopolysaccharides, cette membrane est imperméable à la plupart des molécules (**Hayouni et al., 2007**; **Turkmen et al., 2007**).

La résistance de ces souches aux extraits peut être aussi dû aux plusieurs facteurs tels que les facteurs inhérents (variétés, conditions ambiantes, facteurs écologiques, variations saisonnières de la plante) (**Turkmen** *et al.*, **2007**), préparation de l'extrait, solvant utilisé, la sensibilité des bactéries (**Loziene et al., 2007**), et finalement l'organe de la plante utilisé (**Natarajan et al., 2005**).

Aucune zone d'inhibition n'a été observée au tour des disques imprégnés de différents extraits pour l'espèce *Trichoderma afroharzianum*. Contrairement aux résultats de **Aziz and ur-Rahman**, (2012) qui ont démontré dans leurs études sur l'activité biologique de *Prunus persica*, des activités antifongiques modérés vis-à-vis d'*Aspergillus Niger et Candida albicans* et faible activité contre *Fusarium solani*. Ce qui indique que l'activité antifongique dépend aussi de plusieurs facteurs tels que le type du solvant utilisé pour l'extraction. A la lumière de ces résultats, les extraits des feuilles de pécher ne contiennent pas d'agents antifongiques à l'égard de *Trichoderma afroharzianum*.

Les résultats obtenus montrent que la plus part des souches ne sont pas inhibé par nos extraits, ce qui confirme un spectre étroit de l'activité antibactérienne de nos extrais.

Pour ce qui concerne l'effet du DMSO diluée à 16 % sur les souches testés (témoin négatif) n'a présenté aucune activité antibactérienne.

2. Méthode en milieu liquide

Les extraits qui ont montré des résultats positifs sur la méthode de diffusion des disques ont été utilisé pour la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI). La CMI est la plus faible concentration d'un agent antimicrobienne qui inhibe la croissance de microorganisme de 18 h à 24 h (Baranwal et al., 2013).

Les résultats de l'inhibition de la croissance bactérienne des extraits de pêcher sont résumés dans le **Tableau VI**

| | | CMI (mg/ml) | | | | | |
|-------------------------------|--------------|-------------|-----------|--------------|-------------|--------------|--|
| Extraits souches bactériennes | Acét 60 % | Eth 60 % | Meth 60 % | Acét pure | Eth pure | Meth pure | |
| Staphylococcus aureus | 10 | 2 | - | 2 | 2,22 | 2,22 | |
| Klebseilla pneumoniae | 20 | - | - | 20 | - | - | |
| Pseudomonas aerogenosa | - | - | - | - | - | - | |

^{-:} Absence

Tableau VI: Les Résultats de l'activité antibactérienne des différents extraits des feuilles de pêcher sur les souches testées.

D'après les résultats cités ci-dessus, la plupart des extraits montrent une activité antibactérienne vis-à-vis *Staphylococcus aureus* avec des valeurs en CMI acétone 60 % (10 mg/ml), éthanol pure (2,22 mg/ml), méthanol pure (2,2 mg/ml), acétone pure (2 mg/ml), éthanol 60 % (2 mg/ml). Cela prouve que la souche *Staphylococcus aureus* est très sensible aux extraits

éthanol 60 %, acétone pure, éthanol pure, méthanol pure respectivement. En revanche elle est moins sensible à l'acétone 60 %., ce qui peut être expliqué par la nature et la composition chimique des différents composés phénoliques.

Ces résultats semblent similaires à ceux de **Abtahi et al.**, (2008) sur l'activité antibactérienne des extraits à l'eau distillé et du méthanol des noyaux d'abricot amer (*Prunus armeniuca*) vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*.

Concernant la souche *Klebseilla pneumoniae*, la concentration nécessaire pour inhibé la population bactérienne est plus élevée par rapport à celle observé pour *Staphylococcus aureus* avec une valeur de 20 mg/ml des deux extraits, acétone 60 % et l'acétone pure. Les résultats sont similaires aux effets observés sur la méthode des disques. On déduit alors que la souche *Klebseilla pneumoniae* est moins sensible.

D'après **Ganiere et al., (2004)**, si on considère qu'une CMI élevée est souvent prédictive d'un échec thérapeutique, une CMI basse ne permet pas toujours de prévoir un succès clinique cela veut dire que même si les souches testées s'avèrent sensibles aux extraits une confirmation clinique est nécessaire.

CONCLUSION

ET

PERSPECTIVES

Les plantes médicinales peuvent nous apporter des solutions intéressantes aux contraintes liées à la santé surtout dans des pays en voie de développement notamment l'Algérie, la promotion de la phytothérapie nous permettra de sauvegarder le savoir de nos ancêtres qui tend à disparaître.

Dans la présente étude, nous avons évalué l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de pêcher *Prunus persica*, de la famille des rosacé, une plante fréquente en Algérie et largement utilisé dans la médecine traditionnelle dans le traitement de diverses pathologies telles que les troubles gastriques.

Le premier objectif de notre travail étant l'extraction et l'estimation du rendement des composes phénoliques par différents solvants permettant ainsi de constaté des rendements qui différent en fonction de la nature des solvants utilises, cependant le meilleur rendement est observé pour l'éthanol 60% d'une valeur de 28.4 % de matière sèche (poudre).

L'analyse quantitative de ces extraits est représentée par le dosage spectral de deux substances bioactives : les polyphénols et les flavonoïdes, les résultats révèlent une teneur élevée pour l'extrait acétone 60% allant jusqu'à 57 mg EAG/100 g de polyphénols et 47 mg EQ/100g de flavonoïdes.

L'activité antioxydante a été évalué par cinq méthodes tels que le DPPH, L'ABTS, le pouvoir réducteur, l'activité antioxydante totale et la chélation de fer, les résultats montrent que les extraits de feuilles de pêcher ont une forte activité antioxydante dans le piégeage des radicaux libres (DPPH et ABTS), une capacité réductrice et antioxydante totale importante, l'extrait acétone 60% manifestait la meilleur activité antioxydante. La mise en évidence de l'activité chélatrice du fer a révélé un fort potentiel chélateur de fer.

La meilleure activité de l'extrait acétone 60% peut s'expliquer par sa forte teneur en composés polyphénoliques et notamment sa richesse en flavonoïdes, connus pour leur propriétés antioxydantes.

De bonnes corrélations positives ont été trouvées entre les teneurs en polyphénols totaux, les flavonoïdes et les différents tests antioxydants, mise appart l'activité antioxydante totale.

Le travail a été complété par la détermination de l'activité antimicrobienne sur sept souches bactériennes et une souche fongique. Les résultats indiquent que quelques extraits possèdent un effet antibactérien sur certaines souches. *Staphylococcus aureus* s'avère la plus sensible à la pluparts des extraits testés avec des valeurs de CMI (2mg/ml pour l'acétone pure et l'éthanol 60%, 2.2mg/ml pour les extraits éthanol pure et méthanol pure et 10mg/ml pour l'acétone 60%), *Pseudomonas aerogenosa* et *Klebseilla pneumoniae sont* les moins sensibles. Les autres souches bactériennes et la souche fongique semblent être résistantes à tous les extraits.

Bien qu'il existe une forte corrélation entre le contenu phénolique totale et l'activité antioxydante, il n'y a pas eu de relation linéaire évidente entre la teneur en PT et l'activité antibactérienne ce qui peut être expliqué par la complexité des mécanismes d'actions des composes phénoliques contre diverses bactéries.

Au terme de ce travail, nous pouvons déduire que les feuilles de *Prunus persica* possèdent une activité antioxydante remarquable qui constituent un réservoir intéressant de nouvelles sources potentielles de molécules bioactives et qui pourraient être utilisées comme ingrédients dans les industries alimentaires et/ou pour des applications thérapeutiques et pharmaceutiques.

L'ensemble des résultats obtenus au fil de cette étude n'est qu'une étape préliminaire, il est souhaitable d'accomplir et d'enrichir ce travail par :

- ✓ L'étude la toxicité de ces extraits et envisager la mise au point des médicaments traditionnels améliorés à court terme.
- ✓ L'étude d'autres activités biologiques à savoir les propriétés antiinflammatoires, antivirales, anticancerigène et autres.
- ✓ Développer des médicaments antiradicalaires à base de plantes, doués d'une activité antioxydante.
- ✓ Il serait important d'approfondir les recherches sur une large gamme de souches microbiennes et d'identifier les constituants actifs responsables de l'activité antibactérienne.

Références bibliographiques

A

Abidi W., Jiménez S., Moreno MA et Gogorcena., Y(2011). Evaluation of antioxidant compounds and total sugar content in a nectarine [*Prunus persica* (L) Batsch] progeny. *International journal. Molecular Science*, 12: 6919–6935.

Abtahi H., ghazavi A., Karimi M., Mollaghasmi S et Mosayebi G (2008). antimicrobial activites of water and méthanol extracts of bitter apricot seeds. *Journal of medical scienc*, 8(4): 433-436.

Alpha A D (2013). Escherichia coli pathogènes et résistantes aux antibiotiques dans les effluents d'origine humaine et animale : Prévalence et caractérisation avant et après traitement épuratoire .*Doctorat de l'université de Toulouse*. Thèse de doctorat.

Amniot M J., Auber S., Gonnet M et Tachini M (1989). Les composés phénolyques des miels : études préliminaire sur l'identification et la quantification par famille. *Apidologie*, 20(2) : 115-125.

Andrea Z., Valle D., Mignani I., Spinardi A., Galvano F et Ciappellano S(2006). The antioxidant profile of three different peaches cultivars (*Prunus persica*) and theirshort-term effect on antioxidant status in human. *European Food Research Technology*, 225: 167-172.

Aubert C et Milhet C (2007). Distribution of the volatile compounds in the different parts of awhite-fleshed peach[*Prunus persica* (L) Batsch]. *Journal of Food Chemistry*, 102 : 375-384.

Anadriamobololona T (2010). Etudes biologiques et chimiques des métabolites secondaires des actinomycetes telluriques cas du foret d'Ankafobe. Mémoire d'études approfondies de biochimie, 55 P.

Arimboor R et Arumughan C (2011). Sea buckthorn (Hippophae rhamnoides) proanthocyanidins inhibit in vitro enzymatic hydrolysis of protein. *Journal of Food Science*, 76(6): 130-7.

Awika J M, Rooney L W et Waniska R D (2004). Anthocyanins from black sorghum and their antioxidant properties. *Food Chemistry*, 90: 293-301.

Azar U M, Abdul K, Shahab A. Nami M S K, Sumbul R, Shahnawaz AB, Abdulrahman M et Nahid N (2018). Biogenic synthesis of iron oxide nanoparticles using Agrewia optiva and *Prunus persica* phyto species: Characterization, antibacterial and antioxidant activity. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B:* Biology: 185 p 262-274

B

Bahorun T(1997). Substances Naturelles actives:La flore Mauricienne, une source d'approvisionnement potentiel.Food And agricultural Research Council. Thése de doctorat de l'université de l'Ile Maurice, 94 P

Bakchiche B, Gherib A, Smail A, Cutodia G et Graca M (2013). Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils. *Industrial Crops and Products*, 46: 85–96.

Baranwal A, Arora S, Kuma G R, Prasad B K V R, Praharsha J, Javed A, Hidayatullah Md, Sanobar N (2013). Evaluation of the combinational antimicrobial effect of *Prunus persia* and *Annona squamosa* seeds methanolic extract on standard microbial strains. *Global journal of bio-science and biotechnology*, 2(4): 571-575

Basli A, Chibane M, Madani K et Oukil N (2012). Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la fl ore d'Algérie. *Origanum glandulosum Desf.*Phytothérapie, 10: 2–9.

Bassi D et Monet R (2008). Botany and taxonomy in the peach: Botany, Production and uses. Edition CABI International. ISBN: 978-1-84593-386-9.

Belhadj F., Somrani I., Aissaoui N., Messaoud C., Boussaid M et MarzoukiM N(2016). Bioactive compounds contents, antioxidant and antimicrobial activities during ripening of Prunus persica L. varieties from the North West of Tunisia. *Journal of Food Chemistry*, (204):29-36.

Bourgou S, Ksouri R, Bellila A, Skandrani I, FAlleh H et Merzouk B (2008). Phenolic composition and biological activities of tunisian Nigella sativa L. shoots and roots. *Académie des sciences*, 331: 48-55.

Bousta D et Ennabili A (2001). L'Institut national des plantes médicinales et aromatiques au service du développement de la phytothérapie au Maroc. *Pharmacognosie*, 9:297-303

Bouzabata A (2016). Les médicaments à base de plantes en Algérie: réglementation et enregistrement. Phytothérapie, 1-8.

Billing J et Sherman P W (1998). Antimicrobial Functions of Spices: Why Some Like it Hot. The Quaterly Review of Biology, 73: 3-49.

Brand WW, Cuvelier H E et Berset C (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Journal of Food Science and Technology*, 82 : 25-30.

Boizot N et Charpentier J P (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. Le cahier des techniques de l'Inra: 79-82.

Berset C (2006). Antioxydants phénoliques-Structures, propriétés, sources végétales. In «Les polyphénols en agroalimentaire ». Ed: Lavoisier, ISBN 2-7430-0805-9: 1-27.

Brown J. E., Khodr H., Hider R. C., Rice-Evans C. (1998). Structural dependence of flavonoid interactions with Cu2+ ions. *Biochem. J.* 330 : 1173-1178.

 \mathbf{C}

Cowan M M (1999). Plants products as antimicrobial agent. Clinical. *Microbiology Review*, 12: 75-82.

Curtay J P et Robin J M (2000). Intérêt des complexes antioxydants. Nutrithérapie Info, 4p.

Christophe Isnard (2017). Enterococcus spp.: entre pathogènes opportunistes et probiotiques. Microbiologieet Parasitologie. *Normandie Université*. Thèse de doctorat .

D

Dinis T, Madeira V et Almeida M (1994). Action of phenolic derivates (acetoaminophen, salycilate and 5-aminosalycilate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxyl radical scavengers. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 315: 161-169.

Djeridane A, Yousfi M, Nadjemi B, Boutassouna D, Stocker P et Vidal N (2006). Antioxidant activity of same Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97: 654-660.

Dworkin M et Falkow S (2006). Proteobacteria : Gamma subclass. Ed : Springer.New York NY: 1248p.

E

El-Rhaffari L et Zaid A (2002). Pratique de la phytothérapie dans le sud-est du Maroc (Tafilalet). Un savoir empirique pour une pharmacopée rénovée. *Des sources du savoir aux médicaments du futur* : 293-318.

Ebrahimzadeh M A, Pourmorad F et Bekhradnia AR (2008). Iron chelating activity, phenol and flavonoid content of some medicinal plants from Iran. *African Journal of Biotechnology*, 7 (18): 3188-3192.

K

Favier A (2003). Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhensiondes mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*:108-115.

Faniadis D, Drogoudi P D et Vasilakakis M (2010). Effects of cultivar, orchard elevation, and storage on fruit quality characters of sweet cherry (Prunus avium L.). *Scientia Horticulturae*, 125: 301-304.

Falleh H, Ksouri R, Chaieb K, Karray-Bouraoui N, Trabelsi N, Boulaaba M et Abdelly C (2008). Phenolic composition of Cynara cardunculus L. organs, and their biological activities .C. R. Biologies, 331: 372-379.

G

Ghedira K (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie* **4** : 162-169.

Ganiere J p et Mangion C et Péridy M (2004). Détermination des concentrations minimales inhibitrice et bactéricide de la cefquinome, la marbofloxacine, la tylosine et la spiramycine en solution dans du lait vis-à-vis de bactéries isolées de mammites bovines. Unité de pathologie infectieuse, Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes, 155 (8-9) : 411-416.

Gorinstein S, Martin-Belloso O, Lojek A, Milan C, Soliva-Fortuny R, Park YS, Caspi A, Libman I, Trakhtenberg S (2002). Comparative content of some phytochemicals in Spanish apples, peaches and pears. *Journal of Science Food and Agriculture*, 82: 1166-1170.

Gülçin İ., Oktay M., Kirreçci E. et Küfrevioğlu I. (2003). Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chemistry*, 83: 371-382.

H

Hayouni E A, Abedrabba M et Hamedi M (2007). The effects of solvants and extraction method on the phenolic contents and biological activities in of tuniisian Quercus coccifera L and Juniperus phoenicea L fruit extracts. *Food chemistry*, 105 : 1126-1134.

Hubert A J (2006). Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja. Etude des voies de sa valorisation en nutrition et santé

humaine, Thèse de doctorat de l'institut national polytechnique de Toulouse. école doctorale des Sciences Ecologiques. Vétérinaires. Agronomiques et Bioingénieries, spécialité : *qualité* et sécurité des aliments. 174 P.

Heim E K, Tagliaferro A R et Bobilya D J (2002). Flavonoïds antioxydants : chemistry; metabolism and structure-activity relationships. *The journal of Nutritional Biochemistry*, 13: 572 – 584.

i

Iserin P., Masson M., Restellini JP., Moulard F., Zha E., De La Roque R., De La Roque O., Vican P., Ybert E., Delesalle-Féat T., Biaujeaud M., Ringuet J., Bloch J et Annie Botrel.(2001), Encyclopédie des plantes médicinales: Identification, Préparation, soins, 2^{éme} Ed: Larousse/VUEF: 6-20.

Imatoukene N et Kehoul A (2011). Etude des extraits de deux variétés local d'abricots (fruits, feuilles et ecorce). Mémoire d'ingénieur, 24-44.

J

Jahn U., Galano J M et Durand T (2008). Beyond prostaglandins - chemistry and biology of cyclic oxygenated metabolites formed by free-radical pathways from polyunsaturated fatty acids. *Angewandte Chemie International Edition*, 47: 5894-5955.

Jung H A., Kim A R., Chung H Y et Choi J S (2002). In vitro anti-oxidant activity of some selected *Prunus* species in Korea. *Archives of Pharmacal Research* 25(6):865-72.

Jules J et James N . (1996) . Tree and tropicals fruits volume I . Fruit Breeding .wiley publishers since. New York, 632 P.

Juciano G., Nauana S, Calixto Bortolin R., Moresco K S, Saibro G C, Klafke K, Kelly Rabelo T, Da Silva M M, Vizzotto M, Carmo Bassols M R, Fonseca Moreira J C et

Gelain D P (2014).Effects of different products of peach (Prunus persica L. Batsch) from a variety developed in southern Brazil on oxidative stress and inflammatory parameters in vitro and ex vivo. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 55(2): 110–119.

Jean-Michel Morel.(2008). Traité pratique de phytothérapie . Ed : Grancher.

Junaid S, Rakesh K N, Dileep N, Poornima G, Kekuda T R P et Mukunda S (2013). Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Seed Extract of Lagerstroemia speciosa L. *Chemical ScienceTransactions*, 2:75-80.

K

Kahlon T S et Smith G E (2006). In vitro binding of bile acids by bananas, peaches, pineapple, grapes, pears, apricots and nectarines. *Journal ofFood Chemistry*, **101**: 1046-1051.

Kritikar K R et Basu B D(1940). Indian Médicinal plants. Bishen Singh Mahondra Pal Singh dehvradun, 1: p 954.

Kannas C, Durand B, Demay F et Vinnciguerra M (1994). Le petit Larousse illustré 1995. Ed:Larousse Paris:758-768.

Kayaoglu G et Ørstavik D (2004). Virulence factors of Enterococcus faecalis: Relationship to endodontic disease. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, 15: 308–20.

Karaçelik A A, Kuçuk M, Iskefixeli Z, Aydemir S, Smet S D, Miserez B et Standra P (2015). Antioxidant component of Viburnum opulus L. determined by on-line HPLC-UV-ABTS radical scavenging and LC-UV-ESI method. *Food Chimistry*, 175: 106-114.

Laguerre M, López-Giraldo L J, Lecomte J, Pina M et Villeneuve P (2007). Outils d'évaluation in vitro de la capacité antioxydante. *Nutrition-Santé*.

Laffont R (1975). Mon herbier de santé, Ed: Robert laffont, S.A., Paris: 234-235.

Lahbari M (2015). Etude et stimulation du séchage de l'abricot : application à quelques variétés de la région des Aurès. Thèse de doctorat de science mécanique. Université de Hadj Lakhdar Batna, faculté de technologie:129p.

Lagnika l (2005). Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises. Thèse de doctorat, 98-99.

Lamendin H et Toscano G(2004). Phytothérapie et aromathérapie buccodentaires, *EMC-Dentisterie* (1): 179-192.

Lee T W, Brownlee K G, Conway S P, Denton M et Littlewood J M (2008). Evaluation of a new definition for chronic *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis patients. *Journal of Cystic Fibrosis*, 2: 29-34.

Leterme., **Lespinasse et Jean-Marie (2008).** Les fruits retrouvés, patrimoine de demain : Histoire et diversité des espèces anciennes du Sud-Ouest. Edition : du Rouergue: 10-13 p.

Liu X, Dong M, Chen X, Jiang M, Lv X et Yan G. (2007). Antioxidant activity and phenolics of an endophytic Xylaria sp. from Gingko biloba. *Food Chemistry*, 105: 548–554.

M

Macheix J J, Fleuriet A, Jay-Allemand C (2005). Nature et diversité des Composés phénoliques des végétaux. In : Les composés phénoliques des végétaux. Ed : *Technique et documentation*. Lavoisier: 10-15 P.

Mahmoudi S, Khali M et Mahmoudi N (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (Cynara scolymus L.) Nature & Technologie Pages 35 à 40

Maisuthisakul P, Pasuk S et Ritthiruangdej P (2008). Relationship between antioxidant properties and chemical composition of some Thai plants. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21: 229-240.

Mohammad A E, Fereshteh P et Ahmad R B (2008). Iron chelating activity, phenol and flavonoid content of some medicinal plants from Iran . *African Journal of Biotechnology*, 7 (18): 3188-3192.

Mohammedi Z (2011). Etude du pouvoir Antimicrobien et Antioxydant des Huile Essentielles et flavanoides de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire de Magister Université de Tlemcen: 18-24-25-49-50.

Mota R, Thomas G, Barbosa Filho J M (1985). Anti-inflammatory actions of tannins isoled from the bark of Anarcardium occidentale L. *Journal of ethnopharmacology*, 13: 289-300.

Moure A, Franco D, Sineiro J, Dominguez H, Nunez M J et Lema J M (2000). Evaluation of extracts from Gevuina avellana hulls as antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 1-7.

Morris Stephen.(1995) : The Common prior assumption in economic theory, *Economic and Philosophy*, 11: 227-253.

N

Nacoulma-Ouédraogo O (1996).Plantes médicinales et pratiques médicales traditionnelles au Burkina Faso: cas du Plateau central, Thèse de Doctorat èsSciences Naturelles, Université de Ouagadougou, (Burkina-Faso): 605 P.

Najiby K C (2013). Klebsielle Pneumoniae pathogène nosocomial, résistance et virulence. Microbiologie et Parasitologie. *Université Pierre et Marie Curie*. thèse de doctorat

Nagavani V, Madhavi Y D, Bhaskarrao P, Koteswara R et Raghava-Rao T (2010). Free radical scavenging activity and qualitative analysis of polyphenols bay RP-HPLC in the flowers of Couroupitaquia nensisabul. EJEAF. *Chem*, 9: 1471-1484.

()

Ouchemoukh S (2012). Caractérisation physicochimique, profils polliniques, glucidiques et phénoliques et activités antioxydantes de miels Algeriens. Thèse Doctorat, Biochimie. Université Abderrahmane Mira de Bejaia: 162.

Ordonnez A A L, Gomez J D, Vattuone M A et Ilsa M I (2006). Antioxydant activities of sechiumedule (jack) swartz extracts. food chemistry, 97: 452-458.

Oyaizu M (1986). Studies on products of browning reaction prepared from glucose amine, *Japanese Journal of Nutrition*, 44 : 307-315.

P

Pietta P G (2000). Flavonoids as Antioxidants. Journal of Natural Products, 63: 1035-1042.

Pinkas M., Peng W., Torck M et Trotin F (1996). Plantesss médicinales chinoises. Ed : Maloine : 124-125 P.

Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K et Defraigne J O (2002). Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. Nutrivion Clinique et Métabolisme, 16: 233-239.

Prieto P., Pineda M et 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): 337-341.

Percival SL (2004). Microbiology of waterborne diseases. Ed: Elsevier Academic Press, Amsterdam; Boston, 480 P.

Pierre A, Bernard-Alex G (2018). Les Salmonelloses Actualités 2018 Institut de Médecine Tropicale page 1-7

Popovici C, Saykova I et Tylkowskib. (2010). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel*, (4): 1–8.

R

Ribéreau–Gayon P (1968). Notion générale sur les composés phénoliques. In « Les composés phénoliques des végétaux », Ed.: Dunod, 1-27.

Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M et Rice-Evans C (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *FreeRadical Biology & Medicine*, 26: 1231–1237.

Ren F., Ye Y., Ye S., Jiang L et Zhang H (2010). Systematic evaluation of antioxidant capacities of the ethanolic extract of different tissues of jujube (*Ziziphus jujuba Mill.*) from China. *Food and Chemical Toxicology*,48: 1461–1465.

Rheder A. (1940). Manual of cultivated trees and shrubs hardy in north America. Macmillan company New York: 425-481.

Robards K et Antolovich M (1997). Analytical Chemistry of Fruit Bioflavonoids. *Analyst*, 122: 11-34.

Roumanatou S M, Idrissa M, Philippe S, Boniface Y, Pascal.D C, Agbangnan, Amadou T I, Alassane A, Dominique C K, Sohounhloué2 et . Khalid. I (2014). Etude phytochimique, activités antiradicalaire, antibactérienne et antifongique d'extraits de

Sebastiania chamaelea (L.) Müll.Arg. *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, 37:10-17

Rodriguez-Bernaldo, A. Q. F. S., Frecha, P. A., Vidal., & Lopez, H. J. (2010). Antioxydant compounds in edible brown seweeds. *European Food Research & Technology*, 231 (3), 495 – 498

S

Scordino M., Sabatino L., Muratore A., Belligno A., Gagliano G. (2012). Phenolic characterization of Sicilian yellow flesh peach (*Prunus persica L.*) cultivars at different ripening stages. *Journal. Food Qual.* **35**: 255–262.

Sulaiman S.F., Sjak A.B., Ooi K.L and Supriatno Seow E.M. (2011). Effect of solvents in extracting polyphenols and antioxidants of selected raw vegetables. *Journal of food composition and analysis*, 24: 506-515.

Stalikas C D (2007). Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of Separation Science*, 30: 3268–3295.

Steven P, Rachel C, Martha E, Paul H, Jane S et Peter W J (2004). Microbiology of Waterborne Diseases. *Ed : Elsevier Academic Press*: 71-132.

T

Turkmen N, Sari F et velioglu Y S (2006). Effects of extraction solvants on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin-Ciocalteu methods. *Food chemistry*, 99: 835-841.

Troszyńska A, Estrella I M, López-Amóres L et Hernández T (2002). Antioxidant Activity of Pea (Pisum sativum L.) Seed Coat Acetone Extract. *Lebensm.-Wiss. u.Technol*, 35: 158-164

Torres De Pinedo A, Pen alver P et Morales J C (2007). Synthesis and evaluation of new phenolic-based antioxidants: structure-activity relationship. *Food Chemestry*, 103: 55–61.

\mathbf{V}

Valnet J(1992). Phythothérapie (traitement des maladies par des plantes). *Edition Maloine* (*Paris, France*): 132-133.

Van Delden C et Iglewski B H (1998). Cell-to-cell signaling and Pseudomonas aeruginosa infections. *emerging infectious deseases*, 4: 551-560.

Vizzotio M, Cisneros-Zevallos I, Byrne D H (2007). Large Variation Found in the Phytochemical and Antioxidant Activity of Peach and Plum Germplasm. Journal of American heart association, 132(3): 334-340.

W

Bouzid W, Yahia M, Abdeddaim M, Aberkane M C et Ayachi A (2010). Evaluation de l'activite antioxydante et antimicrobienne des extraits de l'aubepine monogyne .*Lebanese Science Journal*, 12(1), 2011.

Wang T, Jónsdóttir R et Ólafsdóttir G (2009). Total phenolic compounds, radical scavenging and metal chelation of extracts from Icelandic seaweeds. *Food Chemistry*, 116: 240–248.

\mathbf{Z}

Zahir I, Babouchi M, Boulanour H et el louyti M (2018). Effet des microorganismes isolés á partir des biotopes marocains sur les phytopathogènes. *Revue agrobiologia*, 8(2): 971-983.

Zerargui F (2015). Activité antioxydante des extraits de racines Tamus communis L. et caractérisation des substances bioactives. *Université Ferhat Abbas Sétif 1 Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie* .thèse de doctorat.

Références

Zeghad N(2009). Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (Thymus vulgaris, Rosmarinus officinalis) et évaluation de leur activité antibactérienne. Thése de magister option Biotechnologie végétal à l'université Mentouri Constantine: 267-273.

Annexes

Annexe I : Courbes d'étalonnages

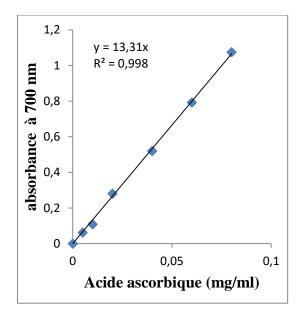


Figure 5 : Courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur au ferricyanure de potassium.

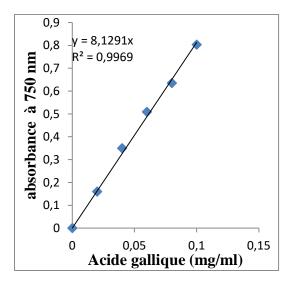


Figure 1 : Courbe d'étalonnage polyphénols totaux.

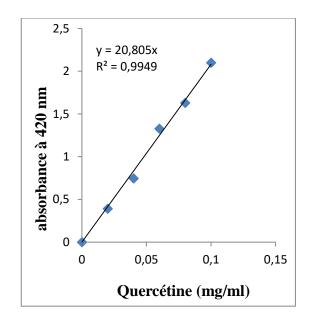


Figure 2 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes.

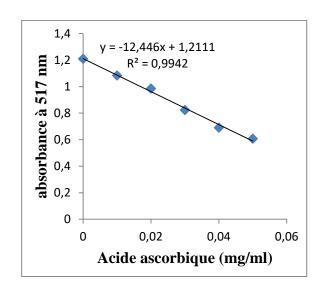
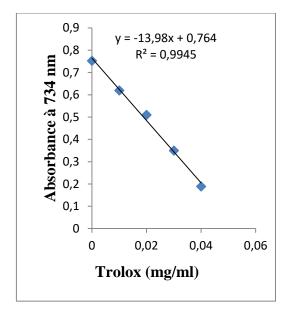
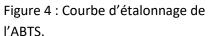


Figure 3 : Courbe d'étalonnage du DPPH.





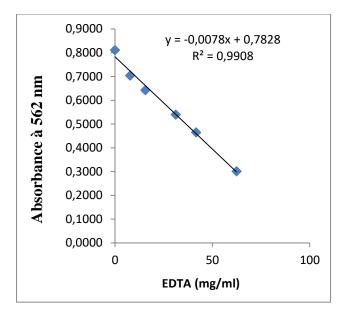


Figure 6: Courbe d'étalonnage du pouvoir chélateur de fer.

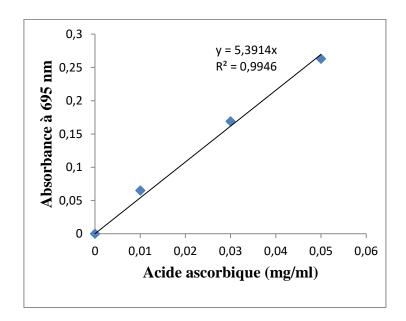


Figure 7 : Courbe d'étalonnage de l'activité antioxydant totale (TCA).

Annexe II : Matrice de corrélation

I- Corrélations significatives marquées à p < 0.05; p < 0.01; p < 0.001.

| | Corrélations (Feuille) Corrélations significatives marquées à p < ,05000 N=21 (Observations à VM ignorées) | | | | | | |
|------------|--|------|------|-------|------|-------|------------|
| Variable | PT | Flav | DPPH | ABTS | PR | FERRO | phospfomol |
| PT | 1,00 | 0,72 | 0,68 | 0,60 | 0,73 | 0,34 | 0,09 |
| Flav | 0,72 | 1,00 | 0,81 | 0,59 | 0,77 | 0,62 | 0,41 |
| DPPH | 0,68 | 0,81 | 1,00 | 0,85 | 0,94 | 0,71 | 0,17 |
| ABTS | 0,60 | 0,59 | 0,85 | 1,00 | 0,85 | 0,72 | -0,18 |
| PR | 0,73 | 0,77 | 0,94 | 0,85 | 1,00 | 0,74 | 0,18 |
| FERRO | 0,34 | 0,62 | 0,71 | 0,72 | 0,74 | 1,00 | 0,31 |
| phospfomol | 0,09 | 0,41 | 0,17 | -0,18 | 0,18 | 0,31 | 1,00 |

Figure 1: Corrélations significatives marquées à p < 0.05.

| | Corré | Corrélations (Feuille) | | | | | | |
|------------|-------|---|-----------|--------|--------|-------|------------|--|
| | Corré | Corrélations significatives marquées à p < ,01000 | | | | | | |
| | N=21 | (Obse | ervations | s à VM | ignoré | ées) | | |
| Variable | PT | Flav | DPPH | ABTS | PR | FERRO | phospfomol | |
| PT | 1,00 | 0,72 | 0,68 | 0,60 | 0,73 | 0,34 | 0,09 | |
| Flav | 0,72 | 1,00 | 0,81 | 0,59 | 0,77 | 0,62 | 0,41 | |
| DPPH | 0,68 | 0,81 | 1,00 | 0,85 | 0,94 | 0,71 | 0,17 | |
| ABTS | 0,60 | 0,59 | 0,85 | 1,00 | 0,85 | 0,72 | -0,18 | |
| PR | 0,73 | 0,77 | 0,94 | 0,85 | 1,00 | 0,74 | 0,18 | |
| FERRO | 0,34 | 0,62 | 0,71 | 0,72 | 0,74 | 1,00 | 0,31 | |
| phospfomol | 0.09 | 0.41 | 0.17 | -0.18 | 0.18 | 0.31 | 1.00 | |

Figure 2 : Corrélations significatives marquées à p < 0,01

| | Corrélations (Feuille) Corrélations significatives marquées à p < ,00100 N=21 (Observations à VM ignorées) | | | | | | |
|------------|--|------|------|-------|------|-------|------------|
| Variable | РΤ | Flav | DPPH | ABTS | PR | FERRO | phospfomol |
| PT | 1,00 | 0,72 | 0,68 | 0,60 | 0,73 | 0,34 | 0,09 |
| Flav | 0,72 | 1,00 | 0,81 | 0,59 | 0,77 | 0,62 | 0,41 |
| DPPH | 0,68 | 0,81 | 1,00 | 0,85 | 0,94 | 0,71 | 0,17 |
| ABTS | 0,60 | 0,59 | 0,85 | 1,00 | 0,85 | 0,72 | -0,18 |
| PR | 0,73 | 0,77 | 0,94 | 0,85 | 1,00 | 0,74 | 0,18 |
| FERRO | 0,34 | 0,62 | 0,71 | 0,72 | 0,74 | 1,00 | 0,31 |
| phospfomol | 0,09 | 0,41 | 0,17 | -0,18 | 0,18 | 0,31 | 1,00 |

Figure 3: Corrélations significatives marquées à p < 0,001

Annexe III: préparation des milieux de culture

| Milieux de culture | préparation |
|--------------------------|----------------|
| Muller-Hinton | 38 g par litre |
| Gélose nutritive | 28 g par litre |
| Bouillon nutritif | 20 g par litre |
| Milieu PDA | 39 g par litre |

Stérilisation du matériel

L'eau distillée, l'eau physiologique, le milieu de culture, les tubes à essai utilisés dans la préparation des solutions bactériennes et les disques en papier Wattman (6 mm de diamètre) enrobés dans du papier aluminium ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

Résume

Prunus persica est un arbre qui appartient a la famille des Rosaceae, ces feuilles sont largement utilisés dans la médecine traditionnelle en Algérie, dans la présente étude on a évalué l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de feuilles de pêcher par différents solvants (acétone pur, acétone 60%, méthanol pure, méthanol 60 %, éthanol pure, éthanol 60 % et eau distillé). L'analyse quantitative basé sur le dosage des composes phénoliques et de flavonoïdes. L'extrait acétone 60% a révélé une teneur élevé en polyphénols ainsi qu'en flavonoïdes. L'activité antioxydante a été testée par cinq méthodes, l'activité antiradicalaire (ABTS, DPPH), le pouvoir réducteur, la chélation de fer et l'activité antioxydante totale,. Les résultats de ces tests nous ont permis d'affirmer que l'ensemble des extraits présentent de très bonnes propriétés antioxydantes, l'extrait acétone 60% manifestait la meilleure activité antioxydante. L'activité antimicrobienne a été déterminée sur sept souches bactériennes et une souche fongique, selon la méthode de diffusion de disque. La concentration minimale inhibitrice (CMI) manifestée par les deux extraits éthanol 60% et acétone pure sur Staphylococcus aureus est d'une valeur de 2mg/ml, les deux souches Klebseilla pneumoniae et Pseudomonas aerogenosa sont moins sensibles, les autres souches semblent être résistantes a tous les extraits testes. Les résultats de l'activité antifongique ont montré l'inefficacité de tous les extraits contre Trichoderma afroharzianum. Les résultats nous permettent de conclure que les feuilles du pécher sont un réservoir intéressants de molécules antioxydantes.

Mots clés: Prunus Persica, activité antioxydante, activité antimicrobienne, polyphénols, flavonoïdes

Abstract

Prunus persica is a tree that belongs to the Rosaceae family, these leaves have widely used in traditional medicine in Algeria, in this study we tried to evaluate the antioxidant and antimicrobial activity of peach leaf extracts by different solvents (pure acetone, 60% acetone, pure methanol, 60% methanol, pure ethanol, 60% ethanol and distilled water. Quantitative analysis based on the determination of phenolic compounds and flavonoids; the acetone 60% extract revealed a high content of polyphenols as well as flavonoids. Antioxidant activity was tested by five methods, antiradical activity (ABTS, DPPH), reducing power, iron chelation and total antioxidant activity. The results of these tests allowed us to affirm that the extracts have very good antioxidant properties, 60% acetone extract exhibited the best antioxidant activity. The antimicrobial activity was determined on seven bacterial strains and a fungal strain, according to the disk diffusion method. The minimum inhibitory concentration (MIC) expressed by the two extracts of ethanol 60% and pure acetone on Staphylococcus aureus is 2 mg/ml value, the two strains: Klebseilla pneumoniae and Pseudomonas aerogenosa are less sensitive, the other strains appear to be resistant to all tested extracts. The results of the antifungal activity showed the ineffectiveness of all extracts against Trichoderma afroharzianum. The results allow us to conclude that the leaves of the sinner are an interesting reservoir of antioxidant molecules.

Key words: Prunus persica, antioxydante activity, antimicrobial activity, polyphenols, flavonoids

ملخص

Prunus persica هي شجرة تنتمي إلى عائلة Rosaceae ، وقد استخدمت هذه الأوراق على نطاق واسع في, الطب التقليدي في الجزائر ، وفي هذه الدراسة حاولنا تقبيم النشاط المضاد للأكسدة ومضادات الميكروبات لمستخلصات أوراق الخوخ بواسطة منيبات مختلفة (الأسيتون النقي ، 60 ٪ الأسيتون ، الميثانول النقي ، 60 ٪ من الإيثانول والماء المقطر. التحليل الكمي على أساس تحديد المركبات الفينولية والفلافونويد، وكشف استخراج الأسيتون 60 ٪ على نسبة عالية من البوليفينول وكذلك الفلافونويد.

تم اختبار نشاط مضادات الأكسدة من خلال خمس طرق، النشاط المضاد للأدوية (DPPH ، ABTS)، مما يقلل من الطاقة، وخلية الحديد بالصلب والنشاط الكلي لمضادات الأكسدة، وقد أتاحت لنا نتائج هذه الاختبارات التأكيد على أن مقتطفات معا لها خصائص مضادة للأكسدة جيدة جدا، 60 ٪ استخراج الأسيتون عرضت أفضل نشاط مضادات الأكسدة. تم تحديد نشاط مضادات الميكروبات على سبع سلالات بكتيرية وسلالة فطرية، وفقًا لطريقة انتشار القرص. يكون الحد الأدنى للتركيز المثبط (MIC) الذي يعبر عنه مستخلصا الإيثانول 60 ٪ والأسيتون النقي على المكورات العنقودية الذهبية ذو قيمة (2 ملغ / مل)، والسلالتان Klebseilla pneumoniae ولا المستخلصات في المكورات العنقودية الذهبية أن المستخلصات الأخرى أقل حساسية مقاومة لجميع مقتطفات اختبارها. أظهرت نتائج النشاط المضاد للفطريات عدم فعالية جميع المستخلصات ضد الترايكوديرما أفروهارزيانوم. تتيح لنا النتائج أن نستنتج أن أوراق الخوخ هي خزان مثير للاهتمام لجزيئات مضادات الأكسدة.

الكلمات الرئيسية: Prunus persica؛ نشاط مضادات الأكسدة، نشاط مضادات الميكر وبات، البوليفينول، الفلافونويد.