

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la vie

Département Agro-alimentaire

Laboratoire science, Technologie Alimentaire et Développement Durable

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention

Du diplôme de Master en

Spécialité : Nutrition Diététique Humaine

Filière : Sciences alimentaire

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Etude du potentiel et de la composition nutraceutique des feuilles et des fleurs de la mauve (*Malva sylvstris*)

Présenté par :

MILOUDI Maroua et RABAH Rafika

Devant les jurys :

Mme AIT CHAOUCH F. S. MCB USDB1 Présidente

Mme DEFFAIRI D. MCB USDB1 Examinatrice

Mme KADRI F. MCA USDB1 Promotrice

Mme BENMANSOUR N. MCB USDB1 Co-promotrice

Année universitaire 2020 /2021

REMERCIEMENTS

Avant tout, on tient à exprimer nos remerciements les plus sincères tout d'abord au Bon Dieu de nous avoir donné la patience et la santé pour réaliser ce travail.

Ont tiens à remercier très sincèrement **Dr. kadri F.**, Maître de Conférence A à la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Saad DAHLAB-Blida 1, notre promotrice d'avoir accepté de nous encadrer, nous la remercions également pour sa disponibilité et pour son degré d'implication dans ce travail.

Nos remerciements sont adressés aux membres du Jury d'avoir accepté de sacrifier un moment de leur temps précieux pour juger ce modeste travail :

Nous adressons nos sincères remerciements à **Mme AIT CHAOUACH F.**, Maitre de Conférence à la faculté SNV, de nous avoir honoré par la présidence du ce jury et à **Mme** d'avoir accepté d'examiner ce mémoire.

Nos remerciements spécifiques s'adressent à **Mme MEKLAT A.**, et **Mme Chafika** de nous avoir accepté au sein du laboratoire de valorisation des systèmes microbiens et qui nous a permis de réaliser les manipulations de l'activité antimicrobienne.

Un grand merci aux ingénieurs du département des sciences biologiques Chafika, Houria et Hayet et toutes personnes ayant participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Un grand merci à tous

DÉDICACES

C'EST AVEC UN TRÈS GRAND HONNEUR QUE ,JE DEDIE CE TRAVAIL A **MES
PARENTS**

QUI ONT SACRIFIÉS POUR QUE JE GRANDISSR AVEC UN SAVOIR FAIRE
ET QUE ONT FAIT DE MOI CE QUE JE SUIS AUJOURD’HUI QUE
DIEUX LES PROTEGER ET LES ACCORDE UNE LONGUE
VIE PLENE DE SANTE ET DE BONHEUR.

JE DÉDIE AUSSI CETTE RÉALISATION À :

MON MARIÉ

**MA SŒUR UNIQUE (HADILE) ET MES FERARES (MOHAMMED
, MAAMAR)**

ET TOUT MA FAMILLE ET MES AMIS

AINSI QUE MA CHÈRE AMIE **MAROUA.**

RABAH RAFIKA

DÉDICACES

C'est avec un très grand honneur que, je dédie ce travail a **mes parents**

Qui ont sacrifiés pour que je grandisse avec un savoir faire

Et que ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui que

Dieux les protéger et les accorde une longue

Vie pleine de sante et de bonheur.

A mère **Fouzia**, les mots ne suffisent pas pour exprimer toute

l' affection que j'éprouve pour toi,

tu as été toujours

une mère idéal.

Je dédie aussi cette réalisation à :

Grande parents

Mes sœurs (**Imane et Maria**) et mes frères (**M'hamed**

Et Amine).

Et tout ma famille : **Miloudi et Meddah** ; merci.

Et mes amis : **Amina, Asma, Ikram, Azhar, Bahia, Maissa** merci pour présence, votre écoute durant toutes ces années.

Ainsi que ma chère amie **Rafika**

Miloudi Maroua

Résumé

Cette étude vise à estimer l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits méthanolique de *Malva sylvestris* L. en fonction de leur caractéristiques phytochimiques.

L'extraction par le méthanol à 80% a donné le meilleur rendement avec les feuilles (12,9%).

La teneur en polyphénols totaux mesuré par la méthode utilisant le réactif folin-ciocateu a été plus élevée dans les feuilles que dans les fleurs. Par contre le teneur en flavonoïdes mesuré par la méthode utilisant $AlCl_3$ a été plus élevée dans les fleurs. Cependant, les taux de la chlorophylle et des caroténoïdes ont été plus importants dans les feuilles.

L'évaluation de l'activité antioxydante par la méthode de piégeage du e radical libre, DDPH* a montré que l'extrait des fleurs possède une activité antiradicalaire plus importante ($EC_{50} = 0,26\text{mg/ml}$) que celui des feuilles ($EC_{50} = 0,42\text{mg/ml}$). aucune activité antimicrobienne n'as été détectées probablement à cause de la concentrations utilisée.

Ces résultats montrent que *M. sylvestris* constitue un légume vert sauvage de valeur nutraceutique intéressante et qui est fortement recommandé à la consommation.

Mots clés : *Malva sylvestris*L., composés phénoliques, chlorophylle, caroténoïdes, activités antioxydantes, activité antimicrobienne.

Abstract

This study aims to estimate the antioxidant and antimicrobial activity of the extracts methanolic of *Malva sylvestris L.* according to their phytochemical characteristics.

Extraction with 80% methanol gave the best yield with the leaves (12.9%).

The content of total polyphenol measured by the method using the reagent folinciocateu was higher in the leaves than in the flowers. On the other hand, the flavonoid content measured by the method using $AlCl_3$ was higher in the flowers. However, the levels of chlorophyll and carotenoids were higher in the leaves.

The evaluation of the antioxidant activity by the free radical scavenging method, DDPH, showed that the extract of the flowers has a greater anti-free radical activity ($EC_{50} = 0.26 \text{ mg / ml}$) than that of the leaves ($EC_{50} = 0.42 \text{ mg / ml}$) no antimicrobial activity was detected probably due to the concentration used.

These results show that *M. sylvestris* constitutes a wild green vegetable of interesting nutraceutical value and which is strongly recommended for consumption.

Keywords : *Malvasylvestris L.*, phenolic compounds, chlorophyll, care Antioxidantactivities, antimicrobial activity.

الملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تقدير الفعالية المضادة للأكسدة والمضادة للميكروبات للمستخلصات الميثانولية من بناءً على خصائصها الكيميائية L Malvasylvestris.

أعطى استخلاص 80 % ميثانولاً أفضل محصولاً للأوراق (12.9%) .

كان محتوى البوليفينول الكلي الذي تم قياسه بالطريقة باستخدام كاشف فولين-سيوكاتو أعلى في الأوراق منه في الأزهار. من ناحية أخرى ، كان محتوى الفلافونويد المقاس بالطريقة باستخدام AICL3 أعلى في الأزهار ومع ذلك ، كانت مستويات الكلوروفيل والكاروتينات أعلى في الأوراق. أظهر تقييم النشاط المضاد للأكسدة بواسطة طريقة الكسح الجذور الحرة * DDPH أن مستخلص الأزهار له نشاط مضاد للجذور الحرة أكبر (EC50 = 0.26 مجم / مل) (من الأوراق EC50 = 0.42 مجم / مل) لم يتم الكشف عن نشاط مضاد للميكروبات لدينا لأرجح بسبب التركيز المستخدم. تظهر هذه النتائج أن M. sylvestris يشكل نباتاً برياً أخضر ذو قيمة غذائية مثيرة للاهتمام موصى به بشدة استهلاكه.

الكلمات المفتاحية :

Malva sylvestris L. المركبات الفينولية ، الكلوروفيل ، الكاروتينات ، الأنشطة المضادة للأكسدة ، النشاط

المضاد للميكروبات.

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction..... 1

CHAPITRE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1- Valeurs nutraceutiques	4
1-1. Définition Nutraceutique.....	4
1-2. Les aliments fonctionnels et fortifiés.....	4
1-3. Compléments alimentaires	5
1-4. Les composés phénoliques	5
1-4.1. Les acides phénoliques	6
1-4.2. Les flavonoïdes.....	7
1-5. Autres antioxydants.	8
1-5.1. L'acide ascorbique	8
1-5.2. Les tocophérols	8
1-5.3. Les caroténoïdes.....	9
1-5.4. Les acides gras insaturés.....	10
2- <i>Malva sylvestris</i> L.....	11
2-1. Définition.....	11
2-2. Nom vernaculaires	12
2-3. Classification botanique	12

2-4. Habitat	12
2-5. Description botanique.....	13
2-6. Historique.....	14
2-7. Répartition géographique	14
2-8. Les utilisations de la plante	15
2-8.1. Utilisation comme aliment	15
2-8.2. Utilisation comme plante médicinale	15
2-9. Toxicité.....	18
2-10. Composition chimique.....	18

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

1- Matériel.....	21
1-1. Matériel biologique.....	21
1-2. Matériel non biologique	21
2- Méthodes	21
2-1. Extraction	21
2-2. Étude phytochimique	22
2-2.1. Dosage des polyphénols totaux	22
2-2.2. Dosage des flavonoïdes	23
2-2.3. Dosage de la chlorophylle	24
2-2.4. Caroténoïdes	24
3- Activité antioxydant	24

4- Activités antimicrobienne.....26

CHAPITRE III : RESULTAS ET DES DESCUSSIONS

1- Etude photochimique..... 29

1-1. Rendement des extraits..... 29

1-2. Polyphénols totaux 29

1-3. Flavonoïdes totaux30

1-4. Chlorophylle31

1-5. Caroténoïdes32

2- Evaluation de l'activité antioxydante33

3- Évaluation de l'activité antimicrobienne 35

CONCLUSION ET PERSPECTIVES 37

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 39

ANNEXES

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure 01	Classification des antioxydants phénolique.	6
Figure 02	Structures chimiques des principales classes de flavonoïdes et de certains flavonoïdes sélectionnés et composés apparentés aux flavonoïdes.	7
Figure 03	Structure des α , β , γ et δ -tocophérols	9
Figure 04	Exemples de caroténoïdes	10
Figure 05	La plante de la Mauve commune (<i>Malva sylvestris L.</i>) montrant les feuilles et fleurs (photo originale).	11
Figure 06	Espèce <i>Malva sylvestris L.</i>	14
Figure 07	Réaction d'un antioxydant avec le DPPH	25
Figure 08	Taux des polyphénols totaux dans les extraits méthanolique des feuilles et des fleurs de <i>M. sylvestris</i> .	30
Figure 09	Les taux en flavonoïdes dans les extraits méthanoliques des feuilles et des fleurs de <i>M. sylvestris</i> .	31
Figure 10	Taux de chlorophylle totaux, a et b dans les feuilles et les fleurs entières (avec calices) de <i>M. sylvestris</i> .	32
Figure 11	Les taux des caroténoïdes et lycopène dans les extraits de feuilles et de fleurs de <i>M. sylvestris</i> .	33
Figure 12	L'activité antiradicalaire A(%) en fonction des concentrations en extrait méthanolique de mauve (feuilles et fleurs).	34
Figure 13	Photos prise des antibiogrammes réalisés avec les extraits de feuilles et de fleurs de <i>M. sylvestris</i> .	35

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau 01	La classification botanique de <i>Malva sylvestris L.</i>	12
Tableau 02	Utilisations médicinales et comestibles de la mauve commune (<i>Malva sylvestris L.</i>)	17
Tableau 03	La liste des espèces bactérienne et fongiques utilisées comme germes cibles dans le criblage de l'activité antimicrobienne	27
Tableau 04	Rendements des extraits méthanoliques des feuilles et des fleurs de <i>Malva sylvestris L.</i>	29

Liste des abréviations :

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium.

A% : Activité antioxydant.

DO : Densité optique.

EAG : Équivalent d'acide gallique.

EC₅₀ : La concentration efficace médiale.

ED : Eau distillé.

EQ : Équivalent de Quercitine.

MF : Matière fraîche.

MS : Matière sèche.

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium.

SM : solution mère.

Introduction

Les humains ont développé une large connaissance des plantes au fil du temps grâce à un contact continu avec leur environnement. Les plantes cultivées sont largement utilisées aujourd'hui, bien que les plantes comestibles aient des propriétés médicales importantes.

Les plantes comestibles peuvent avoir différentes utilisations dans différentes régions d'un même pays. De plus, les gens les utilisent à des fins médicinales et diététiques (**Dogan et al., 2004**).

Des antioxydants, Tels que les polyphénols, le tocophérol, l'acide ascorbique et les caroténoïdes sont les principaux composés phytochimiques responsables de la protection contre les dommages oxydatifs et les maladies chronique associées au stress oxydatif (**Wiset WC.1995**).

Le genre *Malva L.* (Malvaceae) est représenté par 40 taxons dans le monde entier. (**Davis PH., 1966**).*Malva sylvestris L.* est une plante très commune poussant à l'état sauvage dans les pays du Moyen-Orient et communément appelée mauve. La plante *Malva sylvestris L.* a une riche histoire ethnométriculaire et est utilisée depuis la Grèce antique et l'époque romaine comme émoullient et laxatif. (**Guarrera PM., 2005**).

Les gens utilisent la mauve de différentes manières ; beaucoup utilisent ses feuilles dans leur nourriture comme légume vert. Elle a été utilisée pour traiter la dermatite, le diabète et certaines maladies associées au tube digestif (l'ulcère gastroduodénal) et aux troubles respiratoires (la toux et les maux de gorge) (**Gasparetto, 2012**).

D'autres personnes utilisent ses fleurs à des fins médicinales pour traiter les blessures et différents troubles cutanés (**Jabriet al., 2017**) et dans les pays asiatiques, elle est utilisée pour traiter les blessures et les inflammations (**Gasparetto, 2012**)

Cette plante contient des vitamines (A, C et E, acide folique et niacine), des polyphénols dont les tannin, les flavonoïdes (malvone A, malvaline , malvidine et malvine), les coumarines) et la scopolétine ; en plus de polysaccharides (mucilage) et les coumarines (**Dipak, 2016**).

L'abondance naturelle de *M. sylvestris* le long de nos terres pourrait optimiser son utilisation comme source de bioconservateurs et d'antioxydants naturels à utiliser dans les aliments ou les substances médicinales pour remplacer les conservateurs et antioxydants synthétiques, sachant que l'utilisation de ces molécules synthétiques doit être le plus restreint

que possible en raison de leurs effets secondaires néfastes tels que la cancérogénicité (Shibata M. Ogiso T., (1983)).

L'objectif assignés à notre travail sont :

-Etude de la valeur nutraceutique de la plante *Malva sylvestris* L. par l'évaluation de sa richesse phytochimiques de ses différentes parties aériennes consommées par la population algérienne et en évaluant certaines de leurs activités biologiques.

Pour cela nous avons réalisé notre étude selon le plan suivant :

- Extraction méthanolique des composés phénoliques à partir des poudres de feuilles et de fleurs séchées.
- Analyse quantitative des contenus en polyphénols, en flavonoïdes des extraits méthanoliques.
- Dosage de la chlorophylle a et b et des caroténoïdes, lycopène et b-carotène.
- Etude de l'activité antioxydante par la méthode de piégeage du DPPH*
 - a. Etude de l'activité antimicrobienne des extraits méthanolique de fleurs et des feuilles vis-à-vis des souches de référence ATCC par la méthode de diffusion sur milieu gélosé.

Chapitre I :

Synthèse bibliographique

1- Valeurs nutraceutiques

Les nutraceutiques et les aliments fonctionnels présentent un intérêt considérable pour les scientifiques, les fabricants et les consommateurs, car ils assument des rôles protecteurs et préventifs dans la pathogenèse de certains types de cancer et de plusieurs autres maladies chroniques.

Les avantages de tels produits peuvent être basés sur des tests épidémiologiques, in vitro ou in vivo sur des cellules, des organes ou des assemblages d'organes entiers et pourraient éventuellement inclure des essais cliniques précliniques et humains. Ainsi, le contrôle de certains types de cancer, de maladies cardiovasculaires, de troubles auto-immuns et du processus de vieillissement peut bénéficier de la consommation d'aliments, d'ingrédients et de nutraceutiques capables de neutraliser les espèces réactives de l'oxygène et d'autres oxydants dans le corps (**Shahidi et Naczk, 2004**).

1-1.Nutraceutique

Le terme nutraceutique utilisé pour la première fois, il y a près de 30 ans par Dr. Stephen De Felice ; il provient des nutriments et des produits pharmaceutiques, cependant ils sont plus que des nutriments en raison de leurs avantages pour la santé vérifiés ou attendus, mais moins que les produits pharmaceutiques en raison de leurs actions physiologiques non prouvées (**Shahidi et Naczk, 2004**). « Nutraceutique » est une substance qui peut être considérée comme un aliment ou une partie d'un aliment qui offre des avantages pour la santé, englobant la prévention et le traitement des maladies (**Kalra, 2003**).

Des produits aussi divers que des nutriments isolés, des compléments alimentaires et des régimes alimentaires aux aliments génétiquement modifiés « de conception », des produits à base de plantes et des aliments transformés (céréales, soupes, boissons) peuvent être inclus dans le cadre des nutraceutiques (**Télessy, 2019**).

1-2.Les aliments fonctionnels et fortifiés

Selon **Télessy (2019)**, il faut différencier entre les aliments fonctionnels et les aliments fortifiés :

- Dans le cas des aliments fonctionnels, il s'agit d'ajouter tout ingrédient à l'aliment qui peut jouer un rôle particulier afin d'offrir des avantages supplémentaires ou

améliorés ces avantages, donc l'aliment fonctionnel est qualitativement plus qu'un aliment ordinaire.

- Dans le cas des aliments fortifiés (enrichis), un ou certains ingrédients sont en quantité plus élevée que dans les aliments normaux. Cela signifie que les aliments fortifiés sont quantitativement supérieurs aux aliments normaux.

En fin de compte, les deux types d'aliments spéciaux sont considérés comme des aliments et appartiennent à la même catégorie.

1-3. Compléments alimentaires

Les nutraceutiques et les compléments alimentaires sont des termes très similaires. Les deux sont consommés en complément de la nourriture sous une forme séparée (comprimé, capsule, etc.).

En effet, la définition de l'association 'Proprietary Association of Great Britain, de la British Herbal Manufacturers' et l'association de 'Health Food Manufacturers' stipulent que les compléments alimentaires sont : « Les aliments sous forme posologique unitaire, par exemple : comprimés, gélules et élixirs, pris pour compléter le régime. ». La plupart sont des produits contenant des nutriments normalement présents dans les aliments qui sont utilisés par le corps pour développer les cellules, les os, les muscles, etc., pour remplacer les coenzymes épuisées par les infections et les maladies, et généralement pour maintenir une bonne santé (**Mason, 2012**).

1-4. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques et polyphénoliques dans les aliments et les nutraceutiques représentent les métabolites secondaires végétaux les plus largement distribués exerçant leurs effets bénéfiques en tant que pièges de radicaux libres et chélateurs de métaux pro-oxydants et empêchant ainsi l'oxydation des lipoprotéines de basse densité et la scission des brins d'ADN ou améliorant la fonction immunitaire.

Les polyphénols sont des métabolites secondaires, largement distribués dans les plantes et les aliments d'origine végétale. Leurs bienfaits pour la santé (effets vasodilatateurs, anti-inflammatoires, anticancéreux, antiviraux et antibactériens) découlent des effets antioxydants de ces composés photochimiques, qui reposent sur leur capacité à piéger différents radicaux libres conduisant à la protection des molécules (Protéine, enzyme et ADN) contre l'oxydation (**Rackova et al., 2009**).

Certains composés phénoliques, tels que les flavonoïdes, sont partiellement responsables des qualités sensorielles (astringence et amertume des aliments végétaux. (**Lugasiet al., 2003**).

1-4.1. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont classés en deux sous-classes : les dérivés de l'acide hydroxy benzoïque tel que l'acide gallique et l'acide protocatéchique et les dérivés de l'acide hydroxy cinnamique, tels que l'acide caféique et l'acide férulique.

Les acides phénoliques sont contenus dans de nombreuses plantes agricoles et médicinales, Ils ont des effets prébiotiques, antioxydants, de chélation et anti-inflammatoires. Ils sont considérés comme non toxiques. Certains d'entre eux suscitent de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer. (**Psoťováet al., 2003 ; Hale, 2003**).

Pharmacologiquement, le mieux caractérisé est l'acide caféique (**Psoťová et al., 2003**). Ainsi, l'acide caféique et l'acide férulique limiteraient la formation du cancer des poumons chez les souris tandis que l'acide gallique empêcherait la formation du cancer oesophagien chez les rats (**Hale, 2003**).

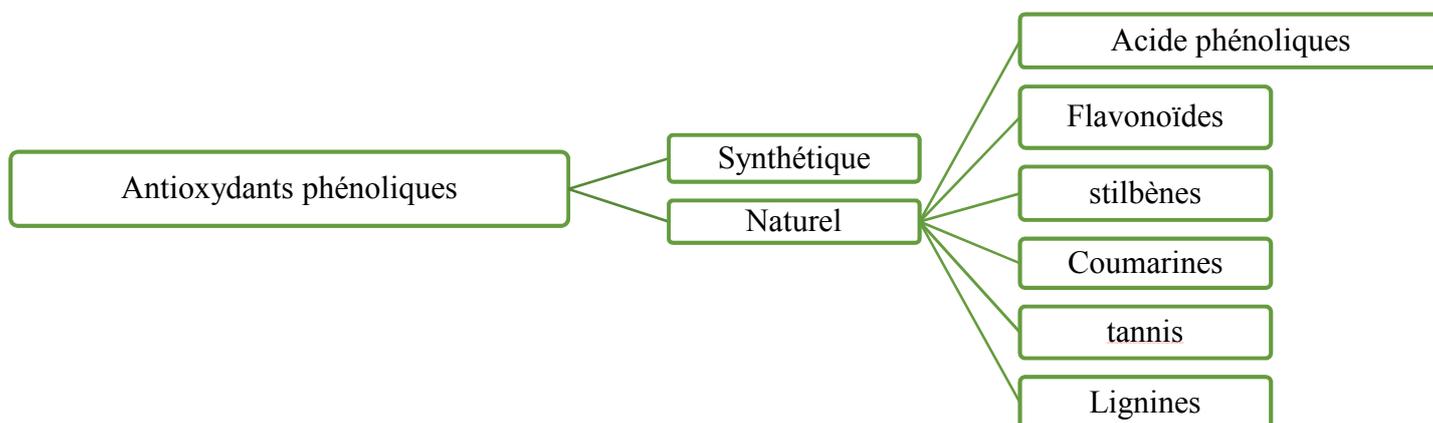
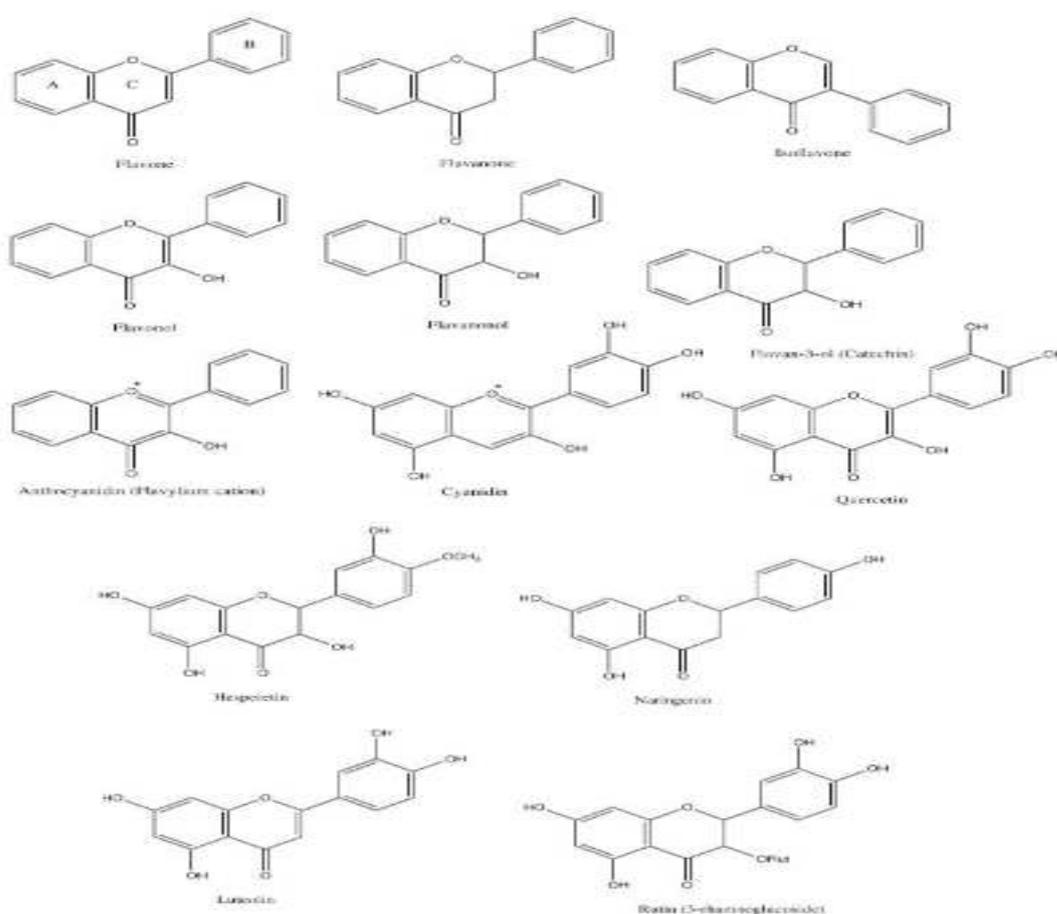


Figure 01 : Classification des antioxydants phénoliques. (**Shahidi et Ambigaipalan, 2015**)

1-4.2. Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde regroupe une très large gamme de composés naturels polyphénoliques. On distingue différents types de noyaux (**figure 01**): flavones, flavonols, flavanones, flavanonols, flavanes, flavan-3-ols, flavylum, chalcones, aurones, isoflavones, isoflavonols, isoflavanes, ptérocarpanes, coumaronochromones, 3-arylcoumarines, coumestanes, roténoïdes ...etc. Les flavonoïdes ont tous une origine biosynthétique commune et par conséquent, possèdent tous un même squelette de base de quinze atomes de carbones constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C6 (A et B) reliés par une chaîne en C3,



c'est l'hétérocycle C.

Figure02 : Structures chimiques des principales classes de flavonoïdes et de certains flavonoïdes sélectionnés et composés apparentés aux flavonoïdes.(**Shahidi et Ambigaipalan,2015**).

Les flavonoïdes font partie d'une classe de composés naturels largement répandue chez les végétaux. Ils sont très présents dans les feuilles, les graines, l'écorce et les fleurs de plante, abondants dans les légumes feuilles et présents dans les aliments d'origine végétale (légumes, céréales, légumineuse, fruits, etc.) et les boissons (vin, thé, cidre bière, cacao, etc.). Cette présence est en grande partie influencée par des facteurs génériques et des conditions environnementales (Lugasiet *al.*, 2003).

1-5. Autres antioxydants

Sont des composants importants car ils protègent contre les radicaux libres, tels que les espèces réactives de l'oxygène dans le corps humain. Les radicaux libres sont connus pour être les principaux contributeurs aux maladies dégénératives du vieillissement et sont reconnus comme les principaux facteurs causant le cancer. L'être humain peut utiliser les antioxydants soit comme compléments alimentaires, soit comme médicament. À l'heure actuelle, il existe un intérêt croissant à la fois pour l'industrie et la recherche scientifique pour les légumes, les fruits, les plantes médicinales et les épices en raison de leurs composés phytochimiques antioxydants et antimicrobiens. Ces propriétés sont dus à de nombreuses substances, notamment les flavonoïdes, les vitamines, les terpénoïdes, les minéraux et les phytochimiques, etc.

Les antioxydants présents dans les cellules végétales, joue un rôle important dans le contrôle de l'homéostasie des ROS (Réactive Oxygen Species) par des réactions enzymatiques et non enzymatiques, agissant dans différents compartiments cellulaires (Locatoet *al.*, 2009).

1-5.1. L'acide ascorbique

appelé aussi vitamine C, est apportée par l'alimentation chez l'homme. Elle est présente dans la cellule au niveau du cytoplasme et des lysosomes. Elle peut directement réagir avec des espèces oxygénées réactives comme HO. ou O. et former le radical semidéshydroascorbate. Peu réactif, ce dernier est rapidement oxydé en acide déshydroascorbique. La vitamine C peut également contribuer à limiter la peroxydation lipidique en régénérant d'autres antioxydants comme la vitamine E. Il faut toutefois signaler qu'à forte dose et en présence de quantités importantes de fer, elle peut devenir prooxydante.

1-5.2. Les tocophérols

Appelés collectivement vitamine E, sont des antioxydants lipophiles, des composants alimentaires essentiels pour les mammifères et exclusivement synthétisés par les microorganismes photosynthétiques. Il existe quatre formes, α , β , γ et δ ; -tocophérol est la

principale forme de vitamine E présente dans les tissus végétaux verts, et possède l'activité de vitamine E la plus élevée, probablement en raison d'une absorption et d'une distribution préférentielles de cette molécule dans le corps humain (Caretto *et al.*, 2009). (figure 03)

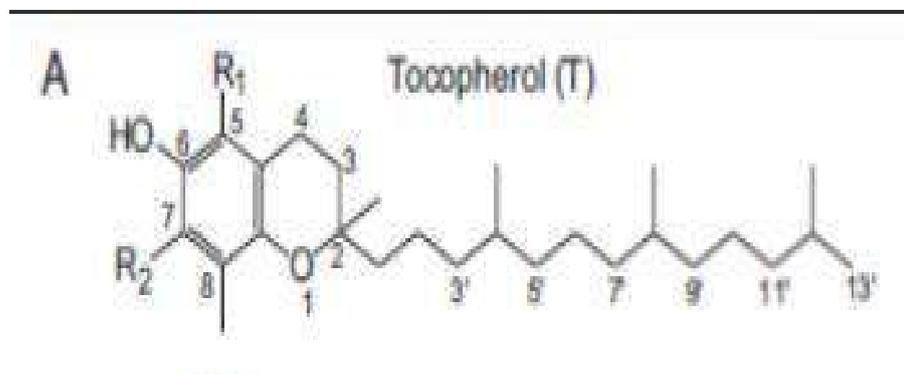


Figure 03 : Structure des α , β , γ et δ -tocophérols (Jiang *et al.*, 2008)

Les tocophérols α , β , γ et δ détruisent les radicaux peroxydes (ROO) et alkoxydes (RO) grâce à leur hydroxyle phénolique, en formant des hydroperoxydes lipidiques et le radical tocophéryle.

1-5.3. Le caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des molécules aux capacités antioxydantes similaires à celles des tocophérols. Grâce à leur longue chaîne carbonée riche en doubles liaisons, ils sont d'excellents piègeurs de radicaux peroxydes et d'oxygène single (figure 04). Une molécule de caroténoïde peut piéger plusieurs espèces radicalaires avant d'être finalement détruite (Stahlet Sies, 1997).

Les caroténoïdes sont synthétisés uniquement par les végétaux et se transfèrent aux animaux à travers la chaîne alimentaire. Certains d'entre eux agissent alors comme provitamines, telle que le bêta-carotène, précurseur de la vitamine A, et/ou interviennent à différents niveaux de l'organisme, (Liang *et al.*, 2009).

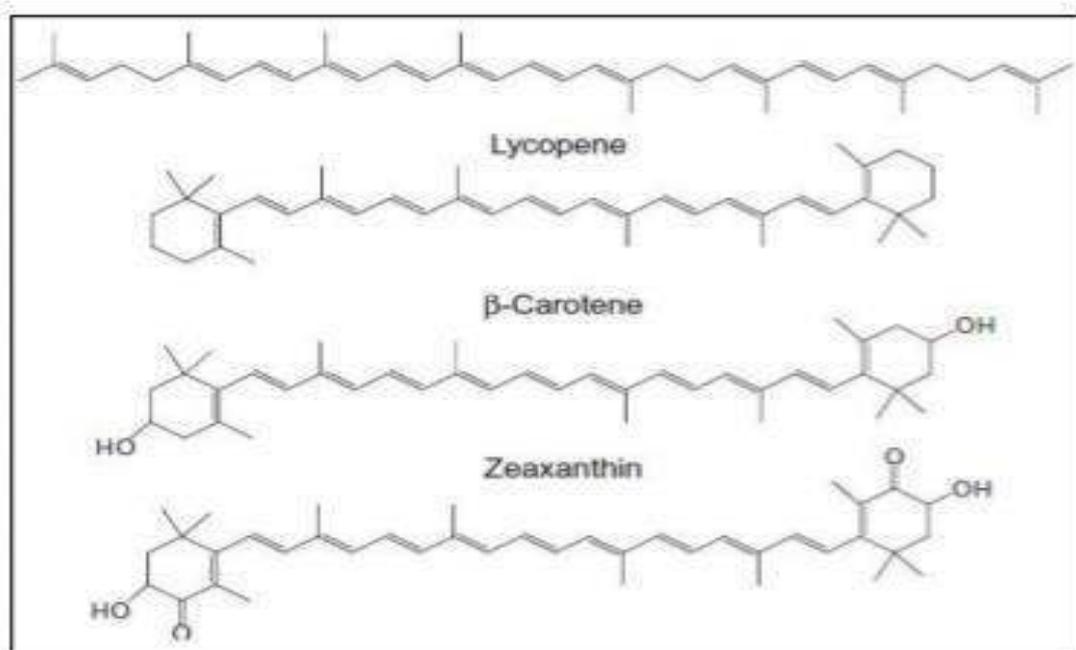


Figure04 : Exemples de caroténoïdes (Liang *et al.*, 2009).

1-5.4. Les acides gras insaturés

Les acides linoléique et linoléique, ne sont pas synthétisés par les mammifères et constituent donc des besoins alimentaires importants. Comme les vitamines, ils sont nécessaires à la croissance et à une bonne santé, et sont donc appelés acides gras essentiels. Les plantes sont capables de synthétiser les acides linoléiques et linoléiques et sont la source de ces acides gras dans notre alimentation (Zubay, 2006).

L'acide linoléique fait partie du groupe d'acides gras essentiels appelés acides gras oméga-6, ainsi appelés parce qu'ils constituent une exigence alimentaire essentielle pour tous les mammifères. L'autre groupe d'essentiels acides gras sont les acides gras oméga-3, par exemple l'acide linoléique. Ce dernier a montré des rôles positifs dans de nombreuses maladies comme le diabète et la prévention du cancer (Ipet *al.*, 1991 ; Horrobin,1993). L'acide linoléique a été évalué aussi pour son rôle dans la santé cardiovasculaire, y compris la prévention primaireet secondaire des maladies coronariennes (Connor, 2000 ;Mozaffarian,2005).

2- *Malvasylvestris*L.

2-1. Définition

La mauve (*Malva sylvestris* L.) appartient à la famille des Malvacées. C'est une plante spontanée (considérée parfois comme mauvaise herbe). Ses régions d'origine sont l'Europe du Sud, l'Afrique du Nord et l'Asie du Sud-Ouest. La plante pousse de préférence dans des endroits humides comme près des océans, des marais, des fossés, des berges des rivières et des prairies (Razaviet *al.*, 2011).

C'est une plante herbacée annuelle ou vivace, atteignant une hauteur de près de 1 m. Les feuilles sont presque en forme de cœur avec 5 à 7 lobes et les fleurs sont roses vifs avec des veines violettes (Figure 05). (Nehir et Karadarya, 2004; Wang, 2005; Barroset *al.*, 2010;Çadırcı *et al.*, 2012; Sabri *et al.*, 2012; Tabaraki *et al.*, 2012).

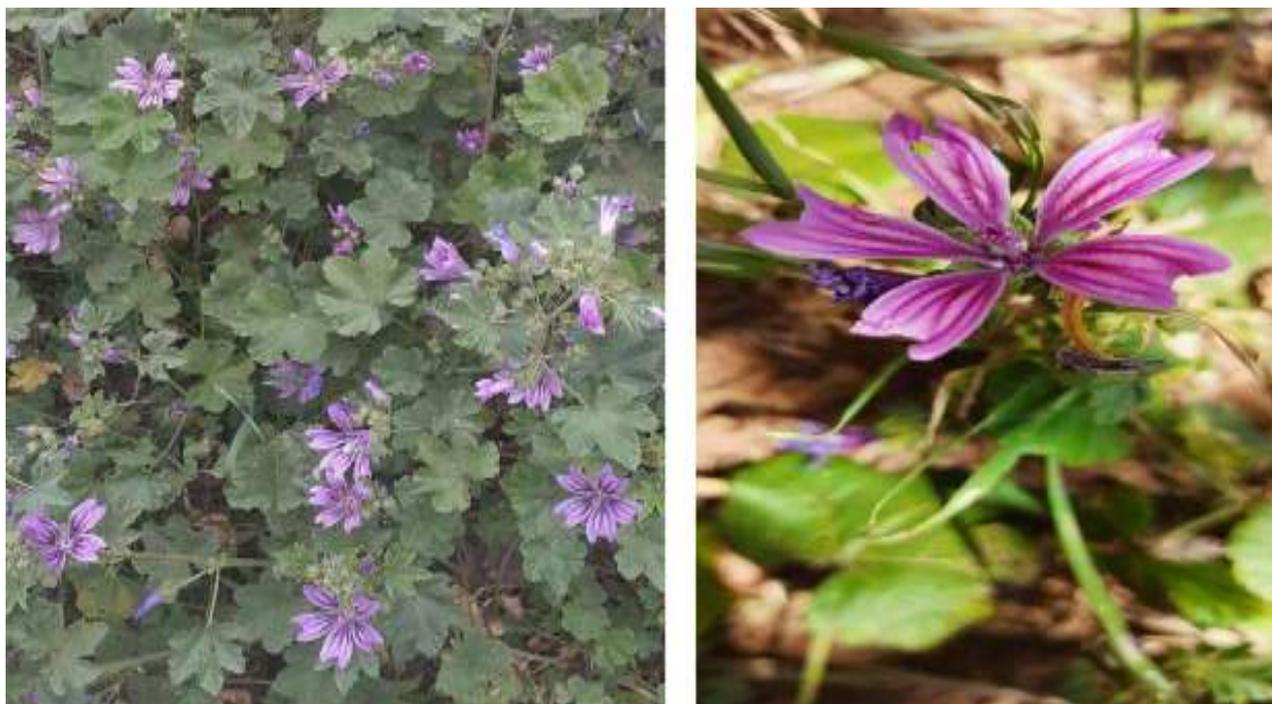


Figure 05 : La plante de la Mauve commune (*Malva sylvestris* L.) montrant les feuilles et fleurs (photo originale) .

2.2. Nom vernaculaires

Malva sylvestris L.(mauve commune) est connue sous différents synonymes appelémoelleux commun en Europe, gulkhaira ou vilayatti kangani au Pakistan et en Inde (**Mustafaet Ali, 2011**),

- En résumé les appellations de *Malva sylvestris* dans les différentes langues sont :
 - ✓ Nom commun : Mauve (**Flore,2011**).
 - ✓ Nom kabyle : Amedjir.
 - ✓ Noms arabe : Khoubeiza (**Ghedira et Goetz,2016**).
 - ✓ Nom français : Mauve ,Grande Mauve , Mauve Des Bois (**Flore,2011**).
 - ✓ Nomsanglais : Mallow ,High Mallow (**Flore,2011**).
 - ✓ khabazi ou tole en Iran, malva au Portugal, marva en Italie et ebeğümeçi en Turquie (**Tabaraki et al., 2012**).

2-3. Classification botanique

La classification de la mauve dans le règne végétal est indiquée dansletableau (**01**) :

Régne	Végétal
Embranchement	Spermatophyles
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Malvales
Famille	Malvacées
Genre	Malva
Espèce	<i>Malva sylvestris</i> L.

Tableau 01 : La classification botanique de *Malva sylvestris* L. (**Ghedira et Goetz , 2016**)

2-4. Habitat

La mauve sylvestre contrairement à ce qu'indique son nom, ne se rencontre pas dans les bois. On la trouve surtout dans les terrains vagues, ainsi que sur le bord des chemins et des cultures (**Bonnier et Douin, 1912-1935**).

Elle est nitrophile et préfère les sols pollués par les nitrates (**Fournier, 1934-1940**). Son habitat de prédilection est le sol remanié des friches et des champs abandonnésainsi

que le bord des cultures. C'est une plante rudérale, elle croit dans les décombres. Elle peut pousser jusqu'à 1500 m d'altitude (Fournier, 1934-1940 ; Fletcher, 2007).

2-5. Description botanique

La mauve sylvestre est bisannuelle. Mais elle peut éventuellement être vivace par des bourgeons souterrains (Bonnier et Douin, 1912-1935 ; Belzung, 1900).

C'est une plante polymorphe, au fil du temps les feuilles tendres se font dévorer par les insectes et les escargots, ce qui donne à l'ensemble de la plante un aspect négligé (Fletcher, 2007).

La floraison de *Malva sylvestris* se produit entre mai-juin et septembre (Schaffner, 1993 ; Coste, 1901 ; Bonnier et Douin, 1912-1935).

La mauve sylvestre est une plante poilue. Elle peut avoir une pubescence simple à poils simples ou à poils presque tous étoilés ou bien une pubescence mixte, à poils simples et étoilés (Rouy, 1893-1913).

Elle mesure de 30 cm à 1 m50 de long (Fournier, 1934-1940 ; Blamey et Grey-Wilson, 1991). C'est un végétal à tige dressée, parfois brièvement couchée à la base puis redressée. Elle peut aussi rester couchée, rayonnante à partir du pied central (Echevin, 1964 ; Couplan, 1950). Les fleurs de la mauve sylvestre sont rose pourpré. Les feuilles de la mauve sylvestre mesurent jusqu'à 12 cm de longueur et 15 cm de largeur (Pharmacopée européenne 6.3). (figure 06)



Plante entière couchée, dont les rameaux rayonnent depuis le pied central



Plantule de mauve sylvestre



Fleurs de mauve sylvestre



**Feuille de mauve sylvestre, dentée
et pourpre à la base**

Figure 06 : Espèce *Malva sylvestris* L. (Maeva Flores, 2009).

2-6 Historique

L'espèce a une longue histoire d'utilisation comme aliment, et en raison de sa pertinence thérapeutique, certaines parties de cette plante ont été utilisées en médecine traditionnelle et ethno vétérinaire. Il a été rapporté que les feuilles en particulier ont de puissants anti-inflammatoires et antioxydants. Activité anti-complémentaire, anticancéreuse et intégrité des tissus cutanés. De plus, un effet anti-ulcérogène a récemment été prouvé, démontrant que l'extrait aqueux était plus efficace que la cimétidine, un médicament puissant utilisé pour traiter les ulcères gastriques. En raison de sa large utilisation et de son importance médicinale, de nombreuses études ont été menées ; cependant, l'information contenue dans la littérature est très abondante et diffusée, rendant difficile l'utilisation.

Les principaux constats Une revue complète impliquant les aspects ethnobotaniques et scientifiques de *M. sylvestris* a été faite. (João Cleverson *et al.*, 2011).

2-7. Répartition géographique :

La grande mauve est une plante très commune en Europe, elle en est native. Elle n'a pas été introduite directement ou indirectement par l'homme. Elle est native aussi en Asie occidentale et en Afrique.

A l'inverse, elle se rencontre à l'état subspontané dans la plupart des pays tempérés du globe. Elle se rencontre à l'état sauvage spontané, après s'être échappée des cultures. A On la

trouve aujourd'hui dans presque tous les pays tempérés et subtropicaux des deux hémisphères. Elle pousse dans toute l'Europe (excepté l'extrême Nord), en Afrique, au Proche-Orient et en Asie (Couplan et Debuigne, (2006) ; Blamey et Grey-Wilson, (1991) : Schaffner, (1993)).

2-8. Les utilisations de la plante

De nombreuses plantes sauvages locales telles que *Malva sylvestris L.* sont utilisés à la fois dans l'alimentation et la médecine :

2-8.1. Utilisation comme aliment

Les usages comestibles concernent la gastronomie populaire et les usages généralement inclus dans les aliments dits mineurs (Guarrera, (2003); Carvalho, (2005)).

Les feuilles sont consommées sautées comme légume vert dans les soupes comme légume bouillis et utilisées comme farce dans certains, or les pousses et les jeunes feuilles sont consommées crues en salade. Les fruits immatures sont consommés (sucés ou mâchés) comme collation par les enfants, les bergers et les chasseurs. (Pardo de Santayana, (2004): Carvalho, (2005): Neves *et al.* (2009) : Dogan *et al.* (2004)).

En Algérie les feuilles de la mauve sont consommées comme légumes verts (exemple les épinards) ou étuvées et mélangées avec le couscous notamment en Kabylie.

Il semble que la plupart du temps, les feuilles soient parfaitement saines et qu'aucun effet indésirable ne soit enregistré concernant la consommation humaine, bien que certains auteurs aient rapporté des effets nocifs chez le bétail car lorsqu'elle est cultivée sur des sols riches en azote, la plante a tendance à concentrer des niveaux élevés de nitrates dans ses feuilles (Cooper et Johnson, 1984 ; Rivera et Obón de Castro, 1991).

2-8.2. Utilisation comme plante médicinale

Traditionnellement, les applications médicinales de la mauve commune traitent des troubles spécifiés de plusieurs systèmes du corps, tels que le système digestif, respiratoire, génito-urinaire musculaire et squelettique, ainsi que des troubles cutanés et des blessures. (Carvalho, 2005: Quave *et al.*, 2008; DellaGreca *et al.*, 2009: Leporatti and Ghedira, 2009; Neves *et al.*, 2009).

Les Grecs et les Romains revendiquaient ses propriétés émoullientes et lasatives et plusieurs enquêtes ethnobotaniques menées en Europe (Tableau 02) mettent en évidence le potentiel de cette ressource locale délaissée, dont l'utilisation est aujourd'hui au bord de la disparition. Les racines, les pousses, les feuilles, les fleurs, les fruits et les graines sont appliqués en infusions décoctions cataplasmes, liniments, lotions, bains et garganimes (**Camejo-Rodrigues et al, 2003 ; Novais et al., 2004 ; Pardo de Santayana, 2004 ; Carvalho, 2005 ; Ferreira et al., 2006 ; Natale a Pollio, 2007 ; Guarrera et Leporatti, 2007 ; Quave et al. 2008 ; Leporatti et Ghedira, 2009 ; Neves et al., 2009**).

Les fleurs de la plante sont utilisées comme remède contre les plaies infectées, l'eczéma, la bronchite, les problèmes digestifs et les inflammations (**Pirbaloutiet al., 2009**).

En outre, les propriétés anti-inflammatoires et anti-oxydantes (**Pirbaloutiet al., 2009**) les plus largement reconnues d'autres effets pharmacologiques et cliniques sont fréquemment mentionnés dans la littérature .

La mauve commune est considérée comme ayant des effets diurétiques, locatifs, spasmolytiques adoucissants et cholérétiques. Il est également utilisé comme bronchodilatateur, expectorant, antitussif, anti-diarrhéique et hautement recommandé pour les soins de l'acné et de la peau, et comme antiseptique émoullient et adoucissant (**Carvalho, 2005; Quave et al., 2008; DellaGreca et al., 2009; Leporatti et Ghedira, 2009; Neves et al., 2009**).

Selon **Wang (2005)**, les anthocyanes de *M. sylvestris* a causé des diminutions du cholestérol total et des triglycérides du plasma. Il a également montré que les extraits de Malva a protégé les rats des lésions gastriques induites par l'éthanol. Cette activité antiulcérogène peut être associée à la teneur élevée en mucilage de l'espèce végétale (**Gurbuzet al.,2005**).

Selon **Hussainet al., (2014)**, *Malva sylvestris* a des effets hépatoprotecteurs de manière dose-dépendante. Une dose élevée de *Malva sylvestris* a montré une différence non significative avec les effets hépatoprotecteurs du médicament standard silymarine .

Selon **Razaviet al., (2011)**, Il a été conclu que *M. sylvestris* iranienne possède des bioactivités considérables. Elle peut être utilisée comme agent antiseptique pour éliminer les micro-organismes résistants aux antibiotiques.

La mauve est employée comme un excellent laxatif pour les enfants et comme antipoison en cas d'absorption d'acide ou de base (**Flore, 2011**), agent anti diabétique (**Akashet al., 2012**).

Utilisations médicinales et comestibles de la mauve commune (*Malva sylvestris L.*) sont rapportées dans plusieurs enquêtes ethnobotaniques européennes (**Barroset al.,2010**)(Tableau 02).

Tableau 02 : Utilisations médicinales et comestibles de la mauve commune (*Malva sylvestris L.*)

Pays européen	Partie de plante utilisée	Application médicinale	Usage médicinale	Utilisation alimentaire
Portugal, Espagne, France	Les racines	Mâché, décoction	Maux de dents, voies génitales, dermatite	Rien
Portugal, Espagne, Italie, France	Jeunes feuilles	Décoctions, infusions, cataplasme	Peau, blessures, brûlures, estomac, diarrhée pectorale. rhumatismes	The, salades, soupes
Portugal, Italie, France	Tirs	Décoctions, infusions, bains de vapeur	Maux de dents, voies génitales, hémorroïdes, constipation	Salades, soupes
La Portugal	à fleurs feuilles tiges	-Pommades, cataplasmes, bains, décoctions, infusions, liniments	-Rhume, tour, maux de gorge amygdales, vessie rhumatismes	Rien
Portugal, Espagne, Italie, France	Fleurs	-Décoctions, bains gargarismes, lotions, bains de vapeur, sirops	Acné, affection de la peau yeux, maux de gorge, toux	Rien
Portugal, Espagne, Italie, France	Fruits immatures	Inconnu	Inconnu	Snacks, salades
Espagne	Graines/mécarpes	Macération	Peau enflammée ou blessée	Saveur

2-9. Toxicité

Selon la littérature, *Malva sylvestris L.* ne présente aucune toxicité même à forte dose. Il n'y a donc pas d'effets indésirables, pas de contre-indication, ni d'interactions médicamenteuses à l'utilisation de la mauve. C'est en partie pour cette raison qu'elle peut être utilisée chez les enfants et les personnes âgées (**Wichtl, (2003) ; Valnet, (1992)**).

Cependant la toxicité aiguë d'extraits hydro alcoolique de *Malva sylvestris L.* a été testée par le «Microtox acute toxicity test ». La limite de toxicité de ce test a été située à 20%, au-dessus. La plante présente une toxicité pour les cellules humaines. *M. sylvestris* a montré une inhibition de la bioluminescence de 17.32 %, donc juste en dessous de la limite. Pour cette raison, son utilisation dans l'alimentation doit être modérée et ne doit pas être prolongée (**Conforti et al., 2008**).

La population libanaise évite l'utilisation de la mauve chez les patients anémiques. Car elle est anémiant. Cependant, selon **Jeambeyet al., (2009)** il n'existe pas actuellement de preuves scientifiques se référant aux effets anémiants d'espèces de *Malva*.

Certains auteurs déconseillent l'utilisation de la mauve aux femmes enceintes à cause de l'activité ocytotique des feuilles (**Duraffourd et Lapraz, 2002**).

La mauve est une plante hyperglycémiant, ses mucilages sont des fibres hydrosolubles qui forment un gel visqueux, atténuant le pic postprandial, freinant ainsi la vidange gastrique et ralentissant l'absorption des glucides. (**Duraffourd et Lapraz, (2002) ; Buyschaert, (2006)**).

En outre, certains auteurs ont également rapporté des effets nocifs sur les animaux particulièrement sur le bétail.

2-10. Composition chimique

Les principaux composants de la mauve sont :

- Mucilage : donne naissance après hydrolyse de plusieurs molécules, aux propriétésémollientes et pectorales. ils sont généralement présents dans le tégument externe des graines et jouent un rôle important dans le processus de germination.
- Des Flavonoïdes (fleurs et feuilles) : Tanins (feuilles). Anthocyanosides et anthocyanidines contenues dans les fleurs (**Razaviet al.,2011**).
- Minéraux tels que le calcium, le phosphore, le fer, le potassium, le magnésium sont présents avec des teneurs variables dans la *Malva sylvestris L.* :
 - Cu (0,05, 0,18 mg/100gfw),
 - Zn (0,3, 0,27 mg/100gfw),

- Fe (1, 4mg/100gfw),
- K (537, 544 mg/100gfw),
- Na (94, 194 mg/100gfw),
- Ca (64, 643 mg/ 100gfw),
- Mg (55, 131 mg/100gfw),

ces valeurs sont comparable à celles des épinards (**Kawashima et ValenteSoares, 2003**).

Chapitre II :

Matériel et Méthodes

Notre travail a été réalisé durant la période (Avril- Juin 2021) entre 3 laboratoires: le laboratoire de PFE du département des sciences biologique à la faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Saad DAHLAB, Blida1 (USDB1), pour le séchage de la plante, l'extractions et les dosage ; pour l'évaporation des extraits nous avons utilisé le rotavapeur du laboratoire de chimie organique au niveau de la faculté des sciences, USDB1; or la partie microbiologique a été effectuée au niveau du laboratoire de valorisation des systèmes microbiens à l'ENS de Kouba.

1. Matériel

1.1. Matériel biologique

La partie végétative (feuilles et fleurs) de *Malva sylvestris* a été récoltée au niveau des champs de la station expérimentale de l'université, nettoyées de poussière puis étalées sur du papier et laissées sécher à l'ombre dans un endroit bien aéré pendant trois jours ensuite da l'étuve à 40°C pendant 24 heure.

Une fois sec, le matériel végétal a été broyé à l'aide d'une moulinette puis tamisé à travers une passoire et conditionné dans des flacons en plastique.

1.2. Matériel non biologique

Appareillage, petit matériel de laboratoire, les réactifs, les solvants et la verrerie utilisés dans les différentes étapes de notre travail sont illustrés en annexe (01).

2. Méthodes

2.1. Extraction :

Broyage de la plante séchée à l'ombre (réduite en poudre).

L'extraction par macération a été réalisée sur une poudre avec du méthanol à 80% à raison de (1:5) et avec agitation pendant une heure. Ensuite le mélange est centrifugé à 3000 tpm pendant 10 minutes. L'opération est répétée une seconde fois et Les surnageant obtenus sont rassemblés et évaporés à sec et sous vide à 40 °C sous vide. L'extrait sec est conservé au réfrigérateur.

Calcul du rendement (R) : Le rendement de l'extraction est le rapport entre le poids de l'extrait sec et le poids de la farine (biomasse végétale), il est exprimé en pourcentage et calculé selon la formule suivante :

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

où P_1 : poids de l'extrait sec et P_2 : poids de la poudre
 $P_1 =$ poids du flacon avec l'extrait après évaporation du solvant – Poids de flacon vide.

Reconstitution des extraits secs : afin d'évaluer leur teneur en composés phénolique et flavonoïdes en plus de leur activité antimicrobienne et antioxydant, les extraits ont été reconstitués à une concentration de 20 mg/ml dans du méthanol pur.

2.2. Etude phytochimique

2.2.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux dans les différents extraits est réalisé par la méthode de Folin-Ciocalteu (**Singleton *et al.*, 1999**).

Principe :

L'extrait sera traité avec le Follin-Ciocalteu et le carbonate de sodium. Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et phosphomolibdique, il est réduit par les phénols dans un milieu alcalin en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (**Ribéreau-Gayonet *et al.*, 1972**). Cette coloration bleue due à la formation d'un complexe molybdène tungstène mesuré au spectrophotomètre a une longueur d'onde 765nm contre un blanc ne contenant pas de polyphénols (standard). La concentration est déterminée par extrapolation sur une courbe d'étalonnage, réalisée auparavant.

L'acide gallique est le standard utilisé pour établir la courbe d'étalonnage à partir de laquelle la concentration des polyphénols totaux des extraits est calculée Le résultat est exprimé en mg d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait.

Une solution mère (SM) d'acide gallique a été préparée à une concentration de 260 ppm. Des dilutions de 26 ; 32,5 ; 65 et 130 ppm (tableau 01, annexe 2) ensuite ont été réalisées à partir de cette solution mère.

Mode opératoire : D'abord on prend 100 μ l de chaque extrait de mauve dans des tubes à essais, on ajoute 500 μ l du réactif de Folin-Ciocalteu 10 fois dilué et on agiter puis laisser incuber pendant 2 minutes. Ensuite on ajoute 2ml de carbonate de sodium à une concentration de 20%, enfin on le laisse 30 minutes à l'obscurité et on mesure la densité optique à 765nm.

Effectuer la même opération pour l'acide gallique à différentes concentrations en introduisant 100µl de ces dernières dans une série de tubes et ajout des autres réactifs

Le blanc est représenté par l'éthanol additionné du Folin-Ciocalteu, et de carbonate de Sodium.

Les concentrations des polyphénols totaux contenus dans les extraits sont calculées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue

Lecture : On tracer la courbe d'étalonnage $D_o = f(C)$, et par extrapolation et on déduit la concentration des composés phénoliques à partir de la densité optique et on exprime le taux de polyphénols en équivalence g d'acide gallique/g d' extrait.

2.2.2. Dosage des flavonoïdes :

L'estimation de la teneur en flavonoïdes totaux contenus dans les extraits de *M. sylvestris* est réalisée par la méthode de **Bahorunet al., (1996)**.

Principe : Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium. Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et aluminium). Ceci traduit le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons (**Ribéreau Gayonet al., 1972**).

La concentration des flavonoïdes contenus dans les extraits est calculée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la quercitrine comme standard.

Mode opératoire : Mettre 1 ml d'extrait dans un tube à essai ; ajouter 1ml de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) à 2 %, incuber pendant 10 min à température ambiante et lire les absorbances à 415 nm.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent en quercitrine par g d'extrait.

- A partir de chaque dilution on prend 1ml.
- Ajouté 1 de $AlCl_3$.
- Ainsi on prépare le blanc par 1.5ml de la Quercitine + 1.5ml de méthanol.
- Laisser agir 10 minutes.

Puis faire passer dans un spectrophotomètre a une longueur d'onde de 415nm.

2.2.3. Dosage de la chlorophylle :

Le dosage de la chlorophylle totale (chlorophylle a et b) a été mesurée selon la méthode de **Tousiet al., (2020)**, sur les feuilles sans fleurs et les fleurs avec leur calices. La méthode d'extraction consiste à une macération des feuilles (1 g) à l'obscurité dans 8 ml d'acétone (80%) pendant 5 à l'obscurité. Les extraits ont été filtrés à l'aide d'un papier filtre et l'absorbance a été mesurée à deux longueurs d'ondes (649 et 665 nm).

Les teneurs en chlorophylle totale, chlorophylle a et b ont été calculées selon les formules ci-dessous et exprimée en $\mu\text{mol/g}$ poids frais.

- **Chlorophylle a ($\mu\text{g/g MF}$) = $[12,21x \text{ DO}(665) - 2,79x \text{ DO}(649)]x V / (1000x W)$.**
- **Chlorophylle b ($\mu\text{g/g MF}$) = $[21,21x \text{ DO}(649) - 5,1x \text{ DO}(665)]x V / (1000x W)$.**
- **Chlorophylle totale (a+b) ($\mu\text{g/g MF}$) = $[18,42x \text{ DO}(649) + 7,11x \text{ DO}(665)]x V / (1000x W)$.**

Avec :

V : Volume de la solution extraite. et **W**: Masse de la matière fraîche.

2.2.4. Caroténoïdes :

B-Carotène et lycopène déterminés selon la méthode de **Nagata et Yamashita(1992)**. L'extrait (75 mg) a été vigoureusement agités avec 5 ml de mélange acétone-hexane (2:3) pendant 1 min et filtré sur papier Whatman No. 4. L'absorbance du filtrat a été mesurée à 453, 505, 645 et 663 nm. Le contenu de b-carotène et lycopène ont été calculés selon les équations suivantes :

$$\text{lycopène (mg/100mL)} = 0,0458 A_{663} + 0,204 A_{645} + 0,372 A_{505} + 0,0806 A_{453}$$

$$\text{b-carotène (mg/100 ml)} = 0,216 A_{663} + 1,220 A_{645} + 0,304 A_{505} + 0,452 A_{453}$$

Les résultats ont été exprimés en mg de caroténoïde par g d'extrait.

3. Activité antioxydant

La capacité antiradicalaire des extraits de feuille et de fleurs de *M. sylvestris* est évalué *in vitro* par la méthode de DPPH [2,2diphényl-1-picryl hydrazyl] rapporté par **Wahlandir et al., (1979)**.

Principe : Le DPPH* est un radical libre de couleur violette est réduit en un composé de couleur jaune en présence de composés antiradicalaire. L'intensité de la coloration, mesurée au spectrophotomètre, est inversement proportionnelle à l'activité antiradicalaire des composés dont nous souhaitons déterminer l'activité. (Figure 07)..



Diphenylpicrylhydrazyl + Antioxydant-OH → Diphenylpicrylhydrazine + antioxydant-O
 (Couleur violette) (couleur jaune)

Figure 07: Réaction d'un antioxydant avec le DPPH (Molineux., 2004)

Ce radical libre présente une coloration violette, lorsqu'il est piégé par des substances antioxydants, la forme réduite confère à la solution une coloration jaune pâle, le virage de cette coloration et l'intensité de la décoloration de la solution dépendent de la nature, la concentration et la puissance de la substance antiradicalaire.

Mode opératoire : On prépare une solution de 40µg/ml de DPPH dans le méthanol, et dans un ballon en verre on dilue l'extrait sec (méthanoliques et acétoniques) dans de le méthanol, on le mélange jusqu'à la dissolution total. A partir de cette solution mère, réaliser deux séries de dilutions d'un volume de 1 ml. Ajouter 1ml de la solution de DPPH à la première série et 1ml de méthanol pour la deuxième. Soustraire la densité optique de l'extrait (qui est coloré à la base) contre un blanc qui le méthanol (le solvant).

L'activité antiradicalaire de chaque concentration est calculée à partir de l'absorbance déduite par rapport à l'absorbance du témoin qui est la solution de DPPH utilisée, selon la formule suivante :

$$A (\%) = (Do \text{ témoin} - Do \text{ échantillon} / Do \text{ témoin}) * 100$$

Le courbe $A(\%) = f([\text{extrait}])$ a été tracée et la concentration de l'extrait permettant de piéger 50% de DPPH dans la solution (la EC50) est déterminée pour chaque extrait.

4. Activité antimicrobienne :

L'évaluation de l'activité antimicrobienne a été réalisée par deux méthodes : la méthode de diffusion de disque sur la gélose (**Sokmenet al., 2004**) et la détermination de la concentration minimale inhibitrice (**Eucastet al., 2003**)

1- Méthode de diffusion de disque :

Notre travail sur l'étude de l'activité antimicrobienne a été commencer par la détermination de profil de résistance des souches microbiennes par des antibiotiques puis leurs sensibilité aux extraits par diffusion des disques sur milieu gélosé où les disques sont imbibés de 10 µl de chaque extrait.

Tout le matériel de cette étude est stérilisé dans un autoclave à 120°C ainsi que le travail est réalisé dans des conditions stérile afin d'éliminé la contamination.

Les souches bactériennes de référence ont été testées contre les extraits et des antibiotiques (tableau) sur le milieu Muller-Hinton(MH) et ainsi que l'antibiogramme des bactéries cliniques sur gélose nutritif. L'activité antifongique a été testé sur le milieu Sabouraud(S).

Préparation de l'inoculum :

Chacune des souches microbiennes à tester a été ensemencée dans la gélose nutritive et incubée à 37°C pendant 24 h, afin d'optimiser sa croissance.

Des suspensions microbiennes ont été obtenues par l'homogénéisation de quelques colonies (bien isolées et identiques de chaque culture) dans 10 ml d'eau physiologique stérile .

Ensemencement et dépôt des disques :

L'ensemencement de la suspension microbienne est réalisé par écouvillonnage sur milieu gélosé (Muller-Hinton pour les bactéries et sabouraud pour les champignons). L'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas en stries serrées. L'opération est répétée deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois.

L'ensemencement est fini en passant l'écouvillon une dernière fois sur toute la surface gélosée. Les disques imbibés de 130µl d'extraits d'une concentration de 20 mg/ml sont déposés délicatement sur la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une

pince stérile. Un disque Wattman imprégné de méthanol a été utilisé comme témoin négatif.

Tableau 03 : la liste des espèces bactérienne et fongiques utilisées comme germes cibles dans le criblage de l'activité antimicrobienne.

BACTERIES
1. <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300
2. <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538
3. <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633
4. <i>Listeria monocytogene</i> ATCC 13932
5. <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739
6. <i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028
7. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 7320
MOISSISURES ET LEVURES
1. <i>Candida albicans</i> M3
2. <i>Aspergillus flavus</i> NRRL 62477
3. <i>Aspergillus parasiticus</i>

Chapitre III :

Résultats et discussion

1. Etude photochimique

1.1. Rendement des extraits

Les rendements des extraits méthanoliques des feuilles et des fleurs sont présentés dans le tableau (04).

Tableau 04: Rendements des extraits méthanoliques des feuilles et des fleurs de *Malvasylvestris*.

Echantillons	rendement (R%)
Feuilles	12,9
Fleurs	10,6

Le rendement le plus élevé (12,9%) a été obtenu avec l'extrait des feuilles par rapport à l'extrait des fleurs qui a donné un rendement de 10,6%.

Ces rendements sont environ deux fois plus élevés que celui obtenue par **Marisa et al., (2016)** avec l'extrait éthanolique de la grande mauve et qui n'a pas dépassé les 5.8%.

1.2. Teneur des polyphénols totaux

La détermination de la teneur en polyphénols totaux des différents extraits a été réalisée selon la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu selon **Singleton et al., (1999)**. La courbe montre une linéarité ($R^2 = 0,9995$) de l'absorbance en fonction des concentrations de l'acide gallique (figure 02, annexe 02). Les quantités des polyphénols correspondantes de chaque extrait ont été rapportées en équivalent gramme d'acide gallique (g EAG/l) et déterminé par l'équation suivante : $y = 0,0037x$ (figure 02).

Une différence dans les taux de polyphénols totaux a été observé entre les extraits méthanolique des feuilles et des fleurs (figure 08).

Une différence dans les taux de polyphénols totaux a été observé entre les extraits méthanoliques des feuilles et des fleurs (figure 08). Les feuilles ont donné le taux le plus élevé (17.80 mg EAG/g d'extrait brut) par rapport aux fleurs (15,89 mg EAG/g d'extrait brut).

Des valeurs beaucoup plus importantes ont été trouvées par **Barros et al. (2010)** avec la mauve Portugale ; cependant, le taux des polyphénols totaux dans les feuilles (386,45 mg/g d'extrait) restait toujours plus élevé que celui trouvé dans les fleurs (258,65 mg/g d'extrait).

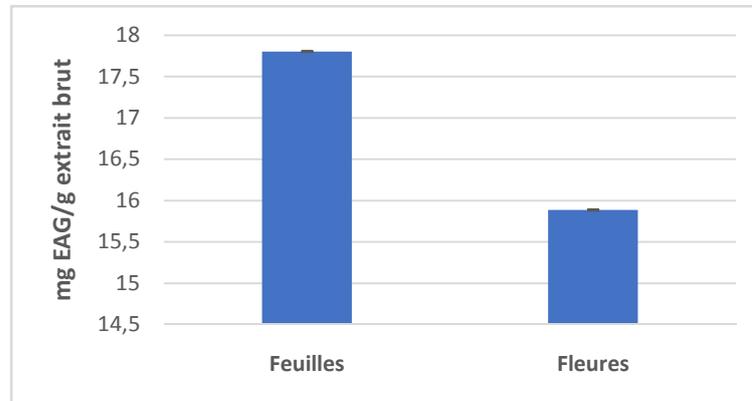


Figure 08 : taux des polyphénols totaux dans les extraits méthanolique des feuilles et des fleurs de *M. sylvestris*.

Une teneur plus faible en polyphénol totaux de la mauve iranienne (11,82 mg EAG/g d'extrait) a été rapporté par **Tabarakiet al., (2011)**.

Ces résultats sont différents de ceux obtenus dans les feuilles de *M. sylvestris* par **Irfanet al. (2021)** (59,91mg EAG / g d'extrait) et **Moualeket al. (2016)** (207,84 mg EAG /g d'extrait).

Une valeur du mêmes ordre 19,73 mg /g MS) a été obtenu dans les feuilles de *M. parviflora* extraite par nano émulsion (**El-Naggaret al., 2020**).

1.3. Teneur des flavonoïdes totaux

La quercétine a été utilisée comme étalon à différentes concentrations, de ce fait la teneur en flavonoïdes est exprimée en mg d'équivalent de quercitrine. Ces teneurs ont été déterminées à partir de la courbe d'étalonnage (figure1, annexes 2) qui suit l'équation linéaire suivante : $y = 0,0413x$, avec une corrélation de $R^2 = 0,9968$.

Une différence dans les taux de flavonoïdes totaux a été également observé entre les extraits méthanoliques des feuilles et des fleurs (figure 09). Les fleurs ont donné le taux le plus élevé (19,59 mg EQ /g d'extrait) par rapport aux feuilles (16,21 mg EQ /g d'extrait).

Une teneur flavonoïde comparable a été obtenue avec la mauve iranienne (21,85 mg EQ /g d'extrait) (**Tabarakiet al., 2011**).

Beghdadet *al.*, (2014) ont trouvé que les feuilles de mauve renferment une teneur plus faible (5,69 mg équivalent de rutine / g d'extrait) en utilisant l' éthanol comme solvant d'extrait.

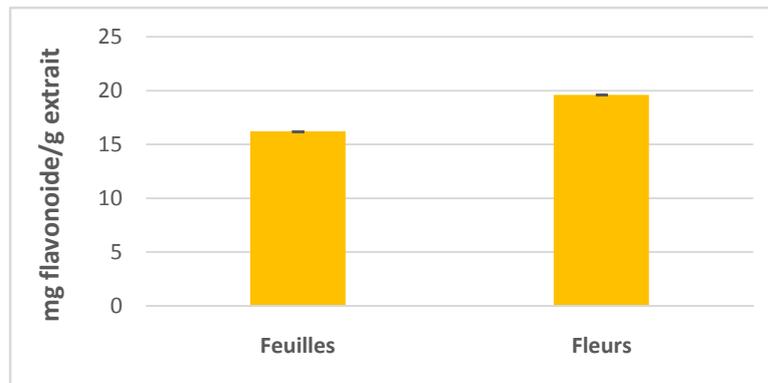


Figure 09 : les taux en flavonoïdes dans les extraits méthanoliques des feuilles et des fleurs de *M. sylvestris*.

Ces résultats sont différents de ceux obtenus par **Irfanet *al.*, (2021)** dans les feuilles de mauve (61,12 mg EAG /g d'extrait).

Selon **Pereira *et al.*, (2011)** ont rapporté que des teneurs en flavonoïde des l'extraits méthanoliques de feuilles de légumes verts sauvages pouvant atteindre jusqu'à 90 mg équivalent de catéchine /g d'extrait.

1.4. Chlorophylle

D'après les résultats de la figure 10, nous observons que la chlorophylle totale (a+b) dans les feuilles de la Mauve est de (1,95 mg/g MF) et que les fleurs renferment une teneur considérable (1,65mg /g MF) à cause de la présence des calices verts.

Dans la même figure 10, on peut voir que, la teneur en chlorophylle a est clairement plus élevée (1,09 mg/g MF) dans les feuilles par rapport aux fleurs qui renferme une teneur en chlorophylle b légèrement plus élevée (0,55 mg /g MF).

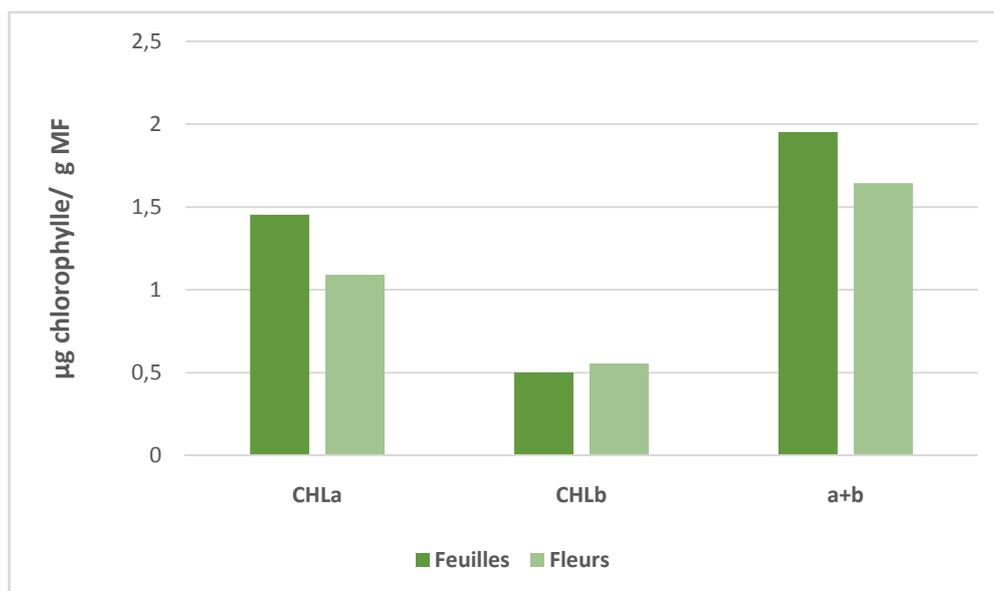


Figure 10 : Taux de chlorophylle totaux, a et b dans les feuilles et les fleurs entières (avec calices) de *M. sylvestris*.

Une étude menée par **Tousiet al., (2020)** a montré que la teneur en chlorophylle totale dans les feuilles de *M. parviflora* était de l'ordre de 1,70 mg /g MF et les teneurs en chlorophylle a et b étaient de 1,3 et 0,42 mg /g MF respectivement.

D'autres légumes verts sauvages comme le *Baragoofficinalis* renferme 2,40mg/100g MS de chlorophylle a et 0,54 mg/ 100g MS de chlorophylle b ; Par contre une autre plante, *Rumex induratus*, peut contenir jusqu'à 10,86 mg /100 g MS de chlorophylle a et 13,62 mg /100 g MS de chlorophylle b (**Pereira et al., 2011**).

1.5 Caroténoïdes :

D'après la figure 11, il ressort que le taux du b-carotènes est plus important par rapport au taux de lycopène que ça soit dans l'extrait de feuilles ou dans celui des fleurs. Cependant, il est plus élevé dans les feuilles (9,56mg /100 ml) que dans les fleurs (8 ,16mg/100ml).

Pour le lycopène, la différence entre sa teneur dans les feuilles et les fleurs respective à 2,56mg /100ml et 2,83mg /100ml, ne semble pas considérable .

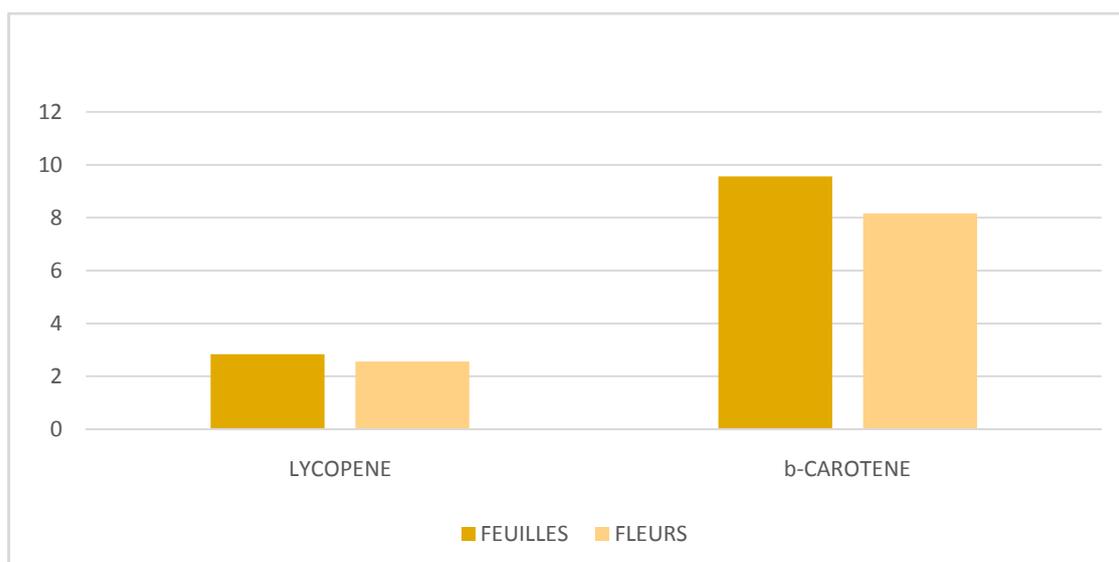


Figure 11 : les taux des caroténoïdes et lycopène dans les extraits de feuilles et de fleurs de *M. sylvestris*.

Nos résultats de caroténoïdes sont dix fois plus importants que ceux obtenus par **Barros *et al.* (2010)** dans les extraits de feuilles (0,19mg /g) et de fleurs (0,03 mg /g) et environ trois fois plus importants que les valeurs trouvées par **Tousiet *al.* (2020)** dans les feuilles de *M. parviflora*(0,53 mg/ g MF).

2. Activité antioxydante

La mise en évidence du pouvoir anti-oxydant de l'extrait méthanolique de mauve a été réalisée par le piégeage du radical libre DPPH*.

Le radical DPPH* est généralement l'un des composés le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité anti-oxydante en raison de sa stabilité en forme radical et la simplicité de l'analyse (**Bozinet *al.*,2008**).

D'après les résultats de la figure 12, nous remarquons que l'extrait de mauve présente une capacité de piégeage de 79% du radical DPPH* à une concentration de 0,8mg/ml d'extrait de fleurs. Cependant, avec la même concentration en extrait des feuilles nous avons obtenu une capacité antioxydante plus faible (A(%)=58%).

Une étude menée par **Marisa *et al.*(2016)** a montré que l'activité antioxydante de l'extrait éthanolique des feuilles de mauve était plus importante où un pourcentage de 43,1% a été

obtenue avec une concentration de 0,1 mg /ml seulement. (l'extrait méthanolique des feuilles de notre plante a donné, selon la figure 12, une activité antioxydante de 20% pour 0,1 mg/ml).

Concernant les valeurs de EC50 déduites à partir du même résultats (figure 12), elles indiquent que l'extrait méthanolique des fleurs (EC50=0,26mg/ml) est deux fois plus efficace à piéger les radicaux libres par rapport à l'extrait des feuilles (EC50=0,42mg/ml).

Un résultat similaire (0,43mg/ml) a été obtenu par **Barros et al., (2010)** avec l'extrait méthanolique des feuilles de mauve, par contre les mêmes auteurs rapportent une EC50 plus élevé pour l'extrait des fleurs 0,55mg / ml.

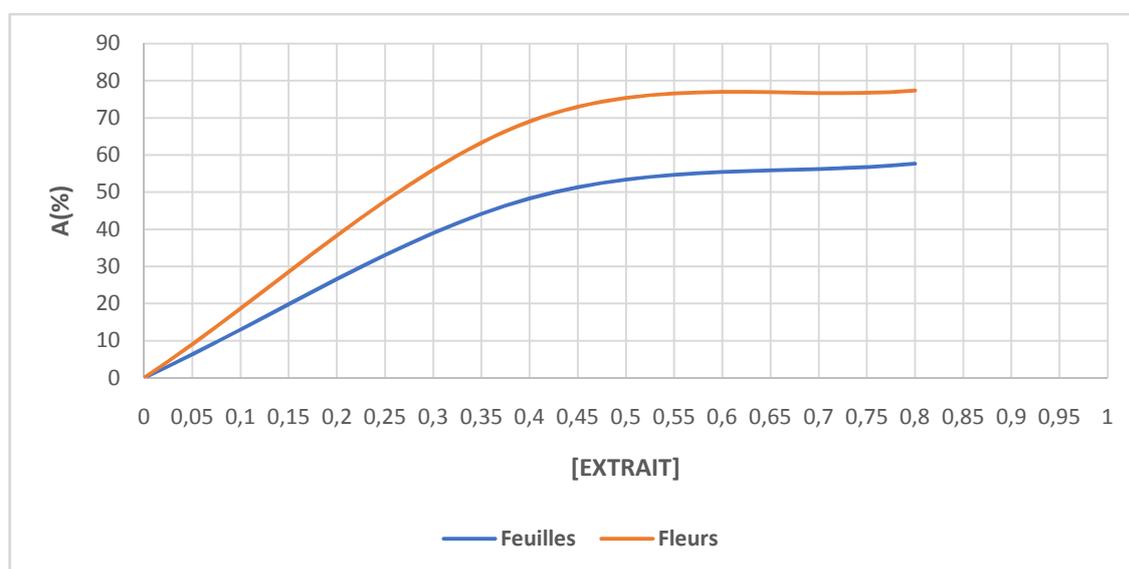


Figure 12 : l'activité antiradicalaire A(%) en fonction des concentrations en extrait méthanolique de mauve (feuilles et fleurs).

Par ailleurs d'autres auteurs ont trouvé des résultats différents avec *M. Sylvestris*. **Irfanet al.(2021)** ont trouvé que l'extrait méthanolique des feuilles était cent fois moins efficace que notre extrait avec une EC50 de 43,20 mg/ ml et **Gasparettoet al.,(2014)** ont trouvé que leur extrait avait une activité antioxydante dix fois faible (4,47 mg/ ml). Par contre, **Tabarakiet al., (2011)** ont obtenu une EC50 plus faible et égale à 0,071 mg/ml par conséquence, leur extrait possède une activité antiradicalaire plus importante.

Chez d'autres légumes verts sauvage, des EC50 plus faibles ont été enregistrée ; par exemple *Montiafontana* (0,22mg/ml), *Boragoofficinalis* (0,07mg/ml) et *Rumex acetosella* (0,03mg/ml)(Pereira *et al.*, 2011).

3. Activité antimicrobienne

Aucune activité antimicrobienne n'a été observée sur les différentes souches de germes cible. Il est à signaler que d'autres étudiants ayant testé des extraits d'une autre plante sur les mêmes souches ont rencontré la même situation ; ce là est du probablement à une résistance nouvellement acquise. Faute de temps et de moyens, nous n'avons pas pu refaire les manipulation pour confirmer ce résultat.

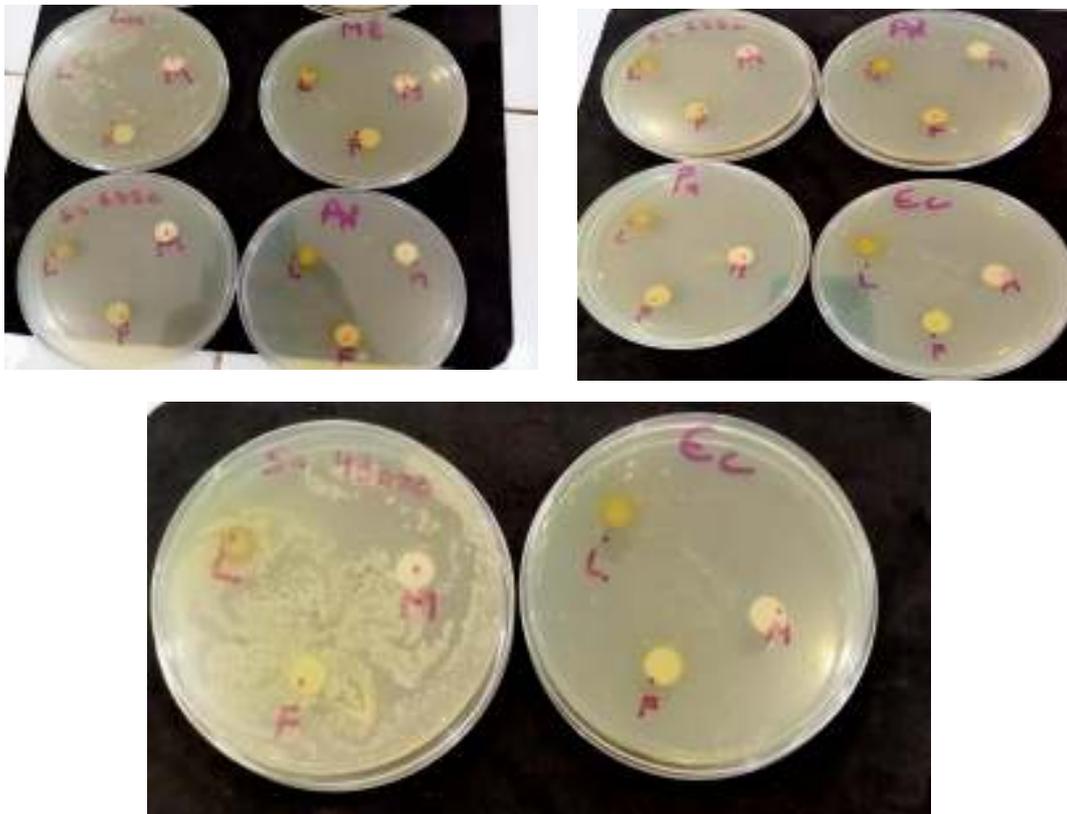


Figure13 : photos des antibiogrammes réalisés avec les extraits de feuilles et de fleurs de *M. sylvestris*.

Conclusion

L'étude de la qualité nutraceutique des feuilles et des fleurs de *Malvasylvestris* L. a été réalisée par l'évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne et par le dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux ; en plus de la chlorophylle a et b et des caroténoïdes.

La détermination de la teneur en polyphénols totaux des différents extraits a été effectuée selon la méthode utilisant le réactif de FolinCiocalteu et a montré que l'extrait méthanolique des feuilles renferme la teneur la plus élevée (17,80mg EAG/g extrait brute) en comparaison avec l'extrait méthanolique des fleurs ((15,89mgEAG/g extraits brute).

Concernant le dosage des flavonoïdes réalisé selon la méthode utilisant le chlorure d'aluminium (ALCL₃), les fleurs ont donné le taux plus élevé (19,59mgEQ/g extrait brut) par rapport aux feuilles (16,21mgEQ/g extrait brut).

Les résultats de la chlorophylle ont montré que les fleurs de mauve renferment une teneur aussi importante que les feuilles en chlorophylle b (0,55 contre 0,50 mg/gMF respectivement).

Les feuilles et les fleurs de mauve contiennent plus de b-carotènes que de lycopène ; cependant, il est plus élevé dans les feuilles (9,56 mg/100ml) que dans les fleurs (8,16mg/ml).

L'activité antioxydante a été évaluée par la méthode de piégeage du radical libre DPPH*, l'extrait de mauve présente une capacité de piégeage de 79% de DPPH* à une concentration de (0,8 mg/ml d'extrait de fleurs) contre une capacité de 58% pour la même concentration en extrait de feuille. De même, les fleurs ont donné une EC₅₀ plus faible (EC₅₀=0,26mg/ml) que les feuilles (Ec₅₀= 0,42mg/ml).

Les deux extraits de feuilles et de fleurs ont montré aucune activité antimicrobienne sur les différents souches de germes cibles.

Les résultats obtenus montrent que *M. sylvestris* constitue un légume vert sauvage de valeur nutraceutique intéressante. Ses feuilles et fleurs sont riches en antioxydant et sont fortement recommandées à la consommation comme une cure pendant la saison du printemps.

Références bibliographiques

- ❖ **Akash MSH., Shen Q., Rehman K., Chen S., (2012).** Interleukin-1 receptor antagonist : aNew therapy for type 2 diabetes mellitus. *Journal of Pharmaceutical Science*, 101 :1647–1658.
- ❖ **Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Vasseur J., Cazin M., Cazin JC., Pinkas M., (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations.
- ❖ **Barros L, Carvalho AM, Ferreira ICFR., (2010).** Leaves, flowers, Immature fruits and leafy flowered stems of *Malva sylvestris* : A comparative study of the nutraceutical potential and Composition. *Food Chem Toxicol* 48 : 1466–1472.
- ❖ **Beghdad M.C., Benammar C., BensalahF., SabriF.Z., BelarbiM., ChematF.,(2014).** Antioxidant activity, phenolic and flavonoid content in leaves, Flowers, stems and seeds of mallow (*Malva sylvestris*L.) from North Western of Algeria. *African Journal of Biotechnology*, 13 (3) : 486-491.
- ❖ **Belzung E., (1900).** Anatomie et physiologie végétales-Félix Alcan éditeur.
- ❖ **BlameyM,& Grey-Wilson C., (1991)**(pour l'édition française) – La Flore d'Europe occidentale – Arthaud.
- ❖ **Buyschaert M., (2006).** Diabétologie clinique-De Boeck Université
- ❖ **Çadırcı E., Süleyman H., Gürbüz P., Kuruüzüm Uz A., Güvenalp Z., Demirezer LÖ., (2012).** Anti-inflammatory effects of different extracts from three *Salvia* species. *Turk J Biol* 36 : 59–64.
- ❖ **Camejo-Rodrigues J.S., Ascensão L., BoneT M.À., Vallès J., (2003).** Anethnobotanicalstudy of medicinal and aromatic plants in the Natural Park of Serra de S. Mamede (Portugal). *J. Ethnopharmacol.* 89, 199–209.
- ❖ **Caretto S., Nisi R., Paradiso A., DeGara L., (2009).** Tocopherol production in plant cell cultures. *Free Rad. Res.* 43, S27–97.
- ❖ **Carvalho, A.M., (2005).**Etnobotánicadel Parque Natural de Montesinho. Plantas, Tradición y saberpopular en un territoriodel nordeste de Portugal. UniversidadAutónoma, Madrid.
- ❖ **Conforti F., Loele G., Statti G.A., Marrelli M., Ragno G., Menichini F.,(2008).** Antiproliferative activity against human tumor cell lines and toxicity test on Mediterranean dietary plants – *Food and Chemical Toxicology*, 46, 3325-3332.)
- ❖ **ConnorW.E., (2000).** Importance of n3 fatty acids in health and disease. *Am. J. Clin.Nutr.* 71, 171S–175S.

Références bibliographiques

- ❖ **Cooper M., Johnson A., (1984).** Poisonous Plants in Britain and their Effects on Animals and Man. H.M.S.O, London.
- ❖ **Coste H., (1901).** Flore descriptive et illustrée de la France, de la Corse et des contrées limitrophes-tome I-Librairie de sciences naturelles, Paul Klincksieck
- ❖ **Couplan F et Debuigne G., (2006).** Petit Larousse des plantes qui guérissent – Larousse.
- ❖ **Couplan F et Doux Y., (1950).** L'album des plantes et des fleurs - Delachaux et Niestlé
- ❖ **Davis PH., (1966).** Flora of Turkey and East Aegean Islands. Vol2. Edinburgh: Edinburgh University Press;. [Google Scholar].
- ❖ **Della Greca M., Cutillo F., D'Abrosca B., Fiorentino A., Pacifico S., Zarrelli A., (2009).** Antioxidant and radical scavenging properties of *Malva sylvestris*. Nat. Prod. Com. 4, 893–896.
- ❖ **Dogan Y., S. Baslar, G. Ay et H.H. Mert., (2004).** The use of wild edible plants in Anatolia (Turkey). Economic Botany, 58 :684-690.
- ❖ **Duraffourd C et Lapraz J.c., (2002).** Traité de phytothérapie clinique Masson.
- ❖ **Echevin R., (1964).** Angiospermes tome 1: Apétales et dialypétales –Doin .
- ❖ **El-Naggar M.E., Hussein J., El-sayed S.M., Youssef A.M., El Bana M, Abdel Latif Y., Medhat D., (2020).** Effet protecteur du yaourt fonctionnel à base de *Malva parvioranana* nanoémulsion d'extrait de feuilles sur la rectocolite hémorragique induite par l'acide acétique chez le rat.
- ❖ **Ferreira A., Proença C., Serralheiro M.L.M., Araújo M.E.M., (2006).** The in vitro Screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of Medicinal plants from Portugal. J. Ethnopharmacol. 108, 31–37.
- ❖ **Fletcher Neil., (2007).** Reconnaître la nature comestible et savoureuse sans peine Nathan
- ❖ **Flores, Maeva., (2011).** *Malva sylvestris* L. et autres mauves de France, Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, Université de NANTES Faculté de pharmacie ,pp.36-184.
- ❖ **Fournier Paul., (1934-1940).** Les quatre fleurs de France –Dunod .
- ❖ **Gasparetto C., Martins C.A.F., Hayashi S.S., Otuky M. F., et Pontarolo R., (2012).** “Ethnobotanical and scientific aspects of *Malva sylvestris* L.: a millennial herbal medicine,” Journal of Pharmacy and Pharmacology, vol. 64, no. 2, pp. 172–189,.
- ❖ **Gasparetto J.C., Martins C.A.F., Hayashi S.S., Otuky M.F., Pontarolo R., (2015).** Ethnobotanical and scientific aspects of *Malva sylvestris* L.: a millennial Herbal medicine. Journal of Pharmacy and Pharmacologie , 64 , pp.172-189.

Références bibliographiques

- ❖ **Ghedira K., Goetz P., (2016).** *Malvasylvestris L.* (Malvaceae): Mauve. Article in *Phytotherapie*, 14:68-72.
- ❖ **Guarrera P.M., Leporatti L.M., (2007).** Ethnobotanical remarks on Central and Southern Italy. *J. Ethnobiol. Ethnomed.* 3, 23.
- ❖ **Guarrera P.M., (2005).** Traditional Phytoterapy in Central Italy (Marche, Abruzzo and Latium). *Fitoterapia*, 76, 1-25.
- ❖ **Guarrera, P.M., (2003) .** Médecine alimentaire et alimentation mineure dans les traditions populaires de Italie centrale (Marche, Abruzzes et Latium). *Fitoterapia* 74, 515-544. Guarrera, P.M.
- ❖ **Gurbuz I, Ozkan AM, Yesiada E, Kutselm O.(2005).** Anti-ulcerogenic activity of some plants used in folk medicine of pinnarbasi. *J Ethnopharmacol ;* 101 :313-318.
- ❖ **Hale A.L., (2003).** Screening potato genotypes for antioxidant activity, identification of the responsible compounds, and differentiating russet norkotah strains using AFLP and microsatellite marker analysis. Office of graduate studies of Texas A&M University. *Genetics*, 260.
- ❖ **Horrobin D.F., (1993).** Fatty acid metabolism in health and disease: the role of D-6-desaturase. *Am. J. Clin. Nutr.* 57, 732S–737.
- ❖ **Hussain L., Ikram J., Rehman K. , Tariq M.(2014).** Hepatoprotective effects of *Malva sylvestris L.* against paracetamol-induced hepatotoxicity. *Turkish Journal of Biology*, 38 : 396-402.
- ❖ **Ip C., Chin S.F., Scimeca J.A., Pariza M.W., (1991).** Mammary cancer prevention by conjugated dienoic derivative of linoleic acid. *Cancer Res.* 51, 6118–6124.
- ❖ **Irfan A., Imran M., Khalid M., Ullah M S., Khalid N., Assiri M A., Thomas S., Muthu R., Raza Basra M A., Hussein M., Al-Sehemi A G., Shahzad M., (2021).** Teneur en phénols et en flavonoïdes dans *Malvasylvestris* et l'exploration de médicaments actifs comme antioxydants et Anti-COVID19 par des études de chimie quantique et d'amarrage moléculaire.
- ❖ **Ito N, Fukushima S, Hasegawa A, Shibata M, Ogiso T., (1983).** Carcinogenicity of butylated hydroxyanisole in F344 rats. *Journal of The National Cancer Institute*, 70, 343-347.
- ❖ **Jeambey Z, Johns T, Talhouk S. et Batal M., (2009).** Perceived Health and medicinal properties of six species of wild edible plants in north-east Lebanon – *Public Health Nutrition* 12(10), 1902-1911.

Références bibliographiques

- ❖ **Jiang Q., Yin X., Lil M.A., Danielson M.L., Freiser H., Huang J., (2008).** Long-chain carboxychromanols, metabolites of vitamin E, are potent inhibitors of cyclooxygenases. Proc. Natl Acad. Sci. U S A., 105, 20464-20469.
- ❖ **João Cleverson G., Cleverson A.F.M., Sirlei S.H., Otuky M.F.,c and Roberto P., (2011).** Ethnobotanical and scientific aspects of *Malva sylvestris L.* : A millennial herbal medicine.
- ❖ **Kalra E.K. (2003).** Nutraceutical-definition and introduction. AAPS PharmSci, 5(3), 27–28.
- ❖ **Kawashima LM et LM Valente Soares. (2003).** Profil minéral des légumes-feuilles crus et cuits Consommé dans le sud du Brésil. Journal of Food Composition and Analysis, 16 :605-611.
- ❖ **Leporatti M.L., Ghedira K., (2009).** Comparative analysis of medicinal plants used in Traditional medicine in Italy. J. Ethnobiol. Ethnomed. 5, 31.
- ❖ **Liang J., Tian Y.-X., Yang F., Zhang J.-P., Skibsted L.H., (2009).** Antioxidant synergism between carotenoids in membranes. Astaxanthin as a radical transfer bridge. Food Chem. 115, 1437-1442.
- ❖ **Locato V., Pinto M.C., Gadaleta C., De Gara L., (2009).** Ascorbate metabolism as critical point for the activation of programmed cell death in plants. Free Rad. Res. 43, S27–97.
- ❖ **Lugasi A., Hóvári J., Sági K.V., Biról., (2003).** The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. Acta. Biol. Szeged., 47, 119-125.
- ❖ **M.-A. Jabri, D. Wannes, N. Hajji, M. Sakly, L. Marzouki, and H. Sebai., (2017).** “Role of laxative and antioxidant properties of *Malva sylvestris* leaves in constipation treatment,” Biomedicine & Pharmacotherapy, vol. 89, pp. 29–35,.
- ❖ **Marisa N., Paula P., Rute F.V., Catarina P.R, Amilcar R., Patricia R., (2016).** Activité antioxydante et teneur en acide rosmarinique des extraits éthanoliques Assistés par ultrasons de plantes médicinales .
- ❖ **Mason P., (2012).** Dietary supplements. 4th ed London : Pharmaceutical Press ;. [6] Santini A, Cammarata SM, Capone G, et al., (2018). Nutraceuticals : opening the debate for a regulatory framework. Brit J Clin Pharmacol ;84 :65972
- ❖ **Molyneux P (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin J. Sci. Technol. 26 (2) : 211-219. Morales, R. (2002) The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. In : *Thyme : the genus Thymus*. Ed. Taylor & Francis, London. Pp. 1-43.)

Références bibliographiques

- ❖ **Moualek I., IratniAiche G., Guechaoui N.M., Lahcene S., Houali K., (2016).** Antioxydant et les activités anti-inflammatoires de Arbousier unedo extrait aqueux.
- ❖ **MozaffarianD., (2005).** Does a-linolenic acid intake reduce the risk of coronary heart disease ? A review of the evidence. *Alt. Therap. Health Med.* 11, 24–30.
- ❖ **Mustafa A, Ali M (2011).** New steroidal lactones and homomonoterpenic glucoside from fruits of *Malva sylvestris L.* *Acta Pol Pharm* 68 : 393–401.
- ❖ **Nagata M., Yamashita I., (1992)..** Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. *Nippon ShokuhinKogyoGakkaish* 39, 925–928.
- ❖ **Natale A., PollioA., (2007).** Plants species in the folk medicine of MontecorvinoRovella (inland Campania, Italy). *J. Ethnopharmacol.* 109, 295–303.
- ❖ **Nehir ES, Karakaya S., (2004).** Radical scavenging and iron-chelating Activities of some greens used as traditionnels dishes in Mediterranean diet. *Int J Food SciNutr* 55 : 67–74.
- ❖ **NevesJ.M., MatosaC., MoutinhoC., Queiroz G., Gomes L.R.,(2009)** Ethnopharmacological notes about ancient uses of medicinal plants in Trás-Os-Montes (northern of Portugal). *J. Ethnopharmacol.* 124, 270–283.
- ❖ **Novais H.M., Santos I., Mendes S., Pinto-Gomes C., (2004).** Studies on pharmaceutical ethnobotany in Arrábida Natural Park. *J. Ethnopharmacol.* 93,183–195.
- ❖ **Pardo M., (2004).** Guia de las plantas medicinales de Cantábria. LibreriaEstúdio, Santander, España.
- ❖ **Pereira C., Barros L., Carvalho A.M., Ferreira I.C.F.R., (2011).** composition and bioactive properties of commonly consumed wild Greens : Potential sources for new trends in modern diets.
- ❖ **Pirbalouti AG, Yousefi M, Heshmetollah N, Karimi I, Koohpayeh A., (2009).** Evaluation of burn healing properties Of Arnehiaeuchroma and *Malva sylvestris*.*Electron J Biol ; 5 :62-66.*
- ❖ **Pstová J. Lasousky J. Vičar J., (2003).** Metal-chelating properties.Electrochemical behaviour, scavenging and cytoprotective activities of six naturel phenolics. *Biomed. papers,* 147, 147-153.
- ❖ **Quarrera P.M.,(2003.)**FoodFood medicine and minor nourishment in the folk traditions of Central Italy (Marche, Abruzzo and Latium). *Fitoterapia* 74, 515–544.

- ❖ **Quave C.L., Pieroni A., Bennett B.C., (2008).** Dermatological remedies in the traditional pharmacopoeia of Vulture-Alto Bradano, inland southern Italy. *J.Ethnobiol. Ethnomed.* 4, 5–6.
- ❖ **Rackova L., Drabikova K., Jancinova V., Perecko T., Smidrka J., Harmatha J., Toth J., Kostalova D., Bezek S., Stefek M., Nosal R., (2009).** Structural aspects of Antioxidant action of selected natural. *Free Rad. Res.* 43, S27–97.
- ❖ **Razavi S.M, Gholamreza Z, Ghader M, Ghader G., (2011).** Bioactivity of *Malva Sylvestris L.*, a Medicinal Plant from Iran.
- ❖ **Ribéreau-Gayon J., Peynaud M., Ribéreau-Gayon P., Sudraud P., (1972).** Sciences et techniques du vin. Tome 1, analyse et contrôle des vins Paris.
- ❖ **Rivera D., Obón de Castro C., (1991).** La guía Incafo de las planta utiles de la Península Ibérica y Baleares. Incafo, Madrid.
- ❖ **Rouy G., (1893-1913).** Flore de France ou description des plantes qui croissent spontanément en France, en Corse et en Alsace-Lorraine-tome IV - Société des Sciences naturelle de la Charente-Inférieure
- ❖ **Sabri FZ, Belarbi M, Sabri S, Alsayadi MMS., (2012).** Phytochemical screening and identification of some compounds from mallow. *J Nat Prod Plant Resour* 2 : 512–516.
- ❖ **Schaffner Willi., (1993).** Les Plantes Médicinales et leurs Propriétés, Manuehd'herboristerie-Delachaux et Niestlé
- ❖ **Shahidi F., Ambigaipalan P., (2015).** Phenolics and polyphenolics in foods, beverages And spices : Antioxidant activity and health effects –A review.
- ❖ **Singleton DL. Orthofer R. Lamuela Raventos RM., (1999).** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent methods enzymol.
- ❖ **Sokmen M., Serkedjieva J., Daferera D., Gulluce M., Polissiou M., Tepe B., Akpulat H. A., Sahin F. & Sokmen A (2004).** In vitro antioxidant, antimicrobial, and antiviral activities of the essential oil and various extracts from herbal parts and callus cultures of *Origanum acutidens*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 52: 3309-3312.
- ❖ **Stahl W., Sies H., (1997).** Antioxidant defense : vitamins E and C and carotenoids. *Diabetes,* 46, S14-S18.
- ❖ **Tabaraki R, Yosefi Z, Gharneh HAA., (2012).** Chemical composition and antioxidant properties of *Malva sylvestris L.* *J Res Agri Sci* 8 : 59–68.
- ❖ **Tabaraki R., Ouiosefi Z., gharneh H.A.U , (2011).** Composition chimique et propriétés antioxydantes de *Malva sylvestris L.*

Références bibliographiques

- ❖ **Télessy I. G. (2019).** Nutraceuticals. The Role of Functional Food Security in Global Health, 409–421.
- ❖ **Tousi S., Zoufan P., Ghahfarrokhi A.R., (2020).** Atténuation de la phytotoxicité induite par le cadmium et amélioration de la croissance par unprétraitement exogène de mélatonine dans la mauve (*Malvaparviflora*) les plantes.
- ❖ **Valnet J., (1992).** Phytothérapie : traitement des maladies par les plantes-6^{ème} édition – Maloine.
- ❖ **Valnet J., (1992).** Phytothérapie: traitement des maladies par les plantes-6^{ème}édition-Maloine
- ❖ **Wang ZY., (2005).** Impact of anthocyanin from *Malva sylvestris* on plasma lipids and free radical. J For Res ; 16 :228-232.
- ❖ **WichtlMax., (2003)**(2^{ème} édition française) – Plantes thérapeutiques : tradition, pratique officinale, science et thérapeutique – Editions Tec & Doc, Editions médicales. Internationale.
- ❖ **Willet WC, Ames BN, Gold LS., (1995).** The causes and prevention of cancer. Proceedings National Academy Science U.S.A., 92, 5258-5265.
- ❖ **ZoufanP., AzadZ., RahnamaGhahfarokhi A., Kolahi M., (2020).** Modification de stress oxydatif par des changements dans certains indicateurs liés au métabolisme phénolique dans *Malvaparviflora L.* exposé au cadmium. Ecotoxicol. Environ. Saf. 187, 109811
- ❖ **ZubayG., (2006).** Biochemistry, fifth ed. Wm. C. Brown Publishers.

Annexes

Annexe 01

Matériel et appareillage utilisé

Appareillage	Verrerie et petits matériel	Réactifs, solvants et milieux de culture
-Agitateur magnétique -Autoclave PBI -Balance de précision -Bec benzène -Centrifugeuse SIGMA -Etuve(mémèrent) -Hotte à flux lumineux verticale. -Micro-onde Rota-vapeur (capillaire) -Spectrophotomètre UV 1601 SHIMADZU -vortex	-Ance de platine. -Ballons -Béchers -Boites de pétri stériles -Burette - cuves -Disques vierges -Ecouvillon -Eprouvettes graduées -Entonnoir -Erlenmeyer -Flacons -Fioles jaugées -Micropipette -Portoirs de tube -Pince -Pipettes gradués -Pipette pasteur -Papier wathman -Tubes à essai	<u>Réactifs et solvants :</u> -Acide gallique (sigma- Aldrich) -Carbonate de sodium Na ₂ CO ₃ (biochemchemopharma) -Chlorure d'aluminium (AlCl ₃) Biochem chemoPharma. -Eau distillé -Eau physiologique -Ethanol -Follin-ciocalteu -Hexane(sigma- Aldrich). -Méthanol CH ₃ OH -Quercitine. (Biochem chemo pharma.) <u>milieux de culture :</u> Gélose nutritive Muller Hinton Sabouraud.

Appareils utilisés



Autoclave.



Balance de précision



Centrifugeuse.



Etuve 25°C



Etuve à 30°C.



Rota-vapeur.



Vortex.



Bec benzène



Spectrophotomètre.



Micro-onde.

Annexe 02**Dilutions des solutions mères d'acide gallique et quercétine.**

Dilution	Concentration [ac gallique] (ppm)	Volume
1*(SM)	250	
2*	125	5ml de SM/5ml ED
4*	62,5	2,5ml de SM/7.5ml ED
8*	31,25	1,25ml de SM/8,75ml ED
10*	25	1ml de SM/9ml ED

SM : solution mère

ED : eau distillée

A partir de la solution mère de 50 ppm on prépare les dilutions suivants :

Dilution	Concentration [quercétine] (ppm)	Volume
1*(SM)	50	
2*	25	5ml de SM/5ml ED
4*	12,5	2,5ml de SM/7.5ml ED
8*	6,25	1,25ml de SM/8,75ml ED
10*	5	1ml de SM/9ml ED

SM : solution mère.

ED : eau distillé

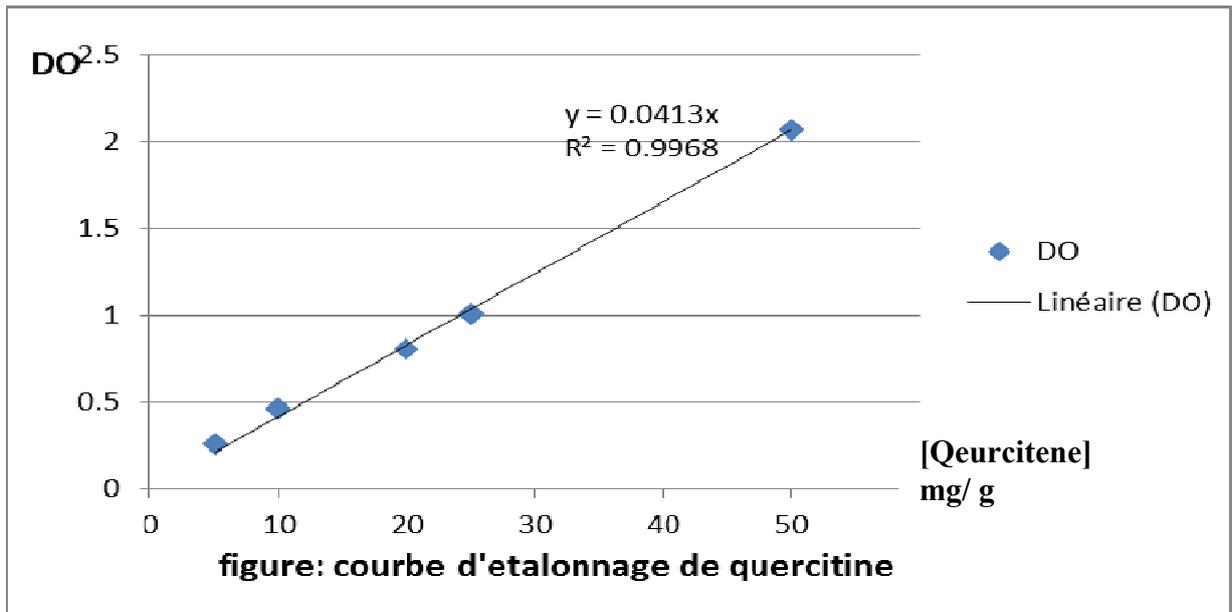


Figure 01 : courbe d'étalonnage de la quercitine pour le dosage des flavonoïdes totaux.

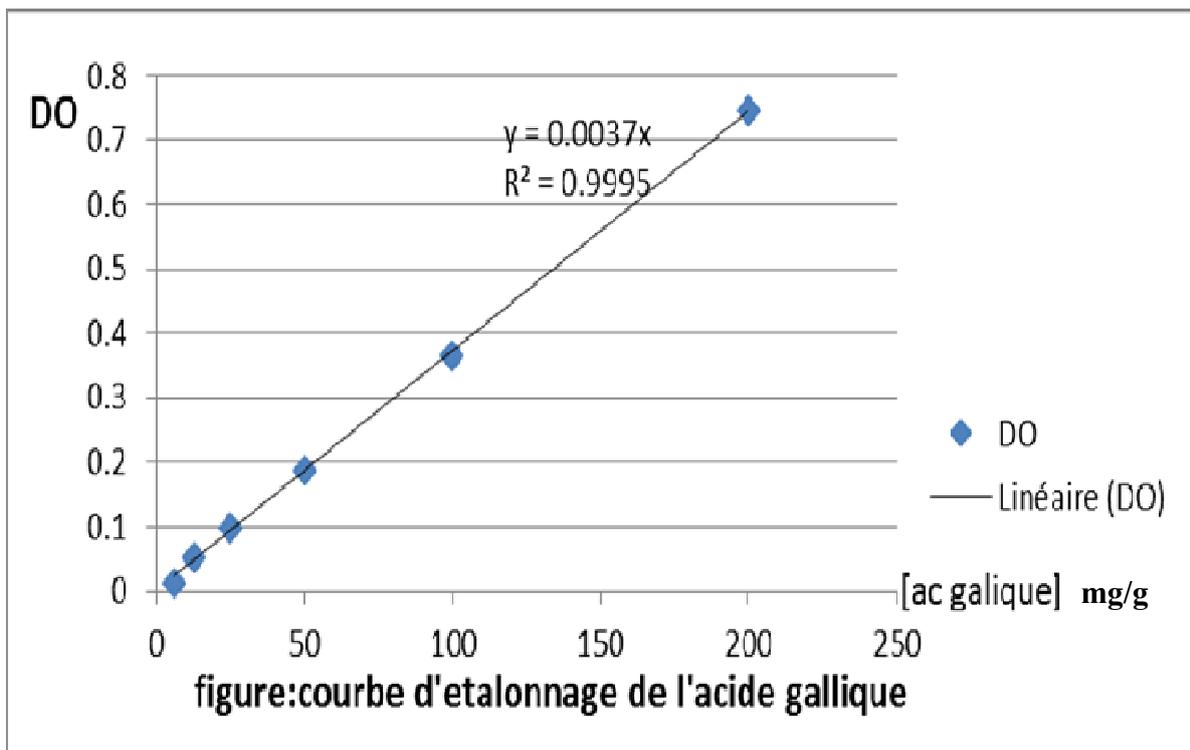


Figure 02 : courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

Annexe 03

Préparation des solutions

Dosage des polyphénols totaux

Préparation de la solution mère d'acide gallique

- ✓ Préparer la solution mère de l'acide gallique à une concentration de 200 ppp :
- Dans une fiole Faire dissoudre 25mg d'acide gallique dans 100ml d'eau distillée.
- Agiter jusqu'à dissolution complète .
- ✓ Préparer des dilutions à 20, 40, 60, 80 et 100 ppm à partir de la solution mère d'acide gallique .

Dosage des flavonoïdes

Préparation de solution mère de la quercitine

- ✓ Préparer la solution mère de la quercitine à une concentration de 200 ppm :
- Dans une fiole Faire dissoudre 5 mg de la quercitine dans 100ml d'eau distillée.
- Agiter jusqu'à dissolution complète.
- ✓ Préparer des dilutions à 20, 40, 60, 80 et 100 ppm à partir de la solution mère de la quercitine.

Préparation de la Na₂CO₃ :

- Peser 20 gr de carbonate de sodium et mélanger avec l'eau distillée.
- Compléter le volume jusqu'à 100ml.
- Agiter pendant quelques minutes à l'aide d'un vortex.

Préparation de réactif follin-ciocalteu 10 fois dilué :

- Prendre un volume de 1ml de follin-ciocalteu.
- Ajouter un volume de 9ml de l'eau distillé.
- Agiter pendant quelques minutes à l'aide d'un vortex.

Annexe 04

Préparation l'extraction pour les dosages et les antioxydants.



Séchage les feuilles et les fleurs.



Broyage de les feuilles.



préparation de les extraits.



Extrait sec.



Extrait méthanolique.

Tableau 03 : Reconstitution des extraits pour l'activité antioxydant.

Echantillons	Poids de poudre (g)	Poids de l'extrait (g)	Volume de méthanol ajouté ml
Feuilles	8	1,03	160
Fleurs	4	0,424	80