



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET
POPULAIRE



MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET
DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE -BLIDA-1

Département de Biotechnologie

MEMOIRE

De fin d'études en vue de l'obtention de

Diplôme de Master II

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Option : Biotechnologie et Valorisation des Plantes

Thème

Evaluations de quelques effets thérapeutiques des extraits de Malva sylvestris.

Réalisé par :

Guessaimi chafia

Ghesmoune wissem

Devant les membres de jury :

BELGUENDOZ R.

MCA

USDB

Présidente

AYACHI N.

MAA

USDB

Examinatrice

CHEBATA N.

MAA

USDB

Promotrice

Année Universitaire 2017 -2018

Résumé

La présente étude a été menée dans le but de valoriser *Malva sylvestris* et exploiter les composés polyphénoliques et le mucilage de cette espèce dans le domaine thérapeutique. Le mucilage été extrait a partir des fleurs fraîches récoltées au niveau de la région de Blida. Le rendement est de 1.73%. Les composés phénoliques ont été obtenus à partir des feuilles récoltées au niveau de deux stations Blida et Jijel. L`extrait d`acétate d`éthyle (EA) a donné le rendement le plus élevé, de l`ordre de 0.6% au niveau de la région de Blida. Un rendement de 0.4% a été retrouvé pour l`extrait de diéthyl éther (ED) et l`extrait chloroformique (EC) au niveau de la région de Jijel. Le dosage des composés phénoliques a révélé que l`ED est l`extrait le concentré (1.25 mg EAG/g MS), au niveau de région de Jijel. Pour la station de Blida, c`est l`ED qui renferme la teneur la plus importante en polyphénols totaux avec 0.093mg EAG/g MS. L`activité antimicrobienne a été testée, par la méthode de diffusion sur milieu solide, sur six souches bactériennes: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsilla pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* et *Bacillus subtilis* et deux souches fongiques *Aspergillus niger* et *Candida albicans*. Le mucilage présente une forte action sur *S. aureus* pour les concentrations 7.5mg/ml, 10mg/ml et 15mg/ml avec des diamètres des zones d`inhibition de la croissance bactérienne (ZI) qui varient entre 20mm et 29mm. La même souche a manifesté une sensibilité extrême vis-à-vis des extraits, EA, ED et EC, avec des zones d`inhibitions allant de 36mm à 52mm pour la région de Jijel. Concernant la région Blida. *E. faecalis* s`est montré extrêmement sensible pour l`EC avec ZI=36mm. *C. albicans*, par contre, s`est avérée très résistante pour tous les extraits au niveau des deux régions.

Mots clés : *Malva sylvestris*, activité antimicrobienne, le mucilage, polyphénols totaux, solvants.

Abstract

The present study was conducted with the aim of promoting *Malva sylvestris* and exploiting the polyphenolic compounds and the mucilage of this species in the therapeutic field. Mucilage was extracted from fresh flowers harvested in the region of Blida. Mucilage was extracted from fresh flowers harvested in the region of Blida. The yield is 1.73%. The phenolic compounds were obtained from the leaves harvested at two Blida and Jijel stations. Ethyl acetate (EA) yielded the highest yield, in the range of 0.6% in the Blida region. A yield of 0.4% was found for the diethyl ether extract (ED) and the chloroform extract (EC) at the Jijel region. The determination of the phenolic compounds revealed that the ED is the concentrate extract (1.25 mg EAG / g MS), at Jijel region. For the Blida station, it is the ED that contains the highest content of total polyphenols with 0.093 mg EAG / g DM. The antimicrobial activity was tested by the solid medium diffusion method on six bacterial strains: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsilla pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* and *Bacillus subtilis* and two fungal strains *Aspergillus niger* and *Candida albicans*. Mucilage has a strong action on *S. aureus* for concentrations 7.5mg / ml, 10mg / ml and 15mg / ml with diameters of zones of inhibition of bacterial growth (ZI) which vary between 20mm and 29mm. The same strain showed extreme sensitivity towards EA, ED and EC extracts, with areas of inhibition ranging from 36mm to 52mm for the Jijel region. Regarding the Blida region. *E. faecalis* was extremely sensitive for EC with ZI = 36mm. *C. albicans*, on the other hand, was very resistant to all extracts in both regions.

Key words: *Malva sylvestris*, antimicrobial activity, mucilage, total polyphenols, solvents.

ملخص

وقد أجريت هذه الدراسة من أجل تعزيز *Malva sylvestris* , واستغلال المركبات الفينولية والصمغ من هذا النوع في هذا المجال العلاجي. تم استخراج الصمغ من الزهور الطازجة التي تم حصادها في منطقة البلدية. العائد هو 1.73 ٪. تم الحصول على المركبات الفينولية من الأوراق المحصودة في محطتي البلدية وجيجل. مستخلص EA أعطى أعلى محصول، نحو 0.6٪ في منطقة البلدية. تم العثور على العائد من مستخلص EC و ED 0.4٪ في جيجل. وجدت جرعة من ED أكثر تركيزا (1.25 mg EAG/g MS)، في جيجل.

في محطة البلدية هو ED الذي يحتوي على أكبر محتوى البوليفينول الكلي مع 0.093mg EAG/g MS .

تم تحديد نشاط مضادات الميكروبات من طريقة نشر على وسط صلب، ستة سلالات بكتيرية: الإشريكية القولونية، الزائفة الزنجارية، *Klebsilla* الرئوية، المكورات العنقودية الذهبية، المكورات المعوية البرازية والعصوية الرقيقة واثنين من سلالات فطرية الرشاشيات النيجر والمبيضات البيض.

الصمغ لديه عمل قوي على *Staphylococcus aureus* للتركيز 7.5mg/ml, 10mg/ml et 15mg/ml بأقطار من المناطق التثبيطية للنمو البكتيري تتراوح ما بين 20mm و 29mm. وقد أظهرت السلالة نفس الحساسية المفرطة ،

EA، ED و EC، مع المناطق التثبيطية بدءا من 36mm إلى 52mm لجيجل. فيما يتعلق بمنطقة البلدية. كان *E. faecalis* شديد الحساسية بالنسبة لـ EC مع $ZI = 36mm$ أما *Candida albicans* ، من ناحية أخرى ، فقد كان مقاومًا للغاية لجميع المستخلصات في كلتا المنطقتين.

الكلمات المفتاحية: سيفيستريس مالفا، والنشاط المضادة للميكروبات، الصمغ، وإجمالي البوليفينول والمذيب.

Remerciement

Tout d'abord nous tenons surtout à adresser nos plus vifs remerciements à notre promotrice **Mme Chebata N**, Maître de conférences qui nous a fait l'honneur de réaliser ce travail sous sa direction, pour sa grande patience, pour sa disponibilité et ses conseils judicieux. Nous remercions **Mme Belguendouz R**, Professeur à la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'université de Blida-1- d'avoir accepté de présider le jury.

Nous remercions **Mme Ayachi**, Maître Assistant A d'avoir accepté de juger ce modeste travail et participer au jury.

Nous remercions **Mme Mohamed ouali**, d'avoir accepté notre invitation et pour leur orientation.

Nous remercions **Mme fatma zohra**, ingénieur de laboratoire de recherche des plantes médicinales et aromatiques.

Nous remercions **Ms Djamel et Mme Selma**, de laboratoire hygiène de Blida pour accepter notre demande et nous aider durant la période de stage.

Nous remercions **Ms Maalam abedelrahman**, ingénieur de laboratoire biotechnologie végétales.

Nous remercions **Mme chafika**, ingénieur de laboratoire pédagogique de biologie végétale.

Nous remercions toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Un grand merci à tous.

Chafia & Wissem

Je Dédie ce modeste travail

*A mon cher père **HAMID**, pour tous leurs sacrifices,
leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout
au long de mes études Que dieu me le garde.*

*A ma chère mère **FATIHA**, symbole de soutien moral,
et mon succès Que dieu me la garde.*

*A mes chères sœurs et mes chers frères
et mes nièces et mes neveux, qui je souhaite beaucoup de
succès dans leurs vie.*

*A mon binôme **WISSEM** et toute la famille **GHESMOUN**.*

*A ma chère copine **IBTISSEM MEKDAD** que je
le souhaite une très belle vie.*

*A mes meilleurs amis **NARDJES, FATIMA,
SARA, WAFIA, MERIEM** Qui je le souhaite
une pleins de succès et d'Amour.*

*Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin
pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.*

CHAFIA

Je Dédie ce modeste travail

*A mon cher père **AYACH**, pour tous leurs sacrifices,
leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout
au long de mes études Que dieu me le garde.*

*A ma chère mère **AICHA**, symbole de soutien moral,
et mon succès Que dieu me la garde.*

*A me sœur **LILIA** que je la souhaite pleins de reussite de sa vie.*

A mes frères :

***RAOUF ,HOUSSEM, ALILO ET MOHAMED YACINE**
Qui Je les souhaite beaucoup de succès dans leur vie.*

*A mon binôme **CHAFIA** et toute la famille **GUESSAIMI***

*mes meilleurs amis **ABLA ET IBTISSEM**
Qui je le souhaite une pleins de succès et d'Amour.*

Toute personne qui m'aime et que j'aime.

Waissem

Sommaire

Introduction	1
Synthèse bibliographique	
1. Malva sylvestris	2
1.2. Description botanique	2
❖ Racine.....	2
❖ Tige.....	2
❖ Feuilles.....	3
❖ Les fleurs.....	3
❖ Le fruit.....	3
1.3. Systématique	4
1.4. Dénomination	4
1.5. Compositions chimique	4
❖ Les minéraux.....	4
❖ Les vitamines.....	5
❖ Les macronutriments.....	5
❖ Les mucilages.....	5
❖ Les composés phénoliques.....	5
1.6. Propriété de mucilage	5
1.7. Intérêt thérapeutique	6
2. Les composés phénoliques.....	6
2.1. Généralités	6
2.2. Différentes classes	7
2.2.1. Les flavonoïdes	7
2.2.2. Les acides phénoliques	7
2.3. Rôles pour la plante.....	7
2.4. Effets Biologiques	8
3. Activité Antimicrobienne.....	8
3.1. Les antibiotiques	8
3.2. Les substances d'origine végétale.....	8
Matériels et méthodes	
1. Matériels.....	9

1.1. Matériel végétal.....	9
1.2. Matériel microbien.....	9
2. Méthodes.....	9
2.1. Récolte.....	9
2.2. Séchage et broyage des feuilles.....	10
2.3. Extraction du mucilage	10
2.4. Extraction des polyphénols.....	10
❖ Macération hydrométhanolique.....	10
❖ Extraction à l'eau chaude.....	11
❖ Extraction liquide / liquide.....	11
<i>Affrontement par le chloroforme</i>	11
<i>Affrontement par l'éther diéthylique</i>	12
<i>Affrontement par l'acétate d'éthyle</i>	12
<i>Affrontement par le n-butanol</i>	12
2.5. Dosage des polyphénols totaux	12
2.6. Calcul des rendements	13
2.7. Etude du pouvoir antimicrobien	14
❖ Préparation des milieux de culture.....	14
❖ Préparation de l'inoculum.....	14
❖ Ensemencement.....	14
❖ Antibiotique et antifongique.....	15
❖ Dépôt des disques.....	15
❖ Incubation et lecture.....	15
Résultats et discussion	
1.Détermination du rendement en mucilages.....	16
2.Rendement en polyphénols totaux.....	16
3.Teneurs en polyphénols totaux.....	17
4.Evaluations de l'activité antimicrobienne des différents extraits.....	19
4.1. Les mucilages.....	19
4.2. Les polyphénols totaux.....	21
Conclusion	23
Référence bibliographique	25

Annexes

Liste des figures

Figure 1	Racine de la mauve sylvestre.	2
Figure 2	Tige de la mauve sylvestre.	2
Figure 3	Feuille de la <i>Malva sylvestris</i> .	3
Figure 4	Fleur de la <i>Malva sylvestris</i>	3
Figure 5	Fruits (schizocarpes) de la <i>Malva sylvestris</i> .	4
Figure 6	Rendements en polyphénols totaux (mg EAG / g MS) au niveau des différents extraits des feuilles de <i>Malva sylvestris</i> .	17
Figure 7	Teneur en polyphénols totaux (mg EAG / g MS) au niveau des différents extraits des feuilles de <i>Malva sylvestris</i>	18
Figure 8	Effet antimicrobien du mucilage des fleurs fraîches de <i>M. sylvestris</i> sur les souches testées au niveau de la station de Blida.	20
Figure 9	Effet antimicrobien des polyphénols totaux des différents extraits de feuilles de <i>M. sylvestris</i> sur les souches testées, au niveau des deux stations.	21
Figure 10	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux	Annexe (4)
Figure 11	Présente la croissance de la souche <i>Staphylococcus aureus</i> dans la concentration 15 mg/ml pour le mucilage.	Annexe(5)
Figure 12	Présente la sensibilité sur <i>Bacillus subtilis</i> et <i>Staphylococcus aureus</i> pour l'ED avec une zone d'inhibition dans la région de Blida.	Annexe (6)
Figure 13	Présente une sensibilité sur <i>Bacillus subtilis</i> et <i>Staphylococcus aureus</i> pour l'EC avec une zone d'inhibition au niveau de la région de Blida.	Annexe (6)
Figure 14	Présente une sensibilité sur <i>Staphylococcus</i> pour l'EC avec une zone d'inhibition au niveau de la région de Jijel.	Annexe (7)

Figure 15	Présente une sensibilité <i>Staphylococcus.aureus</i> pour l'EA avec une zone d'inhibition au niveau de la région de Jijel.	Annexe (7)
Figure 16	Ne présente aucune sensibilité sur <i>pseudomonas airuginosa</i> pour l'EA au niveau de la région de Blida	Annexe (8)
Figure 17	Présente une sensibilité sur <i>Bacillus subtilus</i> pour l'EA avec une zone d'inhibition au niveau de la région de Jijel	Annexe (8)
Figure 18	Présente une sensibilité sur <i>Aspergillus niger</i> pour l' EB et aucune sensibilité sur <i>Candida albicans</i> pour tout l'extraits.	Annexe (9)

Liste des tableaux

Tableau1	Souches microbiennes utilisées pour le test antimicrobien des extraits de fleurs et feuilles de <i>M. sylvestris</i> .	9
Tableau2	Rendement en mucilage extrait à partir des fleurs fraîches de <i>Malva sylvestris</i> , récoltée au niveau de région de Blida.	16
Tableau 3	Rendements en polyphénols totaux (mg EAG / g MS) au niveau des différents extraits des feuilles de <i>Malva sylvestris</i> .	Annexe (1)
Tableau 4	Teneur en polyphénols totaux (mg EAG / g MS) au niveau des Différent extraits des feuilles de <i>Malva sylvestris</i> .	Annexe (1)
Tableau 5	Effet antimicrobien du mucilage des fleurs fraîches de <i>M. sylvestris</i> sur les souches testées au niveau de la station de Blida.	Annexe (2)
Tableau 6	Effet antimicrobien des polyphénols totaux des différents extraits de feuilles de <i>M. sylvestris</i> sur les souches testées, au niveau des deux stations.	Annexe (3)

Malgré les progrès spectaculaires dans les recherches pharmaceutiques, l'apparition et le développement de bactéries résistantes aux antibiotiques est devenu un défi médical mondial. En effet, selon l'OMS, plus de 1.4 million de personnes dans le monde sont victimes d'infections nosocomiales provoquées par des bactéries résistantes aux traitements et contractées lors des soins médicaux (Jones et Dangl, 2006; Gibbons *et al.*, 2008).

Par ailleurs, l'utilisation de ces antibiotiques est souvent associée à des effets secondaires, y compris des allergies, suppression de l'immunité et hypersensibilité (Iqbal *et al.*, 1998). De ce fait, l'évaluation des propriétés phytopharmaceutiques et antimicrobiennes demeure une tâche très intéressante et utile, en particulier pour les plantes d'une utilisation moins fréquente dans la médecine traditionnelle (Teixeira da Silva, 2004).

Le règne végétal représente une source importante d'une immense variété de molécules bioactives. Cette matière végétale contient un grand nombre de molécules qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie alimentaire, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composés on retrouve, les alcaloïdes, les terpènes, les coumarines, les acides phénoliques, les tanins et les flavonoïdes (Baharun *et al.*, 1996).

A cet effet, nous nous sommes intéressées à l'une des espèces de la famille des Malvacées, *Malva sylvestris*, connue en Algérie sous le nom ; Khoubeiz ou Amedjir. Elle est malheureusement très peu étudiée, notamment en Algérie, malgré les propriétés bénéfiques qu'elle possède dans différents domaines, particulièrement par leurs feuilles et les fleurs qui sont indiquées pour leurs propriétés antimicrobiennes qui permettent l'inhibition des souches microbiennes (Barros, 2010).

L'objectif principal de cette étude est de valoriser cette plante dans le domaine thérapeutique, en mettant en évidence l'effet antimicrobien de ces extraits à savoir, les composés polyphénoliques des feuilles et le mucilage des fleurs.

1. *Malva sylvestris*

1.1. Habitat

Malva sylvestris est une espèce très commune que l'on rencontre facilement à l'état sauvage. Aït Youssef (2006), indique que la mauve sylvestre est rencontrées principalement dans les friches, les lieux incultes les prés et sur le bord des chemins. Elle pousse surtout dans les décombres, les champs et les cultures, la mauve se développe dans les régions humides.

1.2. Description Botanique

☐ Racine

La grande mauve possède une racine pivotante. La racine principale est fusiforme, de couleur blanche, forte et riche en mucilage. Les autres racines ne sont que de discrètes radicelles (fig. 1)



Figure 1. Racine de la mauve sylvestre (Flores, 2009)

☐ Tige

La tige de la mauve sauvage est ronde et velue (fig. 2). Elle est rameuse et ligneuse à la base et peut mesurer de 2 à 70 cm de long.



Figure 2. Tige de la mauve sylvestre (Flores, 2009)

☐ Feuilles

Les feuilles de la mauve sylvestre mesurent jusqu'à 12 cm de long et 15 cm de large. Elles sont palmatilobées avec des lobes disposés en éventail et à bords dentés. La plupart des feuilles ont à 5 lobes, mais ce nombre peut varier de 3 à 7 par feuille (fig. 3).



Figure 3. Feuille de la *Malva sylvestris* (Flores, 2009)

☐ Les fleurs

Elle possède des fleurs de couleur rose pourprée. Elles sont portées par de courts pédicelles et regroupées en bouquet de deux ou plus. Les fleurs prennent naissance soit à l'aisselle des feuilles supérieures (fascicules axillaires), soit à l'extrémité des rameaux.



Figure 4. Fleur de la *Malva sylvestris* (Flores, 2009)

☐ Le fruit

Il prend la forme d'une meule de fromage en part (fig. 5). C'est ce qui lui a donné le nom populaire de fromageon ou fromage, à la mauve sylvestre. Il est souvent consommé par les enfants.



Figure 5. Fruits (schizocarpes) de la *Malva sylvestris* (Flores, 2009)

1.3. Systématique

Selon Angiosperm Phylogeny Group (2003), la grande mauve est classée comme suit

Règne:	Plantae
Embranchement:	Spermaphytes
Classe:	Dicotylédones
Ordre:	Malvales
Famille:	Malvacées
Genre:	Malva
Espèce:	<i>Malva sylvestris</i>

1.4. Dénomination

Plusieurs dénominations ont été attribuées à *Malva sylvestris*, selon (Wichtl, 2003)

- **Nom français:** Mauve ou fromage
- **Nom anglais:** Mallow
- **Nom arabe:** Khobeiza
- **Nom berbère:** Amdjir

1.5. Compositions chimique

Les principales molécules présentes chez les mauves sont les mucilages, les composés phénoliques tels que les flavonoïdes et les tanins. Elles sont également riches en sels minéraux (Calcium, Magnésium, Fer) et en vitamines.

➤ Les minéraux

Parmi les macroéléments essentiels identifiés, le potassium (K) dont la concentration est de 308 mg/kg. On trouve aussi dans la mauve des oligo-éléments essentiels comme le cobalt, du fer (Fe), du bore (B), du calcium (Ca), et du cuivre (Cu).

➤ Les vitamines

On a retrouvé de l'acide ascorbique (vitamine C), du Tocophérol (Vitamine E), des provitamines A et des vitamines B12, B1, B2, PP (Couplan et Styner, 1994; Hiçsönmez et *al.*, 2009; Barros et *al.*, 2010).

➤ Les macronutriments

22 acides gras ont été identifiés dans la mauve sylvestre. Ce sont des acides gras saturés, des acides polyinsaturés et des acides gras mono-insaturés. Les lipides présentent la plus grande quantité et sont représentés par le Ω -3: l'acide α -linoléique (C18:3), l'acide palmitique (C16:0) et un Ω -6, l'acide linoléique (C18:2) (Barros et *al.*, 2010).

Les tiges fleuries sont les plus riches en eau avec 77,26 g /100g. Alors que les fruits immatures sont les moins riches en eau. Les hydrates de carbones sont les macronutriments les plus abondants, ils dépassent 70g/100g).

➤ Les mucilages

Les feuilles et les fleurs de *Malva sylvestris* contiennent des mucilages dans des proportions différentes. Ils sont également présents dans les tiges et les racines.

Ce sont des associations d'acides uroniques et d'oses unis entre eux par des liaisons osidiques, le groupement carboxyle restant libre (Golse, 1955).

Selon Ahtardjeff et Koleff (1961) ont identifié les oses des mucilages bruts des fleurs comme étant l'acide galacturonique, le rhamnose, le galactose et l'arabinose. Il existe également du glucose et du xylose.

➤ Les composés phénoliques

Ils sont retrouvés chez la mauve, ils sont représentés par les acides phénols, les flavonoides comme les anthocyanes et des anthocyanidines dont la génine est soit la delphinidine, soit la malvidine et les tanins. Ces derniers se localisent dans tous les organes de la mauve, les feuilles, les fruits, les racines et les graines (Flores, 2011)

1.6. Propriété de mucilage

Les mucilages sont des macromolécules osidiques insolubles dans l'eau. Ils gonflent au contact de l'eau mais ne s'y dissolvent pas entièrement, formant des solutions colloïdales (Nougarède, 1969; Bruneton, 1999; Beille

,1925). Les nombreux groupements hydroxyles et les fonctions acides permettent de former des liaisons hydrogènes, cela forme un réseau tridimensionnel à l'origine de la formation d'un gel hydrophile. Ce sont des propriétés de gélification qui confèrent leur côté adoucissant et émollient aux mucilages de *Malva sylvestre* (Guignard, 1985; Morel, 1958).

1.7. Intérêt thérapeutique

Selon Flores (2011); Benzanger-Beauquesne et *al.* (1961); Barros et *al.* ;(2010), ce sont les fleurs et les feuilles qui sont les plus utilisées du fait de leurs propriétés émollientes et adoucissantes grâce au mucilage qu'elles contiennent. Elles possèdent aussi des actions anti-inflammatoires, dans les inflammations des muqueuses qu'elles soient respiratoires, urinaires, intestinales ou buccales.

La mauve a des actions laxatives, elle est indiquée dans: la constipation chronique (atonique ou spasmodique), les colites et entérocolite, la diarrhée et l'ulcère.

Malva sylvestris est utilisée traditionnellement pour traiter les dermatoses (comme l'eczéma, l'acné, la rosacée ou couperose), les dartres, les coups de soleil, les furoncles, les phlegmons, les irritations du visage, les plaies, les brûlures, les abcès et les piqûres d'insectes en particulier de guêpes.

Elle agit également contre les maladies infantiles comme la rougeole, la scarlatine, la variole (Ticli, 1999; Valnet, 1992; Wichtl, 2003; Jabeen et *al.*, 2009; Barros et *al.*, 2010; Guarrera et *al.*, 2005).

2. Les composés phénoliques

2.1. Généralités

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux, caractérisés par la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins à un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction tels que: éther, ester, hétéroside...etc. (Bruneton, 1999; Lugasi et *al.*, 2003).

Les principales classes de composants phénoliques sont: les acides phénoliques (acide caféique, acide hydroxycinnamique, acide chlorogénique), les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols, les tanins, et les coumarines (King et Young, 1999; Tapiero et *al.*, 2002).

Les polyphénols sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs: racine, tiges, feuilles, fleurs, fruits (Boizot et Charpentier, 2006).

2.2. Différentes classes

2.2.1. Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Seyoum et *al.*, 2006), ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. A l'état naturel les flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme d'hétérosides (Bruneton, 1999; Ghestem et *al.*, 2001).

2.2.2. Les acides phénoliques

Ces composés sont universellement rencontrés chez les plantes. Deux sous-groupes peuvent être distingués:

- Les acides hydrox benzoïques, dont les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acide gallique.
- Les acides hydroxycinnamiques, dont les plus abondants sont l'acide caféique et l'acide férulique. (Macheix et *al.*, 2006).

2.3. Rôles pour la plante

Une des fonctions majeures des flavonoïdes est de contribuer à la couleur des plantes notamment celle des fleurs. Or, c'est par la couleur de ses fleurs que la plante exerce un effet attracteur sur les insectes et les oiseaux pollinisateurs, assurant par ce biais une étape fondamentale de sa reproduction.

Ils jouent un rôle dans la protection des plantes, en repoussant certains insectes par leur goût désagréable Certains d'entre eux sont considérés comme des Phytoalexines, c'est-à-dire des métabolites que la plante synthétise en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries (Maillard, 1996). En effet, la capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des micro- organismes est souvent corrélée avec sa teneur en composés phénoliques (Bahorun, 1997).

Les flavonoïdes montrent d'autres fonctions intéressantes dans le contrôle de la croissance et du développement des plantes en interagissant d'une manière complexe avec les diverses hormones végétales de croissance.

De plus, Les composés phénoliques jouent un rôle important dans la qualité organoleptique des fruits et légumes, utilisés frais ou après transformation industrielle (Fukai *et al.*, 1991).

2.4. Effets Biologiques

Les composés phénoliques montrent des activités anti-carcinogènes, anti-inflammatoires, antiathérogènes, anti-thrombotiques, analgésiques, antibactériennes, antivirales, anticancéreuses (Babar *et al.*, 2007), anti-allergènes, vasodilatatrices (Fallen *et al.*, 2008) et antioxydantes (Gomez-Caravaca *et al.*, 2006).

3. Activité Antimicrobienne

Yala *et al.* (2001), citent que les infections bactériennes sont causées par différents micro-organismes. De nombreux antibiotiques sont développés pour les traiter:

3.1. Les antibiotiques

Au sens strict, ce sont des produits élaborés par des micro-organismes, mais sont inclus généralement parmi eux les dérivés semi-synthétiques et les produits entièrement synthétiques. La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques qui inhibent sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries, sans exercer habituellement d'effets toxiques pour les organismes supérieurs. Cette propriété les distingue des antiseptiques (Bergogne- Berezinet Dellamonica, 1995).

3.2. Les substances d'origine végétale

Plusieurs études *in vitro* et *in vivo* ont été focalisées sur l'évaluation des propriétés antimicrobienne des polyphénols. Cet effet est certain et démontré par de nombreuses recherches expérimentales. Les études du pouvoir inhibiteur des flavonoïdes sur la croissance bactérienne ont démontré que de nombreux composés flavoniques (apigénine, kaempferol et d'autres) sont dotés d'un effet sur les souches fongiques et différentes souches bactériennes à Gram négatif et Gram positif.

En effet, le mécanisme de toxicité des polyphénols peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhésines microbiennes, les protéines de transport et l'enveloppe cellulaire (Valsaraj *et al.*, 1997; Cowan, 1999; Wächter *et al.*, 1999; Ulanowska *et al.*, 2007).

Notre expérimentation a été réalisée sur une période de cinq mois de février à Juin, 2018.

Elle a été effectuée au sein du :

- Laboratoire de Recherche des Plantes Médicinales et Aromatiques, Département de Biotechnologie, Université Saad Dahlab, Blida1, pour l'extraction des polyphénols.
- Laboratoire d'Hygiène de référence de la Wilaya de Blida.

1. Matériel

1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de fleurs fraîches de *Malva sylvestris*, cueillies dans la région de Blida et de feuilles récoltées au niveau des régions de Blida et Jijel.

1.2. Matériel microbien

Nous avons utilisé pour l'évaluation de l'effet antimicrobien des différents extraits, huit souches microbiennes de références ATCC. Six souches bactériennes dont trois Gram⁺ et trois Gram⁻ et deux souches fongiques (tableu1). Elles nous ont été fournies par le Laboratoire d'hygiènes de Blida.

Tableau1 : Souches microbiennes utilisées pour le test antimicrobien des extraits de fleurs et feuilles de *M. sylvestris*.

Les microorganismes	Références	Gram
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	Gram ⁻
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	Gram ⁻
<i>Klebsilla pneumoniae</i>	ATCC 4352	Gram ⁻
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	Gram ⁺
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 2035	Gram ⁺
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 9372	Gram ⁺
<i>Candida albicans</i>	ATCC 24433	/
<i>Aspergillus niger</i>	ATCC 16404	/

2. Méthodes

2.1. Récoltes

Nous avons récolté les fleurs fraîches dans la région de Blida en février 2018, par une matinée à temps partiellement nuageux. Les températures fluctuaient entre 6° C et 8° C.

Les feuilles ont été récoltées au stade floraison durant le mois mars, au niveau de la région de Blida. L'échantillonnage pour les plantes de la région de Jijel (station de Sidi Maarouf) s'est effectué au stade végétatif pendant le mois de mars, par une matinée caractérisée par des alternances de nuages et d'éclaircies. Les températures variaient entre 16° C et 22° C.

2.2. Séchage et préparation de la poudre

Les feuilles de *Malva sylvestris* sont mises à sécher dans un endroit sec et aéré à l'ombre pour mieux conserver les molécules sensibles à la lumière et à la chaleur, pendant 20 jours. Après séchage, elles ont été finement broyées à l'aide d'un moulin électrique et stockées dans des sacs en papier bien fermé avant leur utilisation.

2.3. Extraction du mucilage

Le mucilage a été extrait à partir des fleurs fraîches, selon le protocole de Sachim *et al.* (2014).

Protocole expérimental

50g de fleurs fraîches sont mises à bouillir dans 500ml d'eau distillée pendant 15 min. Par la suite, le tout est filtré sur papier Wattman N°1, nous avons récupéré le filtrat (A).

Les résidus sont mis à bouillir, pour une deuxième fois, dans 250 ml d'eau distillée pendant 15 min. La filtration est réalisée au moyen du papier Wattman N°1, le filtrat (B) est ainsi récupéré.

Ce dernier est additionné au filtrat (A) et l'ensemble est filtré à travers huit plis de mousseline. Par la suite, 30ml d'éthanol ont été ajoutés afin de précipiter le mucilage. La solution est séchée dans une étuve à 45°C, jusqu'à l'obtention d'une poudre.

2.4. Extraction des polyphénols

Les composés phénoliques sont extraits à partir des feuilles séchées des stations de Blida et Jijel. Le protocole passe par 3 étapes : macération hydrométhanolique, extraction avec de l'eau chaude et extraction par solvants.

❖ Macération hydrométhanolique

Elle consiste en une extraction solide/liquide, selon le protocole décrit par Hamia *et al.* (2014), avec quelques modifications.

Principe

La macération est une opération qui consiste à laisser séjourner la matière végétale (broyat) dans le méthanol aqueux pour extraire les principes actifs (composés phénoliques).

Mode opératoire

20 g de la matière végétale sont macérés dans 200ml d'une solution hydrométhanolique (70 /30), pendant 48H à l'abri de la lumière. Cette macération a été effectuée à chaud (l'eau utilisée est bouillante). Afin d'extraire le maximum de métabolites secondaires, l'opération a été répété 3 fois avec la même poudre.

Chaque macérât est filtré sur papier Wattman et les trois filtrats sont récupérés, mélangés et évaporés à sec à une température de 50 °C, au rotavapor (de type BUCHI rotavapor). Ainsi, nous obtenons un extrait sec hydrométhanolique.

❖ Extraction à l'eau chaude

Dans le but d'extraire le maximum des polyphénols, l'extrait sec est mis en suspension dans 100ml d'eau distillée chaude et laisser pendant 24 h à température ambiante. L'extrait aqueux est filtré sur papier Wattman.

❖ Extraction liquide / liquide

Nous avons soumis la suspension obtenu aux extractions successives en utilisant des solvants de polarité croissante, hexane, chloroforme, diéthyl éther, acétate d'éthyle et n-butanol. Nous avons adopté les protocoles cités par Kebièche et *al.* (2011) et Rihane et Benlahreche (2013).

Affrontement par l'hexane

L'extrait aqueux obtenu est débarrassée de tous les composés non phénoliques tels que: les caroténoïdes, les pigments chlorophylliens et les graisses par trois lavages successifs d'hexane.

Dans une ampoule à décanter mélanger l'extrait aqueux avec 50ml d'hexane. Bien agiter et laisser reposer le mélange dans une ampoule à décanter aux moins 20min jusqu'à l'obtention de deux phases, une phase organique supérieure (épiphase) et une phase aqueuse inférieure (hypophase). Cette dernière est récupérée et la procédure est répétée trois fois.

Affrontement par le chloroforme

A la phase aqueuse récupérée, ajouter 50ml de chloroforme, bien agiter et laisser reposer le mélange dans une ampoule à décanter pendant quelques minutes. Deux phases se forment, une phase inférieure organique ou chloroforme (hypophase) et une phase supérieure aqueuse (épiphasse). Cette fois c'est la phase organique qui est récupérée. La procédure est répétée 3 fois.

Affrontement par l'éther diéthylique

La phase aqueuse obtenue est mélangée avec 50ml d'éther diéthylique, après agitation l'ensemble est laissé reposer dans une ampoule à décanter, jusqu'à l'obtention de deux phases, une épiphasse organique et une hypophase aqueuse. L'épiphasse est récupérée et l'opération est répétée 3 fois.

Affrontement par l'acétate d'éthyle

Cette étape a été effectuée selon le même protocole précédent. La phase aqueuse est mélangée à 50ml d'acétate d'éthyle. Après décantation la phase organique est récupérée, 3 répétitions sont réalisées.

Affrontement par le n-butanol

Avant de procéder à la décantation de 50ml de n-butanol additionné à la phase aqueuse, précédemment obtenue, nous avons procédé à une saturation du n-butanol. A 150ml de ce dernier, nous avons ajouté 300ml d'eau distillée. Après décantation pendant 10min, nous avons récupéré le solvant.

La phase aqueuse est mélangée à 50ml du n-butanol, puis laissé décanter et la phase organique est récupérée. 3 répétitions sont réalisées.

Les quatre phases organiques obtenus sont filtrées sur papier Wattman, après addition du Sodium Sulfate anhydre. Chaque phase est évaporée à sec dans un rotavapor de type (Buchi rotavapor r-205) à 40°C. Les extraits, chloroformique, étheré, d'acétate d'éthyle et butanolique sont récupérés dans 5ml de méthanol et maintenus à l'obscurité à 4°C jusqu'à utilisation.

2.5. Dosage des polyphénols totaux

Principe

Les teneurs en polyphénols totaux ont été déterminés par spectrophotométrie selon la méthode de FolinCioclateu (Singleton et al., 1999). Ce réactif de couleur jaune est constitué

par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-Ciocalteu en un complexe ayant une couleur bleue constitué d'oxyde de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés (Boizot et charpentier, 2006).

Mode opératoire

A partir de la chaque extrait prélever 0.2ml et ajouter 400µl de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois dans de l'eau distillée), puis agiter le mélange à laide d'un vortex pendant 10s.

Laisser les tubes incubés pendant 6min et rajouter 1200 µl de Na₂CO₃ (20%).

Après incubation durant 2h et 30min, faire la lecture de l'absorbance à 765 nm par un spectrophotomètre à UV visibles.

Une courbe d'étalonnage a été réalisée dans les mêmes conditions en utilisant des concentrations de 0,078 à 5 mg/ml d'acide gallique comme standard.

Le blanc est représenté par le méthanol additionné au Fol in-Ciocalteu, et le Carbonate de Sodium.

Les concentrations des polyphénols totaux contenus dans les extraits sont calculées en se référant à l'équation de régression ($y = ax + b$), déterminée à partir de la courbe d'étalonnage. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique/ g de matière sèche (mg EAG/g MS) selon la formule:

$$T = \frac{C \times V}{M}$$

Avec:

T : Concentration des composés phénoliques (mg EAG / g d'extrait sec)

C : Concentration obtenue à partir de la courbe d'étalonnage (mg/ml)

V : Volume d'extrait méthanolique (ml)

M : poids de l'extrait sec (mg)

2.6. Calcul des rendements

Les rendements (**R %**) du mucilage et des extraits secs obtenus sont déterminés selon la formule suivante :

$$R (\%) = \frac{(P1 - P2)}{P3} \times 100$$

Où :

P1 : Poids du ballon après évaporation

P2 : Poids du ballon avant évaporation (ballon vide)

P3 : Poids de la matière végétale sèche de départ.

2.7. Etude du pouvoir antimicrobien

L'évaluation de l'activité antimicrobienne a été réalisée selon la méthode de diffusion sur milieu solide (Sokmen et *al.*, 2004). Tout le matériel utilisé a été stérilisé à l'autoclave à 120°C pendant 15 min.

❖ Préparation des milieux de culture

Les milieux de culture, Mueller Hinton pour les bactéries et Sabouraud pour les souches fongique sont mis dans un bain-marie pendant 30min, après lesquels, ils sont laissés pour refroidir jusqu'à 50 ou 45 °C.

Les milieux sont, par la suite ensuite versés dans des boîtes de Pétri stériles de 9 cm de diamètre à raison de 15ml/ boîte, puis laisser à température ambiante pendant quelques minutes jusqu'à solidification. Cette étape est réalisée dans un environnement stérile, prêt d'un bec Bunsen

❖ Préparation de l'inoculum

Les souches microbiennes sontensemencées dans la gélose nutritive et incubées à 37°C pendant 24h pour les bactéries et dans le milieu Sabouraud à 25°C pendant 48h pour les champignons, dans le but d'optimiser leur croissance.

A l'aide d'une anse de platine, nous avons raclé quelques colonies bien isolées et identiques de chacune des souches microbiennes à tester. L'anse est déchargée dans 10 ml d'eau distillée stérile. La suspension microbienne est bien homogénéisée, son opacité doit être équivalente à 0.5 Mc Farland.

L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit la culture s'il est trop clair, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop dense.

❖ Ensemencement

Il doit se faire dans les 15 mn qui suivent la préparation de l'inoculum. Un écouvillon stérile est trempé dans l'inoculum puis essoré en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.

L'écouvillon est par la suite, frotter sur la totalité de la surface de la gélose de haut en bas, en stries serrées. L'opération est répétée 2 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. A la fin de l'ensemencement nous avons fait passer l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois (Rahal et *al.*, 2011).

❖ Antibiotique et antifongique

Pour valoriser l'activité antibactérienne nous avons utilisé des disques de 6 mm de diamètre imprégnés d'antibiotiques et d'antifongiques à différentes concentrations: Gentamicine GEN (50µg) + Ceftriaxone CTR (30µg). L'Amoxicilline (1g) + Mycoflucan (50mg) sont préparés en les diluant dans 80 ml d'eau physiologique.

❖ Dépôt des disques

Des disques de 6 mm de diamètre ont été individuellement imprégnés jusqu'à la saturation de disque par l'extrait et ensuite placés sur la surface des milieux gélosés déjà inoculés par les microorganismes testés.

❖ Incubation et lecture

Les boîtes sont incubées pendant 24h à 37°C pour les bactéries et 48h à 30°C pour les champignons.

Les diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne (ZI) sont mesurés avec précision, à l'aide d'une règle graduée sur le fond de la boîte.

Afin d'estimer la résistance ou la sensibilité des différentes souches microbiennes testées vis-à-vis de nos extraits, nous avons adopté la méthode de Chifundra et *al.* (1990), appliquée aux antibiotiques:

ZI < 9mm: souche résistante

10mm < ZI < 15mm: souche sensible

16mm < ZI < 20mm : souche sensible intermédiaire

ZI > 20mm : souche très sensible

1. Détermination du rendement en mucilages

Les résultats du rendement en mucilage des fleurs de la mauve sont regroupés dans le Tableau 2.

Tableau 2. Rendement en mucilage extrait à partir des fleurs fraîches de *Malva sylvestris*, récoltée au niveau de région de Blida.

Station	Rendement %
Blida	1.71 %

A partir du tableau ci-dessus, les fleurs fraîches de la grande mauve ont donné un rendement en mucilage de **1.71 %**, pour la région de Blida.

Ce résultat est supérieur à ceux cités par Hammadi et Mellak (2013), qui ont trouvé un rendement de 1.15% pour la région de Blida et .0.87% pour la région de Tipaza.

Cependant, il demeure inférieur au résultat obtenu par Sandhya et *al.* (2010), qui indiquent un rendement en mucilage de 4.2% chez *Malva sylvestris*.

Cette variation du rendement pourrait être liée aux conditions climatiques favorables de la région. Également, le rendement des principes actifs dépend d'autres facteurs à savoir: l'espèce, son état sanitaire durant toute l'année, et la morphologie de la plante (Dar et *al.*, 2007; Vidyavathi, 1991)

2. Rendement en polyphénols totaux

Les résultats des rendements en polyphénols totaux des extraits de feuilles sont représentés dans la figure 6 et le tableau 3 (annexe 1)

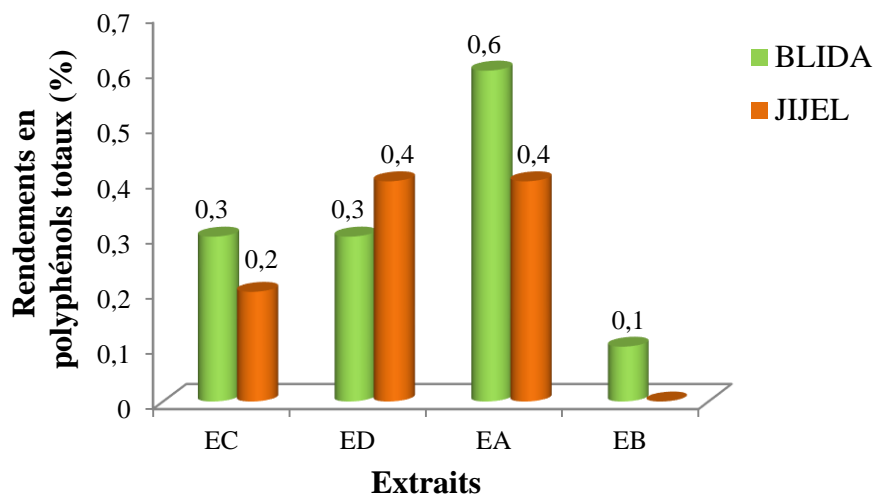


Figure 6. Rendements en polyphénols totaux (mg EAG / g MS) au niveau des différents extraits des feuilles de *Malva sylvestris*

EC: extrait chloroformique, ED: extrait étheré, EA: extrait d'acétate d'éthyle, EB: extrait butanolique

Nous constatons, à partir de la figure 6 que le rendement le plus important est celui l'EA au niveau de la région de Blida avec un rendement de 0.6%. L'EB donne le plus faible rendement avec 0.1%. Les autres extraits montrent les mêmes valeurs (0.3%).

Concernant la région de Jijel, l'EA et l'ED présentent les mêmes rendements avec 0.4%. Ils sont plus élevés que celui de l'EC qui donne 0.2%.

Il semblerait que l'acétate d'éthyle est le solvant qui permet d'extraire le maximum de métabolites .pour les deux régions.

3. Teneurs en polyphénols totaux

Les résultats des teneurs en polyphénols totaux sont illustrés par la figure 7 et le Tableau 4 (annexe 2).

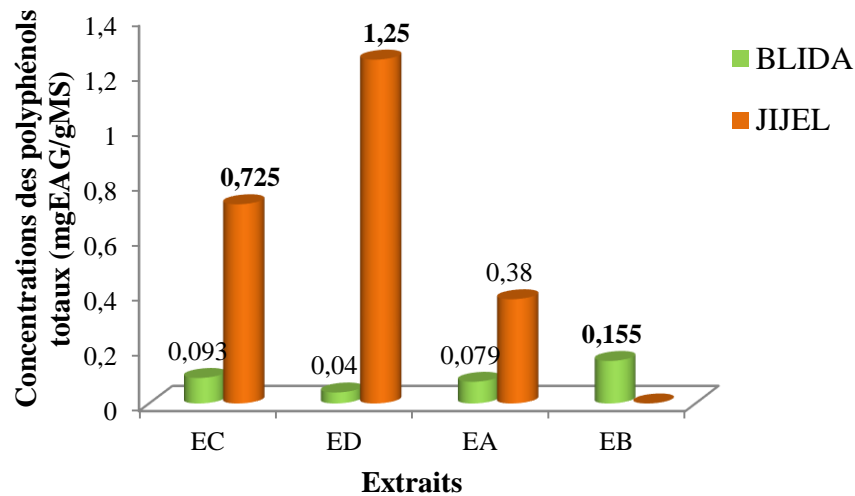


Figure 7. Teneur en polyphénols totaux (mg EAG / g MS) au niveau des différents extraits

Des feuilles de *Malva sylvestris*

EC: extrait chloroformique, ED: extrait étheré, EA: extrait d'acétate d'éthyle, EB: extrait butanolique

Les résultats obtenus (fig. 7), montrent que pour la station de Blida, l'EB renferme la teneur la plus élevée de polyphénols totaux avec 0.155 mg/EAG/g MS, suivi par l'EC avec 0.093 mg/EAD/g MS. L'EA, renferme 0.079 mg/EAD/g MS. Par contre, la plus faible teneur est noté pour l'ED (0.040 mg/EAD/g MS).

Au niveau de la région de Jijel, c'est l'ED qui enregistre la teneur la plus élevée avec une valeur de 1.25 mg/EAD/g MS, suivi par l'EC (0,725 mg/EAD/g MS). La plus faible teneur est marquée pour l'EA dont la valeur est de 0,38 mg/EAD/g MS.

En comparant les deux régions nous remarquons que les feuilles de la station de Jijel semblent plus concentrées en polyphénols totaux par rapport à celles de la région de Blida.

Néanmoins, ils restent inférieurs aux teneurs obtenus par Beghdad et *al.* (2014), qui indiquent un taux de polyphénols totaux des feuilles de *Malva sylvestris* de l'ordre de 24.123 mg EAG/g MS. Farhan et *al.* (2012), notent que le taux de polyphénols de l'extrait *Malva parviflora* est de 9.8mg EAG/g.

Il semblerait que cette différence entre les teneurs des deux régions est liée à la localisation géographique de chaque région. Blida se situe dans le tell central et Jijel au littoral. Elle serait, également due aux conditions climatiques durant les périodes de récolte.

Aussi, elle pourrait être liée au stade de développement de la plante et par conséquent à sa maturité. La récolte les échantillons de Blida ont été récoltés au stade floraison et ceux de la région de Jijel au stade végétatif (feuillaison).

En effet, Jones et Hartley (1999), mentionnent que les facteurs environnementaux, tels que l'approvisionnement en substrats nutritifs, la température, l'éclairement ou la concentration du dioxyde de carbone dans l'atmosphère, peuvent influencer sur le contenu en composés secondaires carbonés (les composés phénoliques, les flavonoïdes, les tannins et la lignine).

Selon Tran (2005) et Hopkins (2003), la température joue un rôle sur les activités enzymatiques, les réactions chimiques et agit sur la fluidité des membranes cellulaires. Ainsi, la température semble pouvoir jouer un rôle favorable direct sur la production de métabolites secondaires (Bourgaud, 1990).

Par ailleurs, la lumière agit de façon qualitative et quantitative et est corrélée à une augmentation des teneurs en composé phénolique (Macheix et *al.* 2005).

Fiorucci (2006), note que le degré de maturation de la plante a une forte influence sur le contenu en polyphénols.

4. Evaluations de l'activité antimicrobienne des différents extraits

4.1. Les mucilages

Les résultats de l'effet antimicrobien du mucilage sont regroupés dans la figure 8 et le tableau 5 (annexe 3)

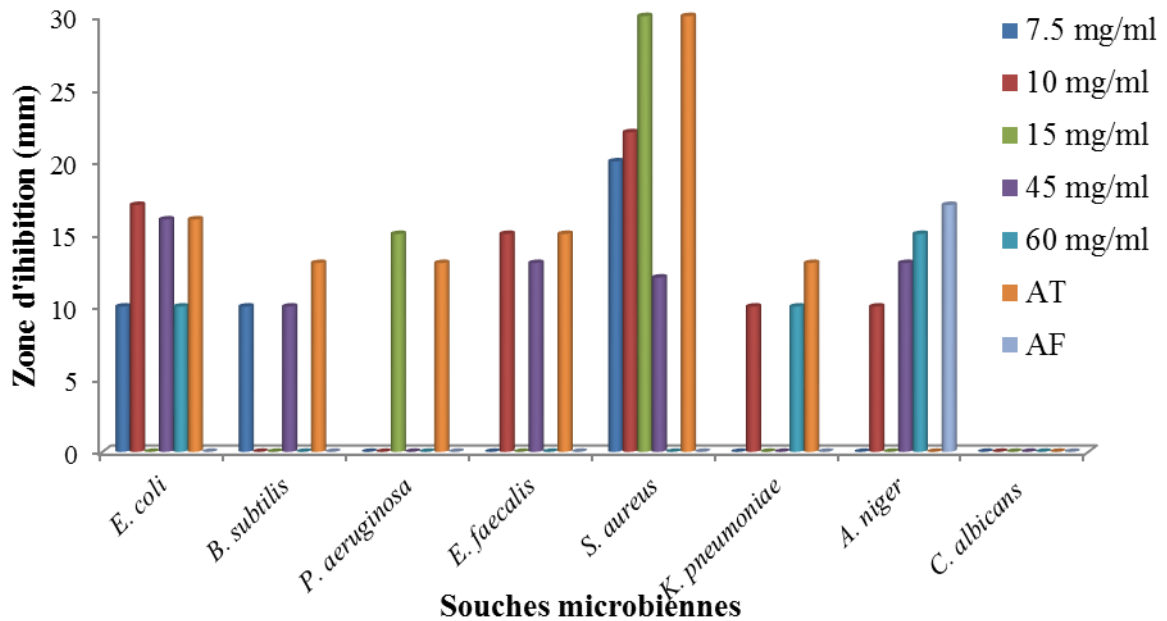


Figure 8. Effet antimicrobien du mucilage des fleurs fraîches de *M. sylvestris* sur les souches testées au niveau de la station de Blida.

AT: antibiotique, AF: antifongique

D'après Moreira et al. (2005) :

- ZI < 9 mm : souche résistante
- ZI = 10 à 15 mm : souche sensible
- ZI = 16 à 20 mm : souche sensible intermédiaire
- ZI > 20 mm : souche très sensible

A l'observation de la figure 8 et en comparaison avec les antibiotiques et antifongiques, nous remarquons que *S. aureus* est la souche la plus sensible vis-à-vis du mucilage aux concentrations 7,5mg/ml, 10mg/ml et 15mg/ml avec des diamètres de zones d'inhibition respectives de 20mm, 22mm et 30mm. De même, *E. coli* a manifesté une sensibilité moyenne pour les concentrations de 10mg/ml et 45mg/ml avec ZI =17mm et 16mm, respectivement.

P. aeruginosa et *E. faecalis* ont présenté une sensibilité limitée (ZI=15mm) pour les concentrations 15mg/ml et 10mg/ml. *K. pneumoniae* semble être la souche la plus résistante pour l'ensemble des concentrations.

Pour les souches fongiques, *A. niger* a montré une sensibilité moyenne à la concentration 60mg/ml (ZI=15mm) et une sensibilité limitée pour les concentrations 10mg/ml et 45mg/ml

avec des zones d'inhibition respectives de 10mm et 13mm. *C. albicans* est la souche fongique la plus résistante pour toutes les concentrations.

Walker et al. (2011), notent que les extraits de fleurs de la mauve ont montré une activité antibactérienne maximale contre *S. aureus* à 15 mg / ml.

Ce qui nous permis de dire que la différence pourrait être liée aux condition climatiques favorables, la récolte des fleurs fraiches, la localisation géographiques (Jones et Hartley, 1999).

4.2. Les polyphénols totaux

Les résultats de l'effet antimicrobien des polyphénols totaux des différents extraits de feuilles sont illustrés dans la figure 9 et le tableau 6 (annexe 4).

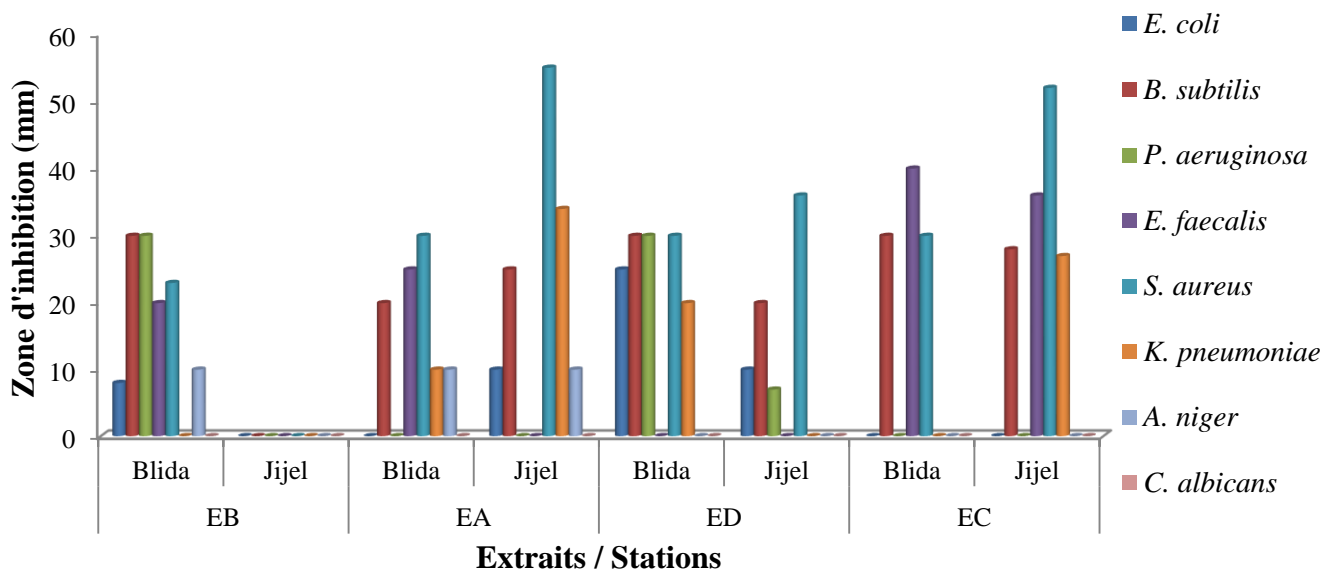


Figure 9. Effet antimicrobien des polyphénols totaux des différents extraits de feuilles de *M. sylvestris* sur les souches testées, au niveau des deux stations.

EC: extrait chloroformique, ED: extrait étheré, EA: extrait d'acétate d'éthyle, EB: extrait butanolique

D'après la figure 8, l'ensemble des souches bactériennes se sont avérées sensibles vis-à-vis de la majorité des extraits de la région de Blida.

En effet, *B. subtilis* et *S. aureus* ont montré une extrême sensibilité à tout les extraits avec ZI=20mm et 30mm, respectivement. Cependant, *E. coli* et *K. pneumoniae* n'ont manifesté de sensibilité que pour l'ED avec des ZI respectives de 25mm et 20mm.

Les extraits EB et ED ont exercé une forte action contre *P. aeruginosa* qui a donné des ZI=30mm. Aussi, l'EB, l'EA et l'EC se sont avérés très efficace contre *E. faecalis*, qui a noté des diamètres de zones d'inhibition entre 20mm et 40mm. Pour *A. niger* a montré une sensibilité limitée pour les extraits E.B et E.A (ZI = 10mm)

En ce qui concerne la région de Jijel, nous constatons que les souches bactériennes sont très sensibles vis-à-vis de la majorité des extraits.

Les extraits, ED, EA et EC ont exercé une forte action inhibitrice sur la croissance de *B. subtilis* avec ZI= 20mm, 25mm et 28mm, respectivement. *K. pneumoniae* s'est révélée très sensible vis-à-vis des extraits EC et EA avec des diamètres respectifs de 27mm et 34mm.

S. aureus est la souche la plus vulnérable vis-à-vis des trois extraits. En effet, nous avons enregistré des zones d'inhibition de 52mm pour l'EC et 55mm pour l'EA passant par 36mm pour l'ED.

Seul l'EC qui s'est montré très efficace contre *E. faecalis* (ZI = 36mm). Toutefois, *E. coli* et *P. aeruginosa* ont manifesté une forte résistance pour tous les extraits. La souche fongique, *A. niger* possède une sensibilité limitée uniquement pour l'EA (ZI = 10mm).

Concernant *C. albicans*, elle a montré une forte résistance pour tous les extraits au niveau des deux régions.

D'après les résultats obtenus, nous avons constaté une différence dans l'effet des extraits l'EA, EC et ED entre les deux régions. Elle pourrait être due aux solvants. En effet, Gangwal (2013), mentionne que l'acétate d'éthyle permet d'extraire les aglycones polyhydroxylés et les flavonoïdes mono-glycosides. L'éther diéthylique permet l'extraction des aglycones et le chloroforme extrait les aglycones faiblement polaires (isoflavones, flavones méthylés et les flavones méthoxylés). Le *n*-butanol possède une affinité pour les flavonoïdes di- et tri-*O*-glycosides et les *C*-glycosides.

Cheng and Wang (2006), indiquent que les anthocyanes de *M. sylvestris* ont montré une activité antimicrobienne prometteuse contre *S. aureus*, mais ne possèdent aucun effet contre *A. niger* et *E. coli*.

Notre étude s'est axée sur la valorisation d'une plante médicinale *Malva sylvestris*, en vue de l'exploitation de ses composés phénoliques et de son mucilage dans le domaine thérapeutique. Les fleurs et Les feuilles ont été récoltées au niveau de deux régions: Blida et Jijel.

L'extraction des mucilages à partir des fleurs fraîches de *Malva sylvestris*, récoltées à Blida, a permis d'obtenir un rendement de **1.73%**.

L'extraction solide-liquide des composés polyphénoliques à partir des feuilles au niveau de la région de Blida a permis d'obtenir des rendements de **0.3%, 0.3%, 0.6%** et **0.1%** pour les extraits EC, ED, EA et EB respectivement. Ils sont de **0.2%, 0.4%, 0.4%** pour les extraits EC, ED et EA de la région de Jijel. L'acétate d'éthyle paraît le solvant qui permet l'extraction du maximum de métabolites.

Le dosage des polyphénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu a donné des teneurs respectives de **0.093, 0.040, 0.79, 0.155 mg EAG/g MS**, pour EC, ED, EA, EB de la région de Blida. Ces teneurs sont de **0.725, 1.25 et 0.0380 mg EAG/g MS**, pour EC, ED, et EA, respectivement, de la région de Jijel. Les échantillons de cette station semblent être plus riches en polyphénols, notamment dans l'extrait éthéré (ED).

L'activité antimicrobienne a été réalisée pour le mucilage et les 4 extraits polyphénoliques à différentes concentrations. Elle a été évaluée, par la méthode de diffusion sur milieu solide, sur 6 souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsilla pneumoniae* et *Bacillus subtilis*) et deux souches fongique (*Aspergillus niger* et *Candida albicans*).

Pour les mucilages la souche *S. aureus* est la plus sensible aux concentrations 7,5mg/ml, 10mg/ml et 15mg/ml, avec des ZI = 20mm, 22mm et 30mm, respectivement. Les autres souches bactériennes ainsi que la souche fongique *Aspergillus niger* possèdent une sensibilité moyenne (ZI varient entre 15mm et 17mm). Par contre, *Klebsilla pneumoniae* et *Candida albicans* semblent les souches la plus résistantes pour l'ensembles des concentrations.

Concernant les polyphénols totaux, tous les extraits de la région de Blida se sont montrés très efficaces contre *B. subtilis* et *S. aureus* qui ont donné des diamètres de zones d'inhibition de 20mm et 30mm. Aussi, *E. faecalis* a manifesté une forte sensibilité (ZI entre 20mm et 40mm) vis-à-vis des extraits, EA, EC et EB. Ce dernier avec l'ED ont exercé une forte

action contre *P. aeruginosa* avec une zone d'inhibition de la croissance de 30mm. Seul l'ED a agit sur *E. coli* et *K. pneumoniae* avec ZI de 25mm et 20mm.

En ce qui concerne la région de Jijel, *S. aureus* est la souche la plus sensible vis-à-vis des trois extraits, le diamètre de la zone d'inhibition a atteint 52mm et 55mm.

Les extraits, ED, EA et EC se sont avérés très efficaces contre *B. subtilis* avec ZI= 20mm, 25mm et 28mm, respectivement. *K. pneumoniae* s'est montrée très sensible vis-à-vis des extraits EC et EA (ZI= 27mm et 34mm). *E. faecalis* est sensible pour l'EC (ZI = 36mm).

Cependant, *E. coli* et *P. aeruginosa* ont manifesté une forte résistance pour tous les extraits. Seul l'EA s'est montré faiblement efficace contre *A. niger* (ZI = 10mm).

Au niveau des deux régions et pour tous les extraits *C. albicans*, a montré une forte résistance.

En perspective et afin de poursuivre et d'approfondir ce travail, il serait souhaitable de :

- Etudier d'autres activités biologique de *Malva sylvestris*: antalgique, anti inflammatoires, cicatrisante...etc., pour pouvoir l'exploiter dans les domaines pharmaceutique, cosmétique et agro-alimentaire.

- Fabriquer des médicaments anti radicalaires et anti-inflammatoires à base des Extraits polyphénoliques de *M. sylvestris*

- Exploiter les polysaccharides du mucilage dans le but de préparer un Complément naturel.

- Il serait intéressant de faire un screening chimique de la plante afin de mettre en évidence la présence d'autres métabolites secondaires.

1. Ahtardjeff & Koleff (1961) .Etude des propriétés phyto thérapeutique de la plante médicinale Malva Sylvestris (Atwal, 2003).
2. Awwad, A.M, Albiss, B.A, Salem N.M de of Agriculture, the Jordan University, Amman, Jordan
3. Bruneton,1999,Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales (3èmeédition) – Editions Tec & Doc, Editions médicales internationales.
4. Boizot et Charpentier., 2006). Bruneton, 1999; Bruneton Jean (1999) Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales (3^{ème} édition) – Editions Tec & Doc, Editions médicales internationale.
5. Boullard Bernard (1988) Dictionnaire de botanique – Ellipses
6. Boullard Bernard (1997)Plantes et Champignons, dictionnaire ,Estem.
7. Bonnier Gaston & Douin Robert – 1912–1935 – La grande flore en couleur de Gaston Bonnier Belin
8. Bonnier G. & De Layens G. – 1909 – Flore complète portative de la France et de la Suisse
9. Belin Bergogne.Berezinet Dellamonica, 1995).Douin, 1912-1935).
10. Coste, 1901 1934-1940 ; Spichiger et al., 2002) (Couplan & Doux, 1950). (Couplan, 1950). (Couplan & Styner, 1994 ; Hiçsönmez et al., 2009 ; Barros et al., 2010). (Classen & Blaschek,
11. Couplan François (2009) Le régal végétal : plantes sauvages comestibles – Sang de la Terre
12. Couplan François & Debuigne G. (2006) Petit Larousse des plantes qui guérissent – Larousse
13. Couplan François & Doux Yves (1950) L’album des plantes et des fleurs – Delachaux et Niestlé . (Classen & Blaschek, Classen B. & Blaschek W. – 1998 – High molecular weight acidic polysaccharides from Malva sylvestris and Alcea rosea – Planta Med. 64 (7), 640–4
14. Classen B. & Blaschek W.(2002) An arabinogalactan–protein from cell culture of Malva sylvestris – Planta Med. 68 (3), 232–2361998)
15. Merghem R., Dehimat L. (2008) *Comparaison de trois méthodes d’extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes à partir de la plante médicinale : Artemisia herba alba* Asso Treki amina S., Etude phytochimique et évaluation de l’activité antibactérienne d’une labiée : Thymus hirtus. Sciences& Technologie. 29, pp: 25-29

16. Rihane K et Benlaharche R. (2013) activité antibactérienne des polyphénols et flavonoïdes d'extraits à partir deux plantes médicinales : artémisia herba alba et ocimum basilicum sur escherichia coli et staphylococcus aureus. Mémoire de master université mentouri constantine.
17. Kebièche M., Lakroun Z., Mraïhi Z et Soulimani R. (2011) Effet antidiabétogène et cytoprotecteur de l'extrait butanolique de Ranunculus repens L. et de la quercétine sur un modèle expérimental de diabète alloxanique. *Phytothérapie*. 9: 274-282.
18. Jones et Dangl, 2006 ; 2008 Gibbons et Coll., composition chimique et activités biologiques des extraits de cinq plantes aromatiques et médicinales de l'ouest d'algerie
19. Dornberger & liche, 1982; Rios et al., 1987;. Alkofahi et al., 1996 in Coelho de Souza 2004
20. Debuigne, (2006). des maladies des femmes » (livre I et II). (Delaveau, 2003). Delaveau Pierre – 2003 – Expliquez-moi les plantes, voyage en botanique –Pharmathèmes
21. Fiorucci S., (2006). Activités biologiques de composés de la famille des flavonoïdes: Approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire. Thèse de doctorat. Université Nice-Sophia Antipolis, 212 p.
22. Fournier, 1934-1940 Fournier Paul – 1948 – Le livre des plantes médicinales et vénéneuses de France tome II– Editions Lechevalier
23. Fournier Paul –(1934 – 1940) Les quatre flores de France – Dunod; Schaffner, 1993 ; Belzung, 1900). Flore (2011) ;Valnet,(1992) ;Duraffourd et Lapraz,(2002),
24. Girre, 1985 ; Deysson, 1963 Girre Loic – 1985 – Nouveau guide des vieux remèdes naturel –Ouest France
25. Girre Loic– 1980 – Connaître et reconnaître les plantes médicinales – Ouest France). (Golse, 1955 . Golse J. –1955 – Précis de matière médicale – Doin et Cie éditeurs). (Ghestem et al, 2001).
26. Hertel, J.-M., Huiles essentielles et médecine. Aromathérapie 2006, <http://www.phytomania.com/frame1024.htm>.
27. Hiçsönmez et al., 2009. Hiçsönmez Ü., Ereeş F S., Özdemir C., Özdemir A., Çam S. – 2009 – Determination of Major and Minor Elements in the Malva sylvestris L. from Turkey Using ICP–OES Techniques – Biol Trace Elem Res 128, 248–257
28. Iqbal A., Zafar M. et Faiz M. 1998. Screening of some Indian medicinal plants for their antimicrobial proprieties. *Journal of ethnopharmacology*, 62 (2): 183-193.

29. King A., and Young G, (1999). Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *Journal of the American dietetic association*. 99:213-218. (cited in Djemai Zoueglache S, 2008)
30. Mascré A. – 1958 – Cours de botanique générale : tome III, physiologie et biologie des plantes vasculaire – 1ère partie : nutrition et métabolisme – Sedes Paris (Livre IV partie IV : des maladies du gosier et d'abord de l'angine). (Leclerc, 1973).
31. Novais, M.H., et al., Studies on pharmaceutical ethnobotany in Arrabida Natural Park (Portugal). *Journal of Ethnopharmacology*, 2004. 93: p. 183-195.
32. Nougarede, 1969 ; Leclerc, 1973 ; Canonne, 1984). Nougarede A. – 1969 – Biologie végétale tome I : cytologie – Masson et Cie éditeurs
33. Organisation Mondiale de la Santé
34. Payer, 1852 Payer J. B. – 1852 – De la famille des Malvacées – thèse de médecine, Paris – Editeurs
35. Rignoux. (Pharmacopée européenne 6.3). (PDR for herbal medicines, 2000). (Seyoum 2006).
36. Teixeira da Silva J. A., 2004. Mining the essential oils of the Anthemideae. *African Journal of biotechnology*, 3 (12): 706-720.
37. Turan, 2003 in Jeambey et al., 2009 ; Hiçsönmez et al., 2009). Flore (2011) ; Valnet, (1992) ; Duraffourd et Lapraz, (2002),
38. Wichtl, 2003 ; Classen & Blaschek, 1998). Wichtl Max – 2003 (2ème édition française) – Plantes thérapeutiques : tradition, pratique officinale, science et thérapeutique – Editions Tec & Doc, Editions médicales internationale.
39. Walter z. K. Shinwari i. Afzal et r. N. Malik. 2011. Antibacterial activity in herbal products used in pakistan. *Pak. J. Bot.*, 43: 155-162

Annexe (1) :**Tableau 3 :** Rendements en polyphénols totaux (mg EAG / g MS) au niveau des différents extraits des feuilles de *Malva sylvestris*

EXTRAITS /REGION	RENDEMENT %	
	BLIDA	JIJEL
EC	0.3	0.2
ED	0.3	0.4
EA	0.6	0.4
EB	0.1	NR

Tableau 4 : Teneur en polyphénols totaux (mg EAG / g MS) au niveau des différents extraits des feuilles de *Malva sylvestris*

EXTRAIT	TENEUR mgEAG/g MS	
	BLIDA	JIJEL
EC	0.093	0.725
ED	0.040	1.250
EA	0.079	0.380
EB	0.155	NR

Annexe (2) :**Tableau 5 :** Effet antimicrobien du mucilage des fleurs fraîches de *M. sylvestris* sur les souches testées au niveau de la station de Blida.

	7.5mg/ ml	10mg/ ml	15mg/ ml	45mg/ ml	60mg/ ml	A T	A F	Normes
<i>E.coli</i>	10	17	0	16	10	16	/	ZI 9mm: Résistante
<i>B. subtilis</i>	10	0	0	10	0	13	/	ZI= 10 à 15 mm :
<i>P.aeruginosa</i>	0	0	15	0	0	13	/	sensibilité limitée
<i>E. faecalis</i>	0	15	0	13	0	15	/	
<i>S.cus aureus</i>	20	22	30	12	0	30	/	ZI = 16 à 20 mm :
<i>K.pneumoniae</i>	0	10	0	0	10	13	/	sensibilité moyenne
<i>A. niger</i>	0	10	0	13	15	/	17	
<i>C. albicans</i>	0	0	0	0	0	/	0	ZI 20 mm : très sensible

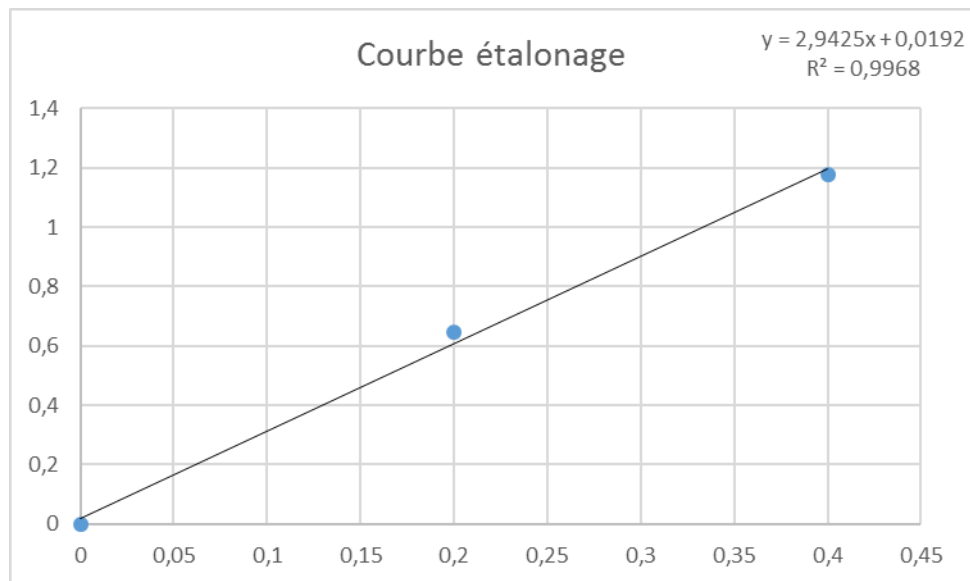
Annexe (4) :

Figure 10. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux

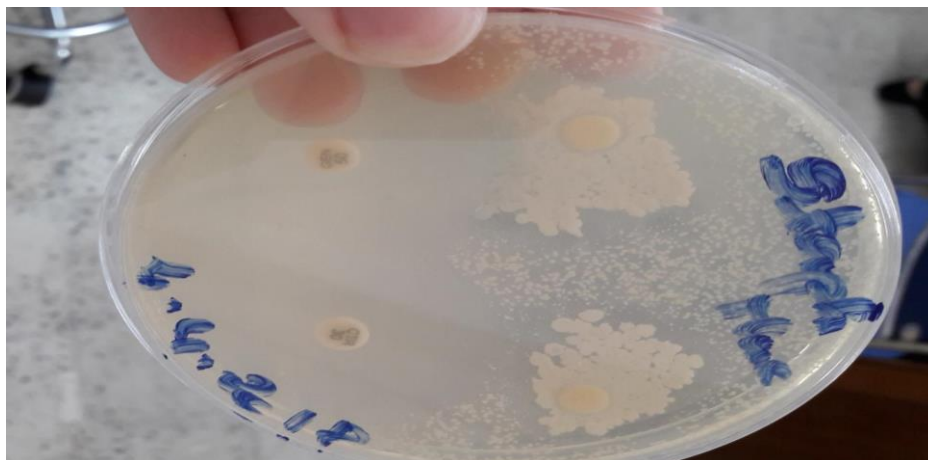
Annexe(5) :

Figure11 : présente la croissance de souche *Staphylococcus.aureus* dans la concentration 15 mg/ml pour le mucilage.

Annexe(6) :



Figure 12 : Présent l'action de ED sur *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus* avec une zone d'inhibition dans la région de Blida.



Figure 13 : Présent une sensibilité sur *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus* pour l'EC avec une zone d'inhibition au niveau de la région de Blida.

Annexe (7) :



Figure14 : Présente une sensibilité sur *Staphylococcus* pour l'EC avec une zone d'inhibition au niveau de la région de Jijel.



Figure15 : Présente une sensibilité *Staphylococcus.aureus* pour l'EA avec une zone d'inhibition au niveau de la région de Jijel.

Annexe (8) :



Figure16 : Ne présente aucune sensibilité sur *Pseudomonas aeruginosa* pour l'EA au niveau de la région de Blida

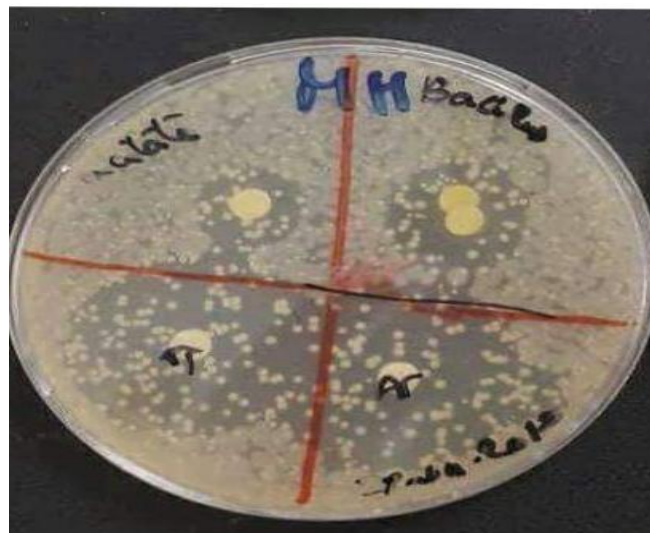


Figure17: présente une sensibilité sur *Bacillus subtilis* pour l'EA avec une zone d'inhibition au niveau de la région de Jijel.

Annexe (9) :



Figure 18: Présente une sensibilité sur *Aspergillus niger* pour l' EB et aucune sensibilité sur *Candida albicans* pour tous les extraits.