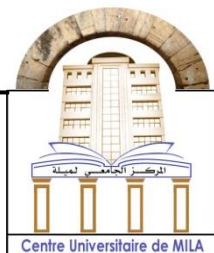


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



N° Ref :

Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF- Mila

Institut des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biotechnologie

Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de

Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie végétale

Thème :

**Évaluation des propriétés biologiques,
pharmacologiques et valorisation des agro-ressources
fonctionnelles cas de « *Malva sylvestris.L* »
Start-up**

Présenté par :

- Zemmouri Hadil
- Djoul Nahla

Devant le jury :

Président : Sahli Mohamed	(MCB)	Centre universitaire de Mila.
Examinatrice : Talhi Fahima	(MCA)	Centre universitaire de Mila.
Encadrante : Benmakhlouf Zebida	(MCA)	Centre universitaire de Mila.
Co encadrante : Boussmide Ahlam	(MCA)	Centre universitaire de Mila.

Année Universitaire : 2024/2025

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciements

*Je tiens à exprimer ma profonde gratitude et ma sincère reconnaissance à mon encadrante, Madame [**Benmakhlouf Zebida**], pour le temps et les efforts qu'il a consacrés au suivi de ce travail, ainsi que pour ses orientations précises et ses remarques pertinentes qui ont grandement contribué à l'enrichissement et à l'aboutissement de ce mémoire.*

*J'adresse également mes remerciements aussi à madame **Boussmide Ahlam** aux membres du jury pour leurs observations précieuses qui ont apporté une réelle valeur ajoutée à cette recherche.*

*Et madame **Bensseradj Wafaa**, madame **Amira Amira** pour le temps et les efforts qu'il a consacrés de ce travail.*

Dédicace

À Allah, par Sa bonté et Sa grâce, les choses se parfont.

À ceux qui ont marché à mes côtés, dans le silence ou dans la lumière, dans les jours faciles comme dans les nuits pleines de doutes...

*À ma chère mère **Nadjiba**, pour son amour infini, sa patience inégalable, et ses prières discrètes qui m'ont portée plus loin que je ne l'aurais cru possible.*

*À mon père **Ahmed**, exemple de sagesse, de rigueur et de courage, qui m'a appris que l'effort sincère finit toujours par porter ses fruits.*

*À mes sœurs bien-aimées, **Hazar** et **Ilham**, pour leur affection, leur écoute et leur présence douce dans les moments les plus difficiles.*

*À la petite **Aline**, source pure de joie et d'innocence, dont le sourire suffit à réchauffer les jours les plus ternes.*

*À mes frères, **Hamza**, **Mouhamed** et **Tawfik**, pour leur force tranquille, leur humour bienveillant, et leur soutien sans condition.*

*À **Nahla** avec qui j'ai partagé cette aventure exceptionnelle, à mes amis, précieux compagnons d'aventure, pour leur patience, leurs encouragements et leur lumière constante dans ce long chemin.*

Et à toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont cru en moi, m'ont tendu la main, offert un mot gentil, un conseil sincère ou un geste de soutien, même furtif. Vous avez marqué ce parcours bien plus que vous ne l'imaginez.

Cette mémoire vous appartient aussi. Merci.

Hadil

Dédicace

Par la grâce de Dieu et Sa volonté, j'ai pu franchir cette étape précieuse de ma vie.

Al Hamdoulillah, pour cette force, cette patience et cette joie qu'Il a déposées dans mon cœur

*À ma mère bien-aimée **Nassima**, douce lumière de ma vie, source d'amour inconditionnel et de prières silencieuses.*

*À mon père cher **Abde Elmoumen**, pilier de ma force et modèle de sagesse.*

Que Dieu vous protège tous les deux et vous comble de santé et de paix. Aucun mot ne pourrait suffire à exprimer ce que je vous dois.

*À mes frères et sœurs : **Abd Elrahmen, Milad, Zineb et Sadjed**,*

Merci pour votre présence, vos encouragements et votre affection qui m'ont accompagnée dans les moments les plus décisifs.

À toute ma famille, à mes oncles, tantes, cousins et cousines... Je vous porte dans mon cœur avec beaucoup de gratitude.

*À **Hadil**, ma compagne de route, avec qui j'ai partagé les jours d'effort, de doutes mais aussi les éclats de rire et les victoires. Merci d'avoir été là.*

*Et enfin, à mes amis, tout particulièrement **Hadil S.**, et à tous ceux qui, d'une manière ou d'une autre, m'ont offert amour, motivation, soutien et sourire... Merci pour tout.*

Nahla

Résumé

Malva sylvestris L., connue sous le nom vernaculaire de «Khobiza», est une plante alimentaire et médicinale appartenant à la famille des Malvacées. Pour évaluer les effets antibactériens, antioxydants, et antifongiques de *Malva sylvestris* L., une étude expérimentale a été réalisée sur les fleurs séchées de la plante. L'objectif de cette étude est également l'exploration des composés phytochimiques de l'extrait préparé à partir de la plante, en utilisant du méthanol à 70 % comme solvant.

La teneur en polyphénols, flavonoïdes, anthocyanes et mucilages des composés connus pour leurs effets biologiques bénéfiques a été déterminée. Les méthodes DPPH et ABTS ont été utilisées pour évaluer l'activité antioxydante. Les résultats ont montré une capacité importante de piégeage des radicaux libres, en particulier pour l'extrait hydrométhanolique, indiquant une richesse en composés phénoliques.

L'activité antibactérienne de l'extrait de fleurs de *Malva sylvestris* L. a été évaluée par la méthode de diffusion en milieu solide. Cette activité a été observée sur plusieurs souches bactériennes, avec une efficacité variable.

Dans la partie pratique, un fongizol, un rafraîchissant buccal et un bain de bouche 100 % naturel ont été formulés à base d'extrait de *Malva sylvestris* L., enrichis d'une huile essentielle naturelle, d'un arôme et d'un conservateur naturel. L'objectif est d'offrir un produit préventif et apaisant contre les infections buccales, tout en restant doux et sans effets secondaires.

En conclusion, cette étude met en évidence le potentiel thérapeutique de *Malva sylvestris* L. et encourage son intégration dans les formulations pharmaceutiques naturelles, en tant qu'alternative efficace et sûre aux traitements conventionnels.

Mots-clés : *Malva sylvestris* L., Khobiza, Extrait végétal, Antioxydant, Antibactérien, Antifongique, Composés phytochimiques, Polyphénols, Flavonoïdes, Anthocyanes, Mucilages, Médecine alternative, Extrait hydrométhanolique.

ملخص

الخبازة البرية المعروفة باسم "الخُبْيز"، هي نبات غذائي وطبي ينتمي إلى فصيلة الخبازيات (Malvaceae). لتقييم التأثيرات المضادة للبكتيريا، ومضادات الأكسدة، والالتهابات، والفطريات، أُجريت دراسة تجريبية على أزهار النبات الجافة.

وهدفت الدراسة أيضًا إلى دراسة التركيب الكيميائي النباتي للمستخلص المحضر باستخدام ميثانول بتركيز 70% كمذيب. وتم تحديد محتوى البوليفينولات، والفلافونويدات، والأنثوسيانينات، والمخاطيات النباتية، وهي مركبات معروفة بخصائصها البيولوجية المفيدة.

استُخدمت طريقتا DPPH و ABTS لتقييم النشاط المضاد للأكسدة، وقد أظهرت النتائج قدرة كبيرة على تثبيط الجذور الحرة، خاصة في المستخلصات الهيدروميثانولية، مما يدل على احتوائها العالي على المركبات الفينولية.

تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلص أزهار الخبازة باستخدام طريقة الانتشار في الوسط الصلب، وقد أظهرت النتائج فعالية متفاوتة.

في الجانب التطبيقي، تم تركيب منتج "فونجيزول"، ومعطر للفم، وغسول فم طبيعي 100%، اعتمادًا على مستخلص الخبازة، معزز بزيت عطري طبيعي، ونكهة، ومادة حافظة طبيعية. والهدف من هذا المنتج هو الوقاية والتهدة من التهابات الفم، دون التسبب في آثار جانبية.

ختامًا، تسلط هذه الدراسة الضوء على القدرات العلاجية لنبات الخبازة البرية، وتشجع على دمجها في التركيبات الصيدلانية الطبيعية كبديل فعال وآمن للعلاجات التقليدية.

الكلمات المفتاحية : الخبازة، مستخلص نباتي، مضاد أكسدة، مضاد للبكتيريا، مضاد للفطريات، مركبات فيتوكيميائية، الفينولات، الفلافونويدات، الأنثوسيانينات، المخاطيات النباتية، غسول فم طبيعي، الطب البديل، مستخلص هيدروميثانولي..

Abstract

Malva sylvestris L., commonly known as "Khobiza", is a food and medicinal plant belonging to the Malvaceae family.

To evaluate its antibacterial, antioxidant, and antifungal effects, an experimental study was conducted using the dried flowers of the plant.

This study also aimed to investigate the phytochemical composition of extracts prepared using 70% methanol as a solvent. The contents of polyphenols, flavonoids, anthocyanins, and mucilages compounds known for their beneficial biological properties were determined. DPPH and ABTS assays were used to assess the antioxidant activity. The results demonstrated a strong radical scavenging capacity, particularly for the hydromethanolic extracts, indicating a high phenolic content.

The antibacterial activity of *Malva sylvestris* L. flower extract was evaluated using the agar diffusion method. Activity was observed against several bacterial strains, with varying effectiveness.

In the practical part of the study, a fungizol, a mouth freshener, and a 100% natural mouthwash were formulated using *Malva sylvestris* L. extract, enriched with a natural essential oil, a flavoring agent, and a natural preservative. The goal was to develop a soothing and preventive product against oral infections, while remaining gentle and free of side effects. In conclusion, this study highlights the therapeutic potential of *Malva sylvestris* L. and supports its incorporation into natural pharmaceutical formulations as a safe and effective alternative to conventional treatments.

Keywords: *Malva sylvestris* L., Khobiza, Plant extract, Antioxidant, Antibacterial, Antifungal, Phytochemical compounds, Polyphenols, Flavonoids, Anthocyanins, Mucilages, Natural mouthwash, Alternative medicine, hydromethanolic extract.

Table des matières

Remerciements

Dédicace

Dédicace

Résumé

ملخص

Abstract

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Partie 1 : Synthèse bibliographique

I. Présentation de *Malva sylvestris* L 4

I.1. Histoire et usages traditionnels de *Malva sylvestris* L :..... 4

I.2. Description de la plante de *Malva sylvestris*.L:..... 4

I.3. Description (botanique) de la plante : 4

I.4. Classification systématique : 5

I.5. Noms vernaculaires 6

I.6. Répartition géographique 6

I.7. Usages et propriétés thérapeutiques 7

I.7.1. Usages pharmacologiques 7

I.7.2. Usages alimentaires 8

I.7.3. Usages cosmétiques 8

II. Composition chimique de *Malva sylvestris* .L 9

II.1. Métabolites primaires.....	9
II.2. Métabolites secondaires	9
II.3. Définition des métabolites secondaires :.....	9
II.4. Classification des métabolites secondaires :.....	10
II.5. Rôles physiologiques :	10
II.6. Les composés phénoliques :.....	10
II.6.1. Les flavonoïdes :	11
II.6.1.1. Les classes des flavonoïdes :	11
II.6.2. Les tanins :	14
II.6.2.1. Les tanins hydrolysables :.....	14
II.6.2.2. Les tanins condensés :	14
II.6.3. Les mucilages :.....	15
II.6.4. Les coumarines :.....	16
II.6.5. Les alcaloïdes :	16
II.6.6. Les terpènes :.....	16
II.6.7. Les stérols :.....	17
II.6.8. Les saponosides.....	17
III. Les activités biologiques	19
III.1. Activité antioxydant :	19
III.1.1. Les radicaux libres:	19
III.1.1.1. Activité anti-radicalaire :.....	19
III.1.2. Les Antioxydants :	20
III.2. L'activité antibactérienne :	21
III.2.1. Les bactéries :	21
III.2.1.1. Définition et classification	21
III.2.1.2. Les souches bactériennes testées :.....	21

III.3. Définition de champignon :	22
III.3.1. Les types de champignons Testé :	22
<i>Partie II : Etude expérimentale (Matériels et méthodes)</i>	
IV. Matériels et méthodes	25
IV.1. Matériels	25
IV.1.1. Matériel végétal	25
IV.1.2. Les souches bactériennes testées	25
IV.1.3. Les souches fongique testés.....	25
IV.2. Méthodes de travail	26
IV.2.1. Préparation des extraits végétaux	26
IV.2.1.1. Séchage et broyage du matériel végétal	26
IV.2.1.2. Extraction des composés phénoliques.....	26
IV.2.1.3. Rendement de l'extraction :	28
IV.2.2. Etude phytochimique :	28
IV.2.2.1. Screening phytochimique :	28
IV.2.3. Évaluation de l'activité antibactérienne :	36
IV.2.3.1. Les Souches bactériennes testées :	36
IV.2.3.2. Préparation des milieux :	37
IV.2.3.3. Activation des souches bactériennes :	40
IV.2.3.4. Repiquage des souches bactériennes :	40
IV.2.3.5. AntibioGramme :	41
IV.2.3.6. La dilution d'extraits :	41
IV.2.3.7. Préparation de la suspension bactérienne :	42
IV.2.3.8. Coulage du milieu de culture MH :	42
IV.2.3.9. Ensemencement bactérienne :	42
IV.2.3.10. Dépôt des disques et les puits et l'injection des extraits :	42

IV.2.4. Activité antifongique :	44
IV.2.4.1. La souche champignons testée :	45
IV.2.4.2. La réactivation des isolats fongiques :	45
IV.2.4.3. Préparation des suspensions fongiques :	45
IV.2.4.4. Technique des disques :	45
 Partie III : Résultats et discussion	
V. Résultats :	49
V.1. Détermination du rendement :	49
V.2. Screening phytochimique :	49
V.3. Analyse quantitative :	53
V.3.1. Résultats du dosage des polyphénols totaux :	53
V.3.2. Résultats du dosage des flavonoïdes :	55
V.4. Activités biologiques :	56
V.4.1. Evaluation de l'activité antioxydante :	56
V.4.1.1. DPPH :	57
V.4.1.2. ABTS :	59
V.5. Résultat et discussion les activités biologique :	60
V.5.1. Activité antibactérienne :	60
V.5.2. Les résultats de l'activité antifongique :	64
Conclusion.....	68
Références	71

Liste des abréviations

(-) : Test négatif.

(+) : Test faiblement positif.

(++) : Test positif.

(+++) : Test Très positif.

µg : Microgramme.

µl : Microlitre.

AA : Acide ascorbique.

Abs : Absorbance.

BN : Bouillon Nutritif.

C : Concentration.

C° : Degré Clesius.

DMSO : Diméthylesulfoxyde.

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.

ABTS : 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)

EQ : Equivalent quercétine.

g : Gramme.

h : Heure.

IC50 : Concentration inhibitrice 50 %.

AGE/g : Acide Gallique Equivalent par gramme.

L : Litre.

M : Masse de l'extrait.

M.s : *Malva silvestris* L.

M0 : Masse de la matière végétale.

mg : Milli gramme.

MH : Mueller Hinton.

min : Minute.

ml : Millilitre.

mm : Millimètre.

N° : Numéro.

nm : nanomètr.

SM : Solution mère 100%.

T : Témoin.

Liste des figures

Figure 1 : Représentation de différentes parties (fleurs et feuilles) de la plante de <i>Malva sylvestris</i> .L	5
Figure 2 : Squelette de base commun aux Flavonoïdes	11
Figure 3 : Structure des tanins hydrolysables	14
Figure 4 : Structure des tanins condensés	15
Figure 5 : Localisation géographique de la région de récolte	25
Figure 6 : Broyage des fleurs de <i>Malva sylvestris</i>	26
Figure 7 : préparation des différentes concentrations de Dosage des polyphénols totaux	31
Figure 8 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH	33
Figure 9 : préparation des différentes concentrations des DPPH	34
Figure 10 : Les étapes de formation du radical ABTS.....	35
Figure 11 : préparation des différentes concentrations des ABTS+	36
Figure 12 : Préparation du Bouillon Nutritif (BN)	37
Figure 13 : Préparation de milieu Mueller Hinton (MH)	38
Figure 14 : Préparation de milieu Gélose nutritive	38
Figure 15 : Préparation de l'eau physiologique	39
Figure 16 : Stérilisation du matériel dans l'autoclave	40
Figure 17 : activation des souches bactériennes	40
Figure 18 : Repiquage des souches bactériennes sur gélose nutritive	41
Figure 19 : Préparation des dilutions à différentes concentrations	41
Figure 20 : Coulage du milieu de culture MH	42
Figure 21 : Dépôt des disques	43
Figure 22 : Dépôt des puits	44
Figure 23 : Lecture des résultats	44
Figure 24 : Lecture des résultats	46

Figure 25 : Lecture des résultats	47
Figure 26 : courbe d'étalonnage obtenue à partir des différentes concentrations de l'acide gallique et la lecture de l'absorbance à 765 nm.	54
Figure 27 : courbe d'étalonnage obtenue à partir des différentes concentrations de quercitrine et la lecture de l'absorbance à 455 nm.	55
Figure 28 : Courbe d'inhibition du radicale DPPH par l'acide ascorbique (AA).	56
Figure 29 : Pourcentages d'inhibition du radicale DPPH par l'extrait hydrométhanolique de la plante <i>Malva sylvestre</i> L.....	57
Figure 30 : Pourcentages d'inhibition du radicale DPPH par les extraits de la plante <i>Malva sylvestre</i> L.	57
Figure 31 : Pourcentages d'inhibition du radicale ABTS ⁺ en fonction des concentrations de l'extrait hydrométhanolique de <i>Malva sylvestris</i> L	59
Figure 32 : Pourcentages d'inhibition du radical ABTS ⁺ par différentes concentration de l'extrait hydrométhanolique de <i>Malva sylvestre</i> .L.....	59
Figure 33 : Zones d'inhibition de différentes souches bactériennes traitées par différentes Concentrations d'extrait des fleurs de <i>malva sylvestrice</i> .L	63
Figure 34 : Activité antifongique des différentes concentrations d'extrait de fleur <i>Malva sylvestres</i> . L sur la souches candida albicans testées qui faire une inhibition	65
Figure 35 : Activité antifongique des différentes concentrations d'extrait de fleur <i>Malva sylvestres</i> . L sur les souches fongiques testées qui n'est pas faire une inhibition.....	66

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification botanique de <i>Malva sylvestris</i> .L	5
Tableau 2 : Les noms vernaculaires de <i>Malva sylvestris</i> L.....	6
Tableau 3 : Les classes des flavonoïdes selon	11
Tableau 4 : Les souches bactériennes testées	25
Tableau 5 : les étapes d'extraction.....	27
Tableau 6 : Montage sur microplaque	35
Tableau 7 : Les bactéries testées.....	36
Tableau 8 : La souche champignons testée.....	45
Tableau 9 : Détermination du rendement.....	49
Tableau 10 : Screening phytochimique.....	50
Tableau 11 : Résultats de l'activité antibactérienne	60
Tableau 12 : Résultats de Répétition 01 de l'activité antifongique	64
Tableau 13 : Résultats de Répétition 02 de l'activité antifongique	65

Introduction

Introduction

Depuis les temps les plus anciens, l'homme a su tirer profit de la nature qui l'entoure, notamment des plantes, en développant au fil du temps une connaissance empirique précieuse de leurs multiples usages. Ces connaissances, transmises de génération en génération, ont permis de reconnaître les vertus alimentaires et médicinales de nombreuses espèces végétales, qu'elles soient cultivées ou spontanées.

En effet, les plantes comestibles ne se limitent pas à leur rôle nutritionnel ; elles présentent également des propriétés thérapeutiques intéressantes. Leur utilisation peut varier d'une région à une autre, traduisant une richesse dans les pratiques ethnobotaniques (**Dogan et al., 2004**).

Les plantes médicinales représentent, depuis des millénaires, une source essentielle de traitements naturels. Certaines sont d'ailleurs à la base des systèmes médicaux traditionnels dans plusieurs civilisations (**Gurib, 2006**).

L'Algérie, grâce à sa position géographique privilégiée et sa diversité climatique, possède une flore riche et variée, comptant plus de 3 000 espèces végétales, dont une grande partie reste encore peu explorée sur les plans phytochimique et pharmacologique (**Quézel et Santa, 1963**).

Cette richesse botanique constitue un véritable potentiel pour la recherche scientifique et la valorisation des ressources naturelles, notamment dans les domaines de l'ethnopharmacologie et de l'industrie pharmaceutique (**Amezouar et al., 2013**).

Parmi les plantes les plus utilisées traditionnellement en Algérie figure *Malva sylvestris* L., connue sous le nom vernaculaire de « Khobiza ». Il s'agit d'une plante herbacée appartenant à la famille des Malvaceae. Spontanée, elle pousse principalement dans les terrains incultes, le long des chemins et des haies.

Elle est largement consommée en tant que légume et utilisée en médecine traditionnelle pour ses nombreuses vertus : antioxydantes, antifongiques, antibactériennes.

La médecine populaire attribue à *Malva sylvestris* L. diverses propriétés thérapeutiques, notamment dans le traitement de la toux, des affections respiratoires, des douleurs dentaires, des inflammations des muqueuses, des maux de gorge et des troubles digestifs (**Kültür et al., 2007**).

Ces effets bénéfiques sont liés à la richesse de la plante en composés bioactifs, présents notamment dans ses fleurs et ses feuilles. Malgré son usage répandu, *Malva sylvestris* L. demeure peu étudiée scientifiquement dans certaines régions d'Algérie, telles que la wilaya de Mila, notamment en ce qui concerne les propriétés pharmacologiques de ses fleurs séchées.

D'où la nécessité d'approfondir les recherches sur cette plante, afin de valider scientifiquement ses utilisations traditionnelles et de contribuer à sa valorisation.

L'objectif général de ce travail est donc d'évaluer les activités antifongique, antibactérienne, antioxydante des fleurs séchées de *Malva sylvestris* L., récoltées localement, afin de mettre en évidence ses usages thérapeutiques potentiels et d'enrichir les données scientifiques sur les plantes médicinales spontanées algériennes.

Le présent travail est structuré en trois chapitres :

- Le premier chapitre est consacré à une revue bibliographique sur *Malva sylvestris* L., incluant sa classification botanique, ses composés bioactifs et ses usages traditionnels.
- Le deuxième chapitre présente les matériels et méthodes utilisés dans cette étude, en détaillant les différentes techniques expérimentales mises en œuvre.
- Le troisième chapitre expose les résultats obtenus, suivis de leur interprétation et discussion.

Enfin, une conclusion générale viendra clore ce travail en résumant les principaux acquis et en proposant des perspectives de recherche futures.

Partie 1 : Synthèse bibliographique

I. Présentation de *Malva sylvestris* L .

I.1. Histoire et usages traditionnels de *Malva sylvestris* L :

La mauve était déjà prisée chez les anciens Grecs et Latins, à la fois comme légume et comme plante médicinale, d'origines d'Asie et du bassin méditerranéen, la *Malva sylvestris*.L est devenue une espèce très commune que l'on rencontre facilement à l'état sauvage dans les champs, le long des chemins (**Jesus, 2017**) Elle a été très tôt utilisée pour ses propriétés adoucissantes. Pythagore et ses élèves la considéraient comme (propre à modérer les passions et à tenir le ventre et l'esprit en liberté). Ils disaient la plante sacrée, parce que les fleurs s'orientent toujours vers le soleil, puis elle traversa les siècles sans faillir à sa réputation. Aujourd'hui encore, on lui reconnaît les mêmes bienfaits anti-inflammatoires, adoucissants expectorants et laxatifs (**Jesus, 2017**).

I.2. Description de la plante de *Malva sylvestris*.L:

Malva sylvestris L. est une plante médicinale de la pharmacopée algérienne, qui appartient à la famille des malvaceae, son nom dérive du latin «Malva» signifiant mauve qui Lui-même dérive du grec «malasso» voulant dire «adoucir» en référence à ses propriétés Émollientes (**Llopis, 2017**).

Malva sylvestris L., connue sous le nom commun «grande mauve» et en arabe sous celui de «Khoubeiza» et en kabyle sous le nom de «Amedjir», abondante en Europe, en Afrique du Nord et en Asie (**Ait Youssef, 2006**). La floraison de la grande mauve se produit Entre juin et septembre.

I.3. Description (botanique) de la plante :

Les feuilles de *malva sylvestris*.L est orbiculaires pétiolées sont placées alternativement sur la tige. Elle atteint une hauteur de 30 à 50 cm. Ses fleurs se composent de cinq pétales en forme de cœur d'un rose pourpré, décorés de stries violet foncé. Le Fruit est un schizocarpe ou une capsule (**couplan, 2009**).



Figure 1 : Représentation de différentes parties (fleurs et feuilles) de la plante de *Malva sylvestris* .L (photos personnelle, 2025).

I.4. Classification systématique :

L'espèce *Malva sylvestris* .L. est une plante appartenant à la famille des *Malvaceae*, sous-famille des *Malvoideae*, tribu des *Malveae*. Elle est classée dans le genre *Malva*, qui comprend environ 30 espèces de plantes herbacées (**The Plant List, 2013**). La position taxonomique de cette plante est représentée dans (tableau I)

Tableau 1 : Classification botanique de *Malva sylvestris*.L

Règne	Plantae (plante)
Embranchement	Magnoliophyta
Division	Tracheophyta
Classe	Magnoliopsida (Dicotylédones)
Ordre	Malvales

Famille	Malvaceae
Genre	Malva
Espèce	<i>Malva sylvestris</i> L.

I.5. Noms vernaculaires

L'appellation vernaculaire de la plante varie selon la région et la culture, offrant ainsi une richesse de dénominations ce qui facilite son identification et ainsi son usage traditionnel (Tableau II).

Tableau 2 : Les noms vernaculaires de *Malva sylvestris* L. (Ait Youcef, 2006 ; Flores, 2011; Ghedira et Goetz, 2016).

Langue	Nom vernaculaire
Arabe	خبازة
Français	Mauve, grande mauve, mauve sauvage, fromageon.
Anglais	Blue Mallow, High Mallow

I.6. Répartition géographique

La *grande mauve* est une plante très commune native en Europe, en Asie occidentale et en Afrique. Elle se rencontre à l'état subspontané dans la plupart des pays tempérés du globe et subtropicaux des deux hémisphères (Couplan & Debuigne, 2006 ; Blamey & Grey-Wilson, 1991 ; Schaffner, 1993) 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 & Douin, 1912-1935). Elle est nitrophile et préfère les sols pollués par les nitrates (Fournier, 1934-1940). C'est une plante rudérale, elle croît dans les décombres. Elle peut pousser jusqu'à 1500 m d'altitude. (Fournier, 1934-1940 ; Fletcher, 2007).

I.7. Usages et propriétés thérapeutiques

La *Malva sylvestris* L. une plante annuelle qui est non seulement consommée comme aliment, mais aussi largement utilisée en médecine traditionnelle (**Guarrera, 2005**).

I.7.1. Usages pharmacologiques

L'analyse phytochimique de cette plante a révélé que les feuilles et les fleurs sont les parties les plus couramment utilisées en raison de leurs richesses en divers composés bioactifs tels que des flavonoïdes, des dérivés phénoliques, des stérols, des mucilages, des tanins et des alcaloïdes. Ces composés sont responsables des nombreuses activités pharmacologiques de la mauve telles que les propriétés anti-inflammatoires, antimicrobiennes... (**Labri et Ziani, 2019 ; Batiha et al, 2022**). Elle est utilisée dans les préparations pharmaceutiques contre tous les cas d'inflammations, d'affections des voies respiratoires (bronchite, rhume, grippe) digestive et urinaires tel que la colite et la constipation chronique. La présence du mucilage dans les feuilles et les fleurs permet l'utilisation externe pour soigner diverses affections cutanées et pour le soin d'acné de peau (**Beloued, 2001**).

De nombreuses études démontrent l'importance de l'utilisation de *Malva sylvestris* L. dans la médecine traditionnelle. En usage local, elle est traditionnellement utilisée comme traitement d'appoint adoucissant et antiprurigineux des affections dermatologiques, trophique protecteur dans le traitement des crevasses, écorchures, gerçures et contre les piqûres d'insectes, en cas d'irritation ou de gêne oculaire, et antalgique dans les affections de la cavité buccale et/ou du pharynx (**Salhi C., 2018**).

À Estadilla (province de Huesca), elle est utilisée comme fébrifuge, rafraîchissante et pour traiter les hémorroïdes la décoction de feuilles soulage les maux de tête et celle des racines les douleurs dentaires. [**Hidalgo et al, 1999**]. La mauve fait partie de la «tisane des quatre fleurs», qui contient en réalité sept espèces : coquelicot, tussilage, pied de chat, bouillon-blanc, guimauve, violette et mauve. Les fleurs, feuilles et racines sont utilisées en usage interne et externe pour les inflammations et irritations. Elle est traditionnellement employée contre la constipation et pour stimuler les fonctions intellectuelles. [**Bruneton, 2009**]. En cataplasme, ses fleurs et feuilles sont décongestionnantes et permettent de drainer les toxines. Elle possède des propriétés anti-inflammatoires, veinoprotectrices, antiprurigineuses, antitussives et expectorantes, riche en mucilage, elle est intéressante dans le traitement de la constipation, la feuille montre également une action hypoglycémiante. [**Escop, 2003 ; Ema, 2016**]

Fleurs et feuilles sont traditionnellement utilisées pour soulager douleurs abdominales d'origine digestive, toux bénignes et maux de gorge.

Un lavement chaud à base de feuilles de *mauve* est bénéfique en cas d'inflammations intestinales. [Commission E (Allemagne), 1992]

En cosmétologie, les fleurs et feuilles présentent des propriétés adoucissantes, rafraîchissantes, astringentes et anti-couperose.

La feuille est réputée pour son effet décongestionnant.

Des extraits sont utilisés dans des laits et shampooings pour bébés, produits démaquillants, crèmes anti-rougeurs, crèmes émollientes pour peaux sèches et bains moussants rafraîchissants. [Duke, 2002]

I.7.2. Usages alimentaires

La mauve est traditionnellement utilisée comme un légume cru ou cuit en soupe (Aberrane et Mehalla, 2019). Les jeunes feuilles sont consommées crues dans les salades, les feuilles et les pousses sont consommées dans les soupes et sous forme de légumes bouillis. Les fruits immatures sont sucés ou mâchés par des enfants, des bergers et des chasseurs (Dadache et Bouzid, 2021). Celle-ci entre dans la composition de nombreux plats tels que le couscous et *khoubiz* à l'Aïl. De plus, cette plante est considérée comme un bon pâturage pour l'alimentation animale (Aberrane et Mehalla, 2019)

I.7.3. Usages cosmétiques

La mauve peut aussi être utilisée en cosmétologie, les fleurs et les feuilles présentant des propriétés adoucissantes, rafraîchissantes, astringentes et anti-couperose ; Des extraits de feuilles ou fleurs sont utilisés dans des laits ou shampooings pour bébés, des produits démaquillants, des crèmes anti-rougeurs, des crèmes émollientes pour peaux sèches ou des bains moussants rafraîchissants (L lopis, 2017).

II. Composition chimique de *Malva sylvestris* .L

II.1. Métabolites primaires

Les plantes photosynthétiques convertissent le dioxyde de carbone (CO₂) en métabolites primaires qui sont nécessaires pour leur vitalité. Ces molécules sont impliquées directement dans les grandes voies du métabolisme basal de la cellule c'est-à-dire indispensables à la survie de la cellule ou d'organisme. Ils sont divisés en trois groupes :

- Les glucides, source d'énergie, paroi cellulaire.
- Les lipides, source d'énergie, membrane cellulaire.
- Les acides aminés, source primaire de construction des protéines

Et ils sont considérés comme base de l'alimentation humaine et animale. **(Badiaga.M, 2012).**

II.2. Métabolites secondaires

Les principales molécules présentes chez les mauves sont des mucilages, des flavonoïdes (anthocyanes et anthocyanidines) et des tanins. Les mucilages présents dans cette plante sont des polysaccharides acides polyuroniques et neutres, ce sont ces mucilages qui lui donnent ses propriétés émolliente, anti-irritative et laxative à la mauve. Ces derniers sont souvent accompagnés de raphides ou de macles d'oxalate de calcium **(Wichtl, 2003 ; Classen & Blaschek, 1998)**. On trouve aussi des anthocyanes et des anthocyanidines dont la génine est soit la Delphini dîne, soit la malvidine, ils confèrent des qualités anti-oxydantes et anti-inflammatoires aux mauves, les polysaccharides et les flavonoïdes sont présent dans les fleurs et les feuilles. Alors que les tanins ne sont présents que dans les feuilles **(Herbal ,2000)**. L'étude de **(Cutillo et al. en 2006)** a permis de mettre en évidence dans les extraits aqueux de *mauve sylvestre* L. fraîche de très nombreux sesquiterpènes, un di terpène linéaire tétra hydroxylé, 2 mono terpènes, 6 C₁₃ nr-terpènes et 11 composés aromatiques (acides-phénols). On trouve aussi dans les fleurs des traces d'une coumarine : la scopolétine **(Wichtl, 2003 ; Tosi et al, 1995)**. Elles sont aussi riches en sels minéraux (calcium, magnésium, fer) et en vitamines **(Flore,2011)**.

II.3. Définition des métabolites secondaires :

Le terme « métabolite secondaire », qui a été introduit par Albrecht Kossel en 1891, est utilisé pour décrire une vaste gamme de composés chimiques dans les plantes, qui sont responsables des fonctions périphériques indirectement essentielles à la vie des plantes. Telles que la communication intercellulaire, la défense, la régulation des cycles catalytiques **(Yezza**

et Bouchama, 2014). Ces composés sont synthétisés dans les différentes parties de la plante (racines, tige, feuilles..). Quelles que soient les parties et les formes sous lesquelles sont métabolisées, ces substances sont extrêmement complexes du point de vue structure et composition chimique. Ils sont distribués différemment selon leurs rôles et cette distribution varie d'une plante à l'autre **(Cuendet ,1999)**. Tout fois, leur métabolisme produit des milliers de constituants différents, dont quelque uns seulement sont responsables de l'effet thérapeutique **(Bruneton, 1999)**

II.4. Classification des métabolites secondaires :

Les métabolites secondaires sont produits en très faible quantité, il existe plus de 200 000 métabolites secondaires classés selon leur appartenance chimique **(Cuendet, 1999)**. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine. **(Krief, 2003)**. La classification des métabolites secondaires des plantes repose sur leurs propriétés chimiques et les rassemblent en trois groupes de molécules: les composés phénoliques, les terpénoïdes et les alcaloïdes **(Bouaziz et al, 2014)**

II.5. Rôles physiologiques :

- Les composés phénoliques sont impliqués dans les réactions de défense contre les agents pathogènes ou le rayonnement UV.
- Ils sont engagés dans les processus de germination, floraison, tubérisation et la croissance racinaire.
- Le contrôle de la croissance et du développement des plantes en interagissant d'une manière complexe avec diverses hormones végétales de croissance.
- Composés de défense en repoussant certains insectes et prédateurs par leur goût désagréable **(Kebili , 2016)**.

II.6. Les composés phénoliques :

Les polyphénols ou composés phénoliques forment une grande classe de produits chimiques qui sont trouvés dans les plantes au niveau des tissus superficielles. Ils sont des composés photochimiques poly hydroxylés et comprenant au moins un noyau aromatique à 6 carbones et sont solubles dans les solvants polaires. Ils subdivisent en sous classe principales ; les acides phénols, les flavonoïdes, les lignines, les tanins...etc. **(Sarni-Manchado.P et Cheynier.V, 2006)**

II.6.1. Les flavonoïdes :

Selon **Marref, (2018)**, "Le terme flavonoïde" est un terme latin dérivé du mot grec "*Flavus*", qui signifie "jaune". C'est un terme qui englobe un large éventail de composés phénoliques, ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles . Ils constituent le principal groupe de polyphénols, avec plus de 9000 composés différents. (**Bruneton ,2009**). Ces composés possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbones, constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C6 (A et B), reliés par un hétérocycle en C3 (**Heller et Forkmann ,1999**). Le tableau III représente les classes des flavonoïdes selon (**Emeraux,2019**).

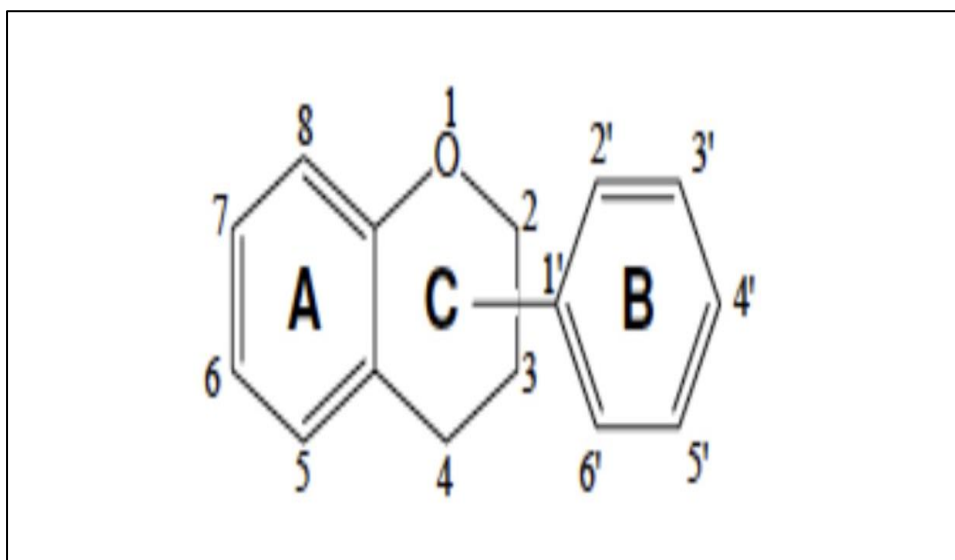


Figure 2 : Squelette de base commun aux Flavonoïdes (Emeraux,2019)

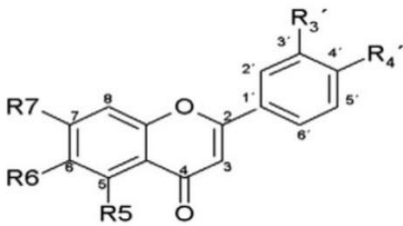
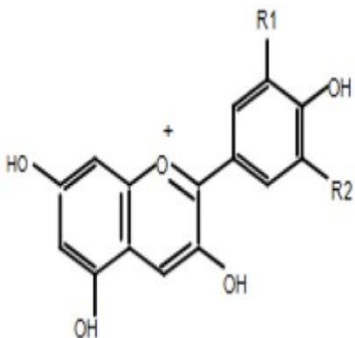
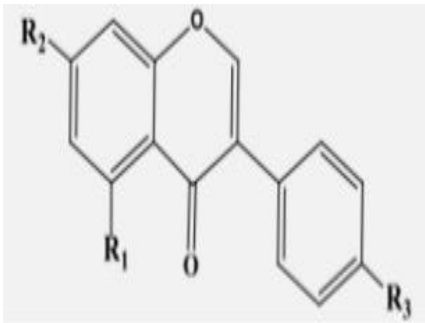
II.6.1.1. Les classes des flavonoïdes :

En basant sur leur squelette, les flavonoïdes peuvent être divisés en différentes classes :

- Les flavones
- Les flavanols
- Les flavanones
- Les dihydroflavonols
- les Isoflavones

Tableau 3 : Les classes des flavonoïdes selon (Emeraux,2019)

Classes	Structures chimiques	R3'	R4'	R5'	Exemples
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OC H3	H	Diosmétique
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		H	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myricétine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine

Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyanidines		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Isoflavones		H5	R7	R4'	
		OH	OH	OH	Genisteine
		H	O-Glu	OH	Daidezine

II.6.2. Les tanins :

Le mot tanin est un terme provient d'une pratique ancienne qui utilisait des extraits de plantes pour tanner les peaux d'animaux. Il existe deux types de tanin :

- Tanins condensés,
- Tanins **hydrolysables**

II.6.2.1. Les tanins hydrolysables :

Les tanins hydrolysables sont des polyesters de glucides et d'acides phénols, ils sont facilement scindés par les enzymes de tannases en oses et en acide phénol, selon la nature de celui-ci on distingue : les tanins galliques, et les tanins ellagiques (**Quideau, 2009**).

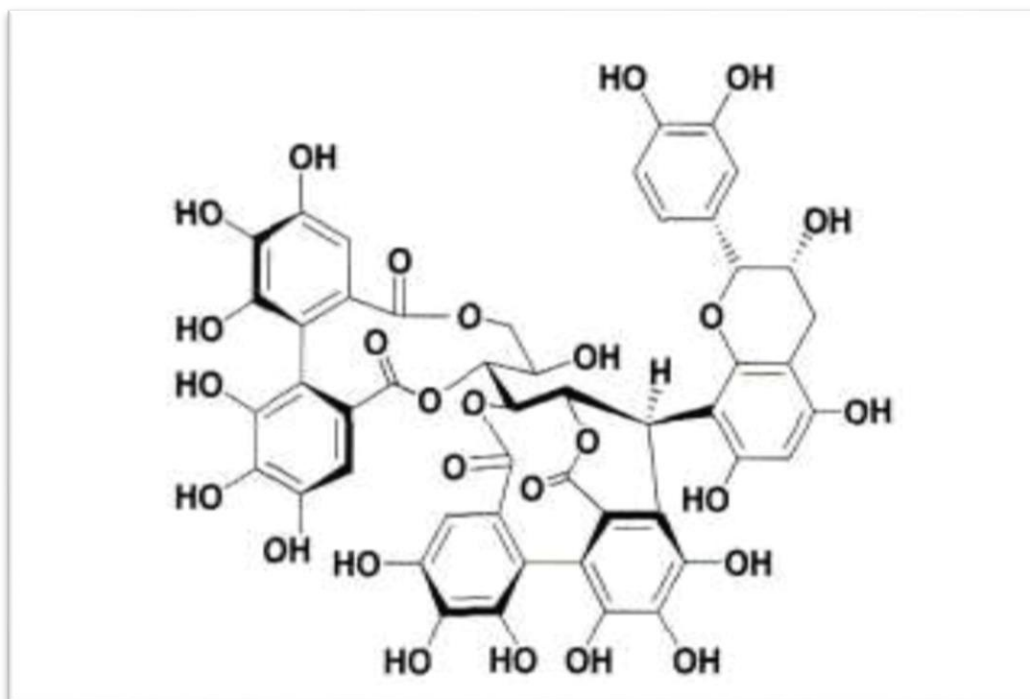


Figure 3 : Structure des tanins hydrolysables (Bruneton, 1999).

II.6.2.2. Les tanins condensés :

Les tanins condensés sont des polymères flavanolique constitués d'unités flavan-3-ols, le plus souvent épicatechine et catéchine. Ce sont des molécules hydrolysables, leur structure voisine de celle des flavonoïdes est caractérisée par l'absence de sucre (**Stevanovie et Perrin, 2009**).

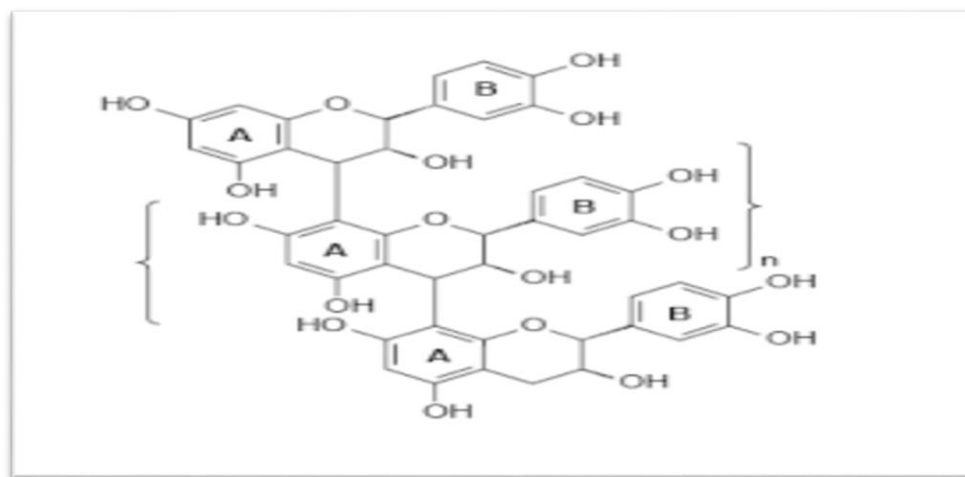


Figure 4 : Structure des tanins condensés (Bruneton, 1999).

Les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure, elles rendent les selles plus liquides, en facilitant ainsi le transit intestinal (Iserin.P et al, 2001).

II.6.3. Les mucilages :

Les mucilages sont des polymères complexes visqueux composés principalement de polysaccharides ramifiés et de certaines glycoprotéines (prajapati et al ,2017). Elles sont définies comme une substance gélatineuse d'origine naturelle avec un poids moléculaire élevé et des fortes interactions entre les polysaccharides et les protéines. Les polysaccharides constituant ces mucilages sont souvent polaires et très hydrophiles, de très hautes masses molaires, hautement ramifiés et composés de différents monosaccharides (arabinose, de xylose, de mannose, de galactose et de glucose (prajapati et al ,2017). Les mucilages représentent des métabolites primaires d'intérêt, jouant un rôle clé dans les propriétés pharmacologiques de la plante, notamment par leurs activités anti-complémentaires et antitussives. Sur le plan anatomique, ces substances sont localisées dans divers types de structures spécialisées telles que les idioblastes mucilagineux, les canaux sécréteurs de mucilage, les cavités intracellulaires, ainsi que certaines cellules épidermiques différenciées.

La teneur en mucilages bruts varie selon les organes végétatifs et reproducteurs, atteignant généralement des concentrations notables dans les feuilles (6,0 à 7,2 %), les fleurs (3,8 à 7,3 %) et les racines (environ 7,5 %) (Gasparetto et al., 2011).

II.6.4. Les coumarines :

Les coumarines sont des molécules largement répandues dans tout le règne végétal, sont des 2H-1-benzopyran-2-ones, considérées comme étant les lactones des acides 2-hydroxy-7 cinnamiques. Ces molécules existent sous forme libre solubles dans les alcools et dans les solvants organiques ou les solvants chlorés ou encore liées à des sucres (hétérosides) sont plus ou moins solubles dans l'eau (**Bruneton.J, 1999**).

II.6.5. Les alcaloïdes :

sont des métabolites secondaires d'origine végétale, présentant une très grande diversité chimique, avec plus de 12 000 composés identifiés à ce jour. On les retrouve en abondance dans les plantes à fleurs (angiospermes). Ils se caractérisent par la présence d'au moins un atome d'azote dans leur structure moléculaire, et par leur réaction généralement basique, ce qui explique leur appellation.

Ce sont des molécules souvent très complexes sur le plan chimique. Elles jouent un rôle important dans l'industrie pharmaceutique en raison de leurs propriétés biologiques marquées, bien que nombre d'entre elles soient toxiques. Certains alcaloïdes contiennent des noyaux hétérocycliques que l'on retrouve également dans des composés fondamentaux de la chimie organique. Leurs précurseurs sont, dans la majorité des cas, des acides aminés, qui fournissent les atomes d'azote nécessaires à leur structure (**Heller et al., 2004**).

On distingue généralement trois grandes classes d'alcaloïdes :

* **Les alcaloïdes vrais**: ce sont les plus nombreux. Ils contiennent l'atome d'azote dans un noyau hétérocyclique.

* **Les proto-alcaloïdes** : ils ont une structure proche de celle des amines, mais l'atome d'azote n'est pas inclus dans un cycle.

***Les pseudo-alcaloïdes** : bien qu'ils possèdent les mêmes caractéristiques que les alcaloïdes vrais, ils ne dérivent pas des acides aminés (**Ghedjati, 2014**).

II.6.6. Les terpènes :

Les terpènes sont des hydrocarbures insaturés naturellement présents dans la majorité des plantes. Ils sont formés d'unités d'isoprène (C_5H_8) et possèdent généralement une structure cyclique. Les terpénoïdes sont des dérivés fonctionnalisés des terpènes, contenant une ou plusieurs fonctions chimiques telles qu'un alcool, une cétone, un aldéhyde, un acide ou une lactone (**Malecky, 2007**).

Parmi les monoterpènes les plus courants, on retrouve l' α -pinène, le β -pinène et le dipentène (**Blayo, 2022**). Ces composés sont les constituants majeurs des huiles essentielles, stockées dans des tissus sécréteurs spécialisés. Ces huiles, légères et volatiles, sont responsables de l'arôme et de la saveur caractéristiques de nombreuses plantes (**René, 2011 ; Rufatto et al., 2017**).

La famille des terpènes comprend aussi des composés bioactifs importants tels que :
le phytol, composant de la chlorophylle.
la vitamine A, un diterpène (C₂₀).
et **l'acide abscissique**, un sesquiterpène (C₁₅) impliqué dans la régulation physiologique des plantes (**Heller et al., 2004**).

II.6.7. Les stérols :

Les stérols sont des composés lipidiques appartenant à la famille des triterpènes. Ils présentent une structure tétracyclique rigide contenant entre 27 et 29 atomes de carbone. On les retrouve majoritairement sous forme libre (environ 80 %) ainsi que sous forme estérifiée. Ils sont libérés notamment lors de la saponification des esters d'acides gras (**Giuffrè et al., 2012**).

Sur le plan biosynthétique, les stérols dérivent du **squalène**, un triterpène formé par la condensation tête-à-tête de deux molécules de **farnésyl diphosphate** (C₁₅), selon une voie de biosynthèse commune aux triterpènes (**Heller et al, 2004**). Sur le plan biosynthétique, les stérols dérivent du squalène, un triterpène formé par la condensation tête-à-tête de deux molécules de farnésyl diphosphate (C₁₅), selon une voie de biosynthèse commune aux triterpènes (**Heller et al, 2004**).

II.6.8. Les saponosides

Les saponosides, dont le nom provient du latin *sapo* signifiant « savon », sont des terpènes glycosylés appartenant à la grande famille des hétérosides. Leur nom fait référence à leur capacité à former une mousse stable dans l'eau, une propriété liée à leur structure tensioactive (**Boutaghane, 2013**). Ils peuvent être de nature stéroïdienne ou triterpénique, et parfois associés à des alcaloïdes glycosylés. Présents majoritairement chez les plantes supérieures, on les retrouve également chez certains animaux marins inférieurs et quelques bactéries (**Francis et al., 2002 ; Das et al., 2012**).

Bien qu'ils ne soient généralement pas toxiques, leur goût amer et piquant peut entraîner des irritations gastriques lors de la consommation orale (**Hopkins & Evard, 2003**). Ce sont des molécules fortement lipophiles, ce qui leur confère des propriétés tensioactives remarquables (**Foury & Patrat, 2015**). Grâce à leur capacité à interagir avec les lipides et les membranes biologiques, les saponosides sont largement utilisés dans la formulation de détergents, en raison de leur pouvoir de solubilisation des graisses (**Martini, 2011**).

Par ailleurs, ils sont dotés d'activités pharmacologiques variées, notamment des effets antiviraux, antifongiques, antibactériens, et présentent une toxicité marquée envers les animaux à sang froid (**Ouchtati, 2020**).

III. Les activités biologiques

III.1. Activité antioxydant :

Selon **Popovici, (2009)**, L'activité antioxydant se manifeste par la capacité à freiner les réactions en chaîne génératrices de radicaux libres, limitant ainsi leurs effets délétères. Cette propriété est largement observée au sein de nombreuses familles de polyphénols. Bien que les réactions d'oxydation soient essentielles au maintien des fonctions vitales, elles peuvent néanmoins causer des dommages. Les composés antioxydants se composent principalement de composés phénoliques classiques, incluant les acides phénoliques ainsi que les flavonoïdes. Parmi les acides phénoliques, on retrouve notamment l'acide caféique, l'acide vinylique et l'acide férulique, qui sont largement répandus dans le règne végétal et reconnus à plusieurs reprises pour leur rôle d'antioxydants naturels (**Spiridon et al., 2011**).

III.1.1. Les radicaux libres:

Les radicaux libres sont des produits dérivés du métabolisme cellulaire pouvant engendrer des effets toxiques sur les tissus biologiques.

Ils sont connus pour provoquer des altérations de l'ADN, des membranes cellulaires, ainsi que des protéines et des lipides (**Desport et Couratier, 2002**).

Un radical libre se définit comme un atome ou une molécule possédant un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui le rend hautement réactif.

Parmi les principaux types de radicaux libres figurent le radical hydroxyle, l'anion superoxyde, le radical pyroxyde lipidique et le radical alcoxyde lipidique (**Ondua et al, 2019**).

III.1.1.1. Activité anti-radicalaire :

III.1.1.1.1. Le test DPPH :

Le test utilisant le radical libre DPPH constitue une méthode de référence largement reconnue pour l'évaluation de l'activité antioxydant des composés présentant des groupes fonctionnels tels que SH-, NH- et OH-.

Réalisé à température ambiante, ce test permet d'éviter la dégradation thermique des molécules thermolabiles.

Il est particulièrement adapté à l'analyse des extraits hydrophiles issus de matrices végétales riches en composés phénoliques, comme le thé vert, les jus de fruits, le raisin, ainsi

que ses pépins et sa pulpe, reconnus pour leur potentiel antioxydant élevé (**Popvici et al, 2009**).

III.1.1.1.2. Le test ABTS :

Également appelé test des radicaux libres, est utilisé pour évaluer l'activité antioxydant des composants présents dans les aliments et les boissons.

Cette méthode repose sur l'activation de la méthémoglobine par le peroxyde d'hydrogène en présence de l'ABTS.

Dans sa version améliorée, un cation radical stable ABTS⁺ est généré par oxydation de l'ABTS à l'aide du persulfate de potassium, avant l'ajout des antioxydants.

L'efficacité antioxydante est déterminée par la diminution de l'absorbance à 734 nm, ce qui reflète la réduction du radical ABTS⁺.

Les résultats sont exprimés en capacité antioxydante équivalente au Trolox (TEAC), en comparant l'absorbance du mélange ABTS-antioxydant à celle d'une solution standard de Trolox (**Joon-Kwan Moon et Takayuki Shibamoto, 2009**).

La méthode de (**Re et al. 1999**) est généralement utilisée pour cette analyse.

III.1.2. Les Antioxydants :

Les antioxydants sont définis comme des substances capables, à de faibles concentrations par rapport aux substrats oxydables, de retarder, prévenir ou neutraliser les effets délétères de l'oxydation en interagissant avec les espèces réactives de l'oxygène (ERO), contribuant ainsi à la protection des cellules contre les dommages oxydatifs (**Rice-Evans et al., 1996**). Leur action peut être directe, par piégeage des radicaux libres, ou indirecte, via leur rôle structurel ou fonctionnel au sein des enzymes antioxydantes, ou en tant que cofacteurs nécessaires à l'activité de ces enzymes (**Mezouar et al., 2014**). Ces composés jouent un rôle essentiel dans la protection de l'organisme contre les dommages provoqués par les espèces réactives de l'oxygène. De nombreux extraits et produits d'origine végétale ont montré une activité antioxydante significative, ce qui a suscité un intérêt croissant pour les substances naturelles et les médicaments à base de plantes. Ces derniers sont de plus en plus développés comme alternatives aux traitements pharmaceutiques classiques, en réponse aux problèmes de santé et aux coûts élevés des médicaments conventionnels (**Çoban et al., 2011**).

III.2. L'activité antibactérienne :

Les micro-organismes jouent un rôle majeur dans l'apparition des infections bactériennes, ainsi que dans la propagation de nombreuses maladies mortelles et épidémies. Pour lutter contre ces menaces, des antibiotiques ont été découverts et développés. Il s'agit de substances produites par certains micro-organismes, capables d'inhiber la croissance des bactéries ou de les éliminer complètement (**Ben Abdallah et al., 2019**).

III.2.1. Les bactéries :

III.2.1.1. Définition et classification

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires appartenant au règne des procaryotes, caractérisés par l'absence de noyau véritable. Leur taille varie généralement entre 0,5 et 5 micromètres, elles présentent une diversité morphologique notable, pouvant adopter des formes sphériques (coques), allongées (bacilles) ou spiralées (spirilles). Elles sont ubiquistes, c'est-à-dire qu'elles sont présentes dans une grande variété de milieux naturels tels que le sol, l'air, l'eau, ainsi que sur les végétaux et les animaux. Si de nombreuses espèces jouent un rôle essentiel dans l'équilibre des écosystèmes, d'autres sont pathogènes et impliquées dans des maladies infectieuses graves telles que le choléra, la syphilis ou encore la tuberculose (**Hahn et al., 2003**).

La classification bactérienne repose notamment sur la méthode de coloration de Gram, qui permet de distinguer deux grands types :

- Les **bactéries à Gram positif**, qui apparaissent violettes au microscope en raison d'une paroi cellulaire épaisse.
- Les **bactéries à Gram négatif**, qui se colorent en rose en raison de la présence d'une paroi plus fine accompagnée d'une membrane externe.

III.2.1.2. Les souches bactériennes testées :

1. *Escherichia coli* :

Est un micro-organisme unicellulaire de forme bacillaire, appartenant au groupe des bactéries à Gram négatif. Il s'agit de l'un des micro-organismes les plus étudiés en microbiologie, présent naturellement dans l'intestin des animaux, où il est généralement inoffensif pour l'hôte (**Mainil, 2013 ; Kaper et al., 2004**).

2. *Pseudomonas aeruginosa* :

Selon **Sokatch, (2012)**. Elle est un microorganisme sous la forme d'un bacille. C'est une bactérie à Gram négatif, qui se trouve principalement dans le sol et l'eau et est un agent pathogène opportuniste des plantes (**Frank. 2022**).

3. *Staphylococcus aureus* :

La bactérie *Staphylococcus*, de type Gram positif, est capable de provoquer divers types d'infections en formant des amas purulents ou pyogènes (**Devlynne et al., 2018**). Ces infections se manifestent souvent sous forme de maladies chroniques qui peuvent endommager la peau et parfois toucher d'autres tissus ou organes (**Götz, 2002**).

4. *Bacillus subtilis* :

Bactérie a une forme de bâtonnet, de gram-positive est aérobie (**Kunst et al., 1999**).

III.3. Définition de champignon :

Les champignons, appelés également mycètes, sont des organismes eucaryotes pouvant être unicellulaires ou pluricellulaires. Ils regroupent des espèces visibles à l'œil nu (macromycètes) et d'autres microscopiques (micromycètes), de forme filamenteuse ou semblable à celle des levures. Présents dans tous les milieux naturels, ils jouent un rôle fondamental dans le recyclage de la matière organique, en se nourrissant de sources de carbone externes, ce qui en fait des êtres hétérotrophes (**Dominique et al., 2002**).

Dans la classification du vivant, les champignons forment un règne à part, distinct de celui des plantes et des animaux. Leur structure morphologique se caractérise par un lien étroit avec leur substrat nutritif, grâce à un réseau de filaments appelé mycélium, particulièrement développé (**Dominique et al., 2002**).

III.3.1. Les types de champignons Testé :

1. *Aspergillus flavus* :

Connu sous le nom de champignon du marbre, il s'agit d'un type de champignon pathogène qui infecte et contamine les cultures de maïs et d'arachide et présente plusieurs manifestations (granulés, laine, poudre). Au début, il est de couleur jaune, qui devient vert avec le temps, puis brun jaunâtre, de longueur variable, rugueux et a une forme gravée ou hérissée, et il se répand dans l'air et laisse des effets nocifs sur l'homme, car il est cancérigène et provoque une sinusite, une dermatite et une pneumonie (**Hedayati et al., 2007**).

2. *Candida albicans* :

Est un champignon microscopique appartenant au règne des Fungs, division des Ascomycota, et à la famille des Saccharomycetaceae. Il fait naturellement partie de la flore humaine, notamment au niveau de la bouche, de l'intestin, de la peau et des organes génitaux. En conditions normales, il est inoffensif, mais il peut devenir pathogène lorsque le système immunitaire est affaibli ou en cas de déséquilibre de la flore microbienne, provoquant ainsi des infections fongiques comme le muguet buccal ou les mycoses génitales. **(Krick et al,2008).**

3. *Aspergillus fumigatus* :

Est un champignon filamenteux omniprésent dans l'environnement, notamment dans le sol et la matière organique en décomposition. Il est considéré comme un pathogène opportuniste majeur, responsable d'aspergilloses, en particulier chez les individus immunodéprimés, tels que les patients atteints de cancer, ayant subi une greffe, ou souffrant de maladies pulmonaires chroniques. **(Latgé, 1999).**

Partie II : Etude expérimentale
(Matériels et méthodes)

IV. Matériels et méthodes

IV.1. Matériels

IV.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de fleurs de *Malva sylvestris* L., collectées au niveau d'un champ de Wilaya de Mila. Les fleurs ont été récoltées au début du mois de Mars 2025, par une journée ensoleillée. La récolte a été réalisée de manière aléatoire.

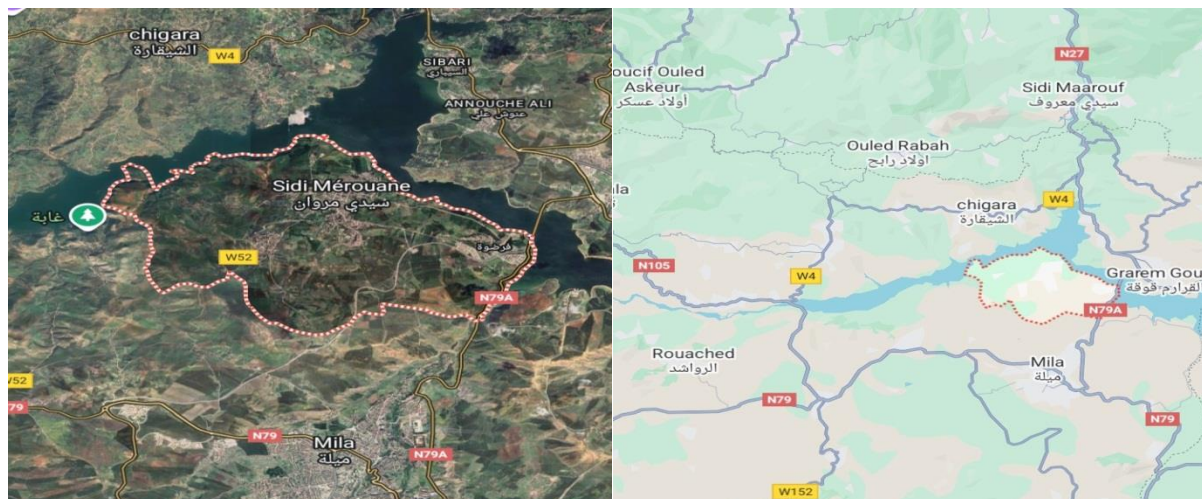


Figure 5 : Localisation géographique de la région de récolte (Google maps).

IV.1.2. Les souches bactériennes testées

Nous avons utilisé quatre souches bactériennes :

Tableau 4 : Les souches bactériennes testées

bactéries à gram positif	bactéries à gram négatif
• <i>Staphylococcus aureus</i>. • <i>Bacillus spizizenii</i>.	• <i>Escherichia coli</i>. • <i>Pseudomonas aeruginosa</i>.

IV.1.3. Les souches fongique testés

- *Aspergillus fumigatus*.
- *Aspergillus Flavus*.
- *Candida albicans*.

IV.2. Méthodes de travail

IV.2.1. Préparation des extraits végétaux

Pour extraire des composés biochimiques à partir des fleurs de *Malva silvestris* L.

IV.2.1.1. Séchage et broyage du matériel végétal

Après la récolte, les fleurs ont été triées et séchées à l'air libre pendant environ 10 à 15 jours, jusqu'à obtention d'un poids sec constant. Par la suite, celles-ci ont été broyées par un broyeur électrique jusqu'à obtention d'une poudre fine.

La poudre a été conservée dans des flacons en verre et stockée à l'abri de la lumière et de l'humidité.



Figure 6 : Broyage des fleurs de *Malva sylvestris* (Photo personnelle, 2025).

IV.2.1.2. Extraction des composés phénoliques

➤ Principe :

L'étape d'extraction est considérée comme une étape primordiale d'analyse et d'identification des molécules bioactives. L'extraction de produits naturels est généralement de type solide-liquide. Des méthodes dites traditionnelles, comme la macération, la décoction étaient jusqu'ici utilisées et considérées comme techniques de choix pour extraire les composés naturels (Mendiola, 2007).

Dans notre étude, nous avons utilisé deux méthodes d'extractions qui sont :

- Extraction par macération dans le méthanol aqueux.

Afin d'extraire les composés bioactifs de la plante étudiée, nous procédons à une macération, où 20 g de poudre de fleurs ont été mélangées à 400ml de solvant hydro-méthanolique (70% de méthanol et 30% d'eau distillée), la préparation est répétée 2 fois,

Donc 40g de poudre à 800ml de solvant.

Puis laissées sous agitation continue pendant 24h à température ambiante.

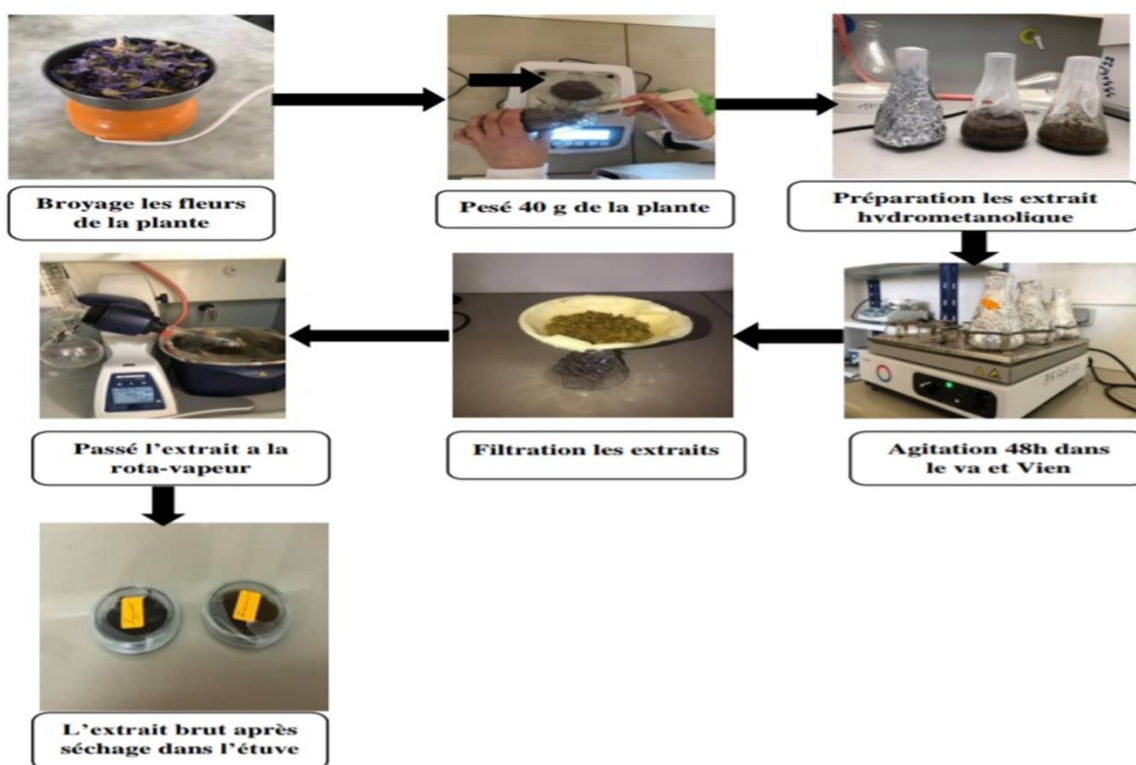
Le macéra est ensuite filtré à l'aide d'un papier filtre whatman numéro 01 afin d'éliminer le maximum de matières végétales et d'obtenir un liquide limpide et homogène.

Ensuite, un transvasement de l'extrait de malva dans un ballon est effectué, afin, d'éliminer le solvant à l'aide d'un évaporateur rotatif muni d'une pompe à vide et ce à une température de 45°C. Dans cette dernière étape, on prend soin de noter la masse du ballon avant et après évaporation afin de calculer le rendement d'extraction

Après l'avoir retiré de l'évaporateur rotatif, nous le mettons dans l'étuve pour sécher complètement l'extrait à une température de 45 °C pendant 3 jours.

Ainsi, le résidu sec obtenu est conservé à une température de 4 à 6 °C pour protéger ses caractéristiques physicochimiques.

Ce Schéma présenter les étapes d'extraction :



IV.2.1.3. Rendement de l'extraction :

Le rendement désigne la masse de l'extrait obtenue après évaporation complète de méthanol et l'eau par rapport à la masse initiale de la poudre soumise à l'extraction.

Il est exprimé en pourcentage (%) et calculé suivant la formule présentée ci-dessous :

$$R\% = (Me / Mv) \times 100$$

- R: C'est la production rentable d'extraits (%).
- Me: C'est la masse de matière végétale sèche qui obtenue après l'évaporation du solvant en mg.
- Mv: C'est la masse de matière végétale sèche qui utilisée dans l'extraction en mg.

IV.2.2. Etude phytochimique :

IV.2.2.1. Screening phytochimique :

Le screening phytochimique est un moyen de mettre en évidence la présence des groupes de familles chimiques présentes dans une drogue donnée.

Les tests phytochimiques réalisés sur les fleurs de *Malva sylvestris* L. ont porté sur quelques substances du métabolisme secondaire, comme tests d'orientation pour une étude phytochimique de ces fleurs.

La caractérisation des substances chimiques bioactives met en œuvre des réactions en tube, soit par précipitation, soit par coloration, pour l'identification des différentes substances chimiques existantes dans la plante. Les méthodes de caractérisation utilisées dérivent de celles décrites par **Paris et Nothis (1978)**.

Nous avons dosé les métabolites suivants : alcaloïdes, coumarines, flavonoïdes, saponosides, tannins, glucosides cardiaques, amidon, mucilages, acides aminés, stérols et triterpènes.

IV.2.2.1.1. Phytochimie qualitative :

➤ Test des tanins :

La présence des tannins est mise en évidence en ajoutant à 2 ml de l'extrait et 1 à 2 gouttes de solution de $FeCl_3$ diluée à 1%.

L'apparition d'une coloration verte foncée ou bleue verte indique la présence des tanins.

L'apparition d'une coloration verte foncée indique la présence de tanins catéchiques.

L'apparition d'une coloration bleu-vert indique la présence de tanins galliques (Boufellous, 2018).

➤ **Test des alcaloïdes :**

On ajout 2 ml de réactif de Wagner (2g d'iodure de potassium KI + 1,27 g d'iode I₂ + 100 ml d'eau distiller) à 2 ml de l'extrait.

L'apparition d'un précipité blanchâtre ou jaune indique la présence des alcaloïdes. (Benzahi et Chaouch, 2001).

➤ **Test des saponosides :**

On mélange soigneusement 5 ml de la solution à tester avec 10 ml d'eau distillée pendant 2 minutes. La formation d'une mousse stable, persistante après 15 minutes, indique la présence de saponosides (Karumi et al., 2004).

➤ **Test des flavonoïdes :**

À 5 ml de chaque extrait, on ajoute quelques gouttes d'HCl concentré, puis une petite quantité de tournures de magnésium. Après un certain temps de réaction, L'apparition d'une coloration rouge à orangée révèle la présence de flavonoïdes (Karumi et al., 2004).

➤ **Test des acides aminés :**

Ce test repose sur la réaction des acides aminés avec la ninhydrine. À 1 ml de la solution à tester (préalablement dissoute dans l'eau distillée), on ajoute 1 ml de solution de ninhydrine à 1 %, préparée dans l'acétone ou l'éthanol. Le mélange est ensuite chauffé au bain-marie. L'apparition d'une coloration violette indique la présence d'acides aminés (Harborne, 1998).

➤ **Test des glycosides cardiaques :**

Deux millilitres de chaque extrait sont dissous dans 2 ml de chloroforme, puis de l'acide sulfurique concentré est ajouté avec précaution. Un anneau brun-rougeâtre à l'interface indique la présence de glycosides cardiaques (Harborne, 1973)

➤ **Test des mucilages :**

Un millilitre d'extrait aqueux est mélangé à 5 ml d'alcool absolu. L'apparition d'un précipité floconneux indique un test positif (Karumi et al., 2004).

➤ Test des coumarines :

Deux grammes de poudre sont portés à ébullition sous reflux dans 20 ml d'alcool éthylique pendant 15 minutes. Après refroidissement, le mélange est filtré. À 5 ml du filtrat obtenu, on ajoute 10 gouttes d'une solution alcoolique de KOH à 10 %, puis quelques gouttes d'HCl à 10 %.

➤ Les stérols et les tri-terpènes :

On place 1g de poudre dans un tube à essai contenant 20 ml d'éther. Le mélange est bien agité, puis laissé au repos pendant 24 heures. Après macération, il est filtré et le volume est ajusté à 20 ml avec de l'éther.

Pour le test, 10 ml de l'extrait sont évaporés à sec dans une capsule. Le résidu est repris dans 1 ml d'anhydride acétique et 1 ml de chloroforme. Le tout est transféré dans un tube à essai.

À l'aide d'une pipette, on ajoute doucement 1 à 2 ml d'acide sulfurique concentré au fond du tube, sans agiter.

La présence de stérols et de triterpènes est révélée par l'apparition d'un anneau rouge brunâtre ou violacé à l'interface, accompagnée d'une coloration verte ou violette de la phase supérieure (Mouellet, 2005).

➤ Test d'amidon :

L'extrait aqueux est traité avec le réactif d'amidon. La coloration bleu violacé indique un test positif.

Le réactif est préparé en dissolvant 1,2 g d'iode (I_2) et 2,5 g d'iodure de potassium (KI) dans 500 ml d'eau distillée.

Un test positif se manifeste également par l'apparition d'une teinte rouge-orangé (Benmehdi, 2000).

IV.2.2.1.2. Etude quantitative :**IV.2.2.1.2.1. Dosage des polyphénols totaux :**

Le dosage des phénols totaux dans les extraits floraux de *Malva sylvestris* L. est effectué par spectrophotométrie selon la méthode du réactif de Folin-Ciocalteu.

Au Centre de Recherche en Sciences Pharmaceutiques de Constantine.

➤ **Principe :**

Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques par le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) qui est réduit, lors de l'oxydation des phénols qui entraînent la formation d'un nouveau complexe bleu d'oxyde métalliques tungstène (W_8O_{40}) et molybdène (Mo_8O_{23}) de couleur bleu.

L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (Skerget *et al.*, 2005 ; Ribéreau, 1968).

➤ **Mode opératoire**

Pour cela, 20 μ L de l'extrait sont mélangés à 100 μ L du réactif de Folin-Ciocalteu, initialement de couleur jaune clair.

Ensuite, 75 μ L de solution de carbonate de sodium sont ajoutés, alcalinisant le milieu et conduisant à la formation d'un complexe polymérique bleu alcalin.

Le mélange est agité doucement puis incubé pendant 2 heures à température ambiante, à l'abri de la lumière, permettant le développement complet de la coloration bleue. L'absorbance est mesurée à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

La concentration totale en phénols est déterminée par comparaison avec une courbe d'étalonnage préparée à partir d'un standard d'acide gallique.

Les résultats exprimés en mg d'équivalent acide gallique / g d'extrait.

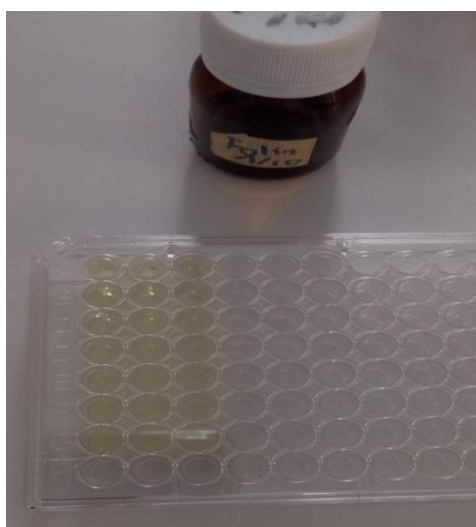


Figure 7 : préparation des différentes concentrations de Dosage des polyphénols totaux (Photo personnelle, 2025).

IV.2.2.1.2.2. Dosage des flavonoïdes :

La méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl_3) (Bahorun et al., 1996) a été utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans le extrait de *Malva sylvestris*.L.

Au Centre de Recherche en Sciences Pharmaceutiques de Constantine.

➤ **Mode opératoire :**

À 100 μL d'échantillon ou de solution standard (préparés dans le méthanol) sont ajoutés 100 μL d'une solution de trichlorure d'aluminium AlCl_3 (10 % dans l'eau distillée).

Après 10 minutes de réaction à température ambiante, un changement de couleur jaune est observé.

La lecture de la densité optique à 455 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis.

La quercétine est utilisée comme standard pour l'établissement d'une courbe d'étalonnage dans une gamme.

IV.2.2.1.2.3. Evaluation de l'activité antioxydante :

L'activité antioxydante a été évaluée in vitro, par la mesure du pouvoir de piégeage du radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyle (DPPH). Et Inhibition du radical cation (ABTS+).

Au Laboratoire de recherche – Université Frères Mentouri – Constantine.

IV.2.2.1.2.3.1. Méthode de Di-Phenyl-Picryl-Hydrazyl (DPPH) :

➤ **Principe**

Le DPPH est un radical libre stable que nous avons utilisé pour remplacer les radicaux libres produits par les cellules en réponses à des stress internes ou externes.

En présence d'un antioxydant, le 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyle, de couleur violette se réduit en 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazine, de couleur jaune, lorsque l'électron célibataire est apparié (Kim, 2003; Molyneuxs, 2004).

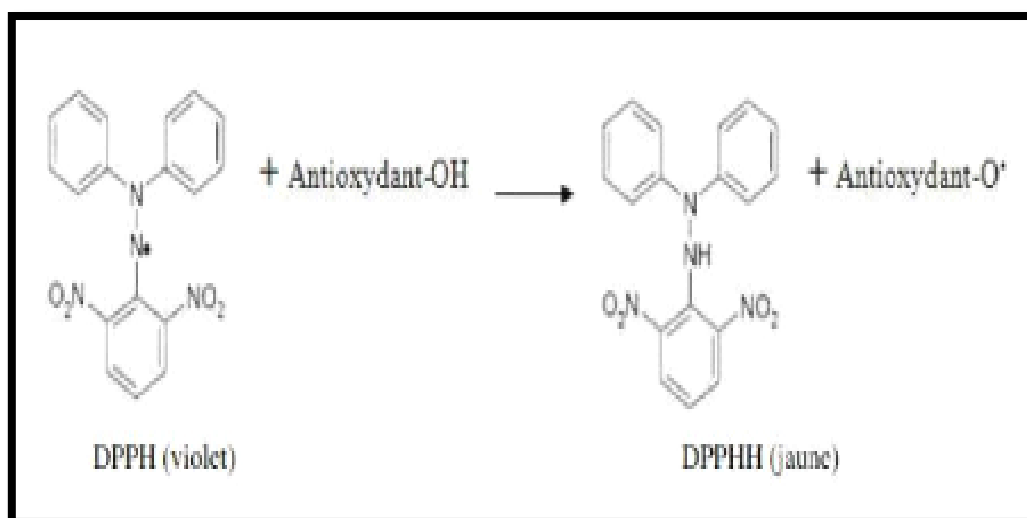


Figure 8 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH (Molyneuxs, 2004)

➤ Mode opératoire

La méthode DPPH a été réalisée selon les étapes suivantes :

✓ Préparation de la solution de DPPH : 24 mg de poudre de DPPH ont été dissous dans 100mL de méthanol.

Cette solution a été agitée pendant 24 heures à température ambiante.

Le solvant utilisé pour la dilution des extraits était un mélange de 70 % méthanol et 30 % eau distillée.

✓ Pour chaque test, 100 μ L de la solution DPPH ont été mélangés à 40 μ L de l'extrait hydrométhanolique de *Malva sylvestris*.L.

Après agitation, les échantillons ont été incubés à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 minutes.

✓ Les mesures d'absorbance ont été réalisées à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

✓ Chaque concentration a été testée 3 fois pour assurer la reproductibilité des résultats.

✓ Le blanc a été préparé en mélangeant 1mL de méthanol, 2mL d'eau distillée et 1mL de solution hydrométhanolique de DPPH (Koleva et al., 2002).

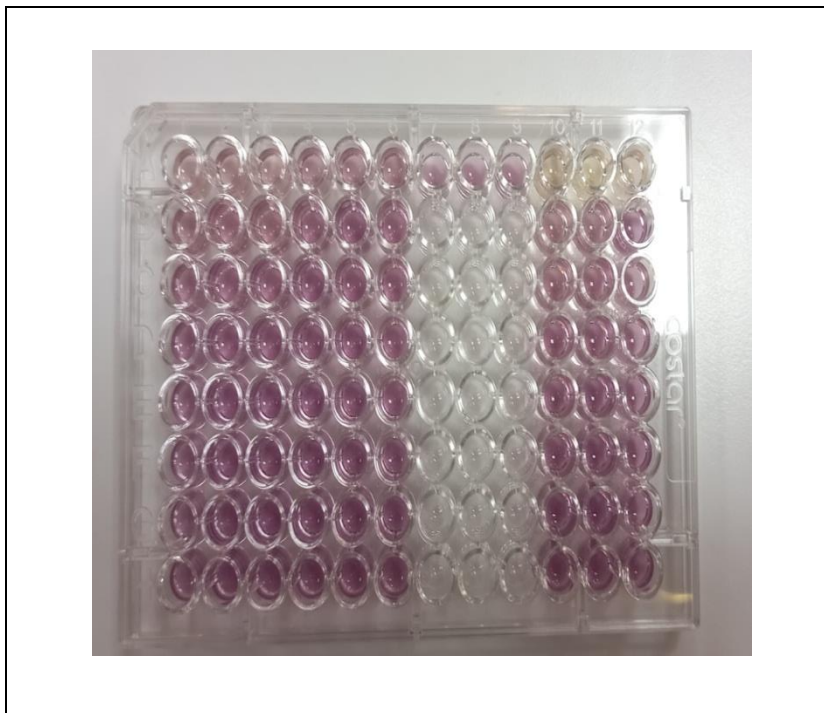


Figure 9 : préparation des différentes concentrations des DPPH (Photo personnelle, 2025).

IV.2.2.1.2.3.2. Inhibition du radical cation ABTS^{•+} :

➤ Principe :

En réagissant avec le persulfate de potassium (K₂S₂O₈), l'ABTS (acide 2,2'-azinobis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)) forme le radical ABTS^{•+}, de couleur bleu-vert.

L'ajout d'un antioxydant réduit ce radical et provoque une décoloration de l'ABTS.

La décoloration du radical mesurée par spectrophotométrie à 734 nm (Hajjaj, 2017).

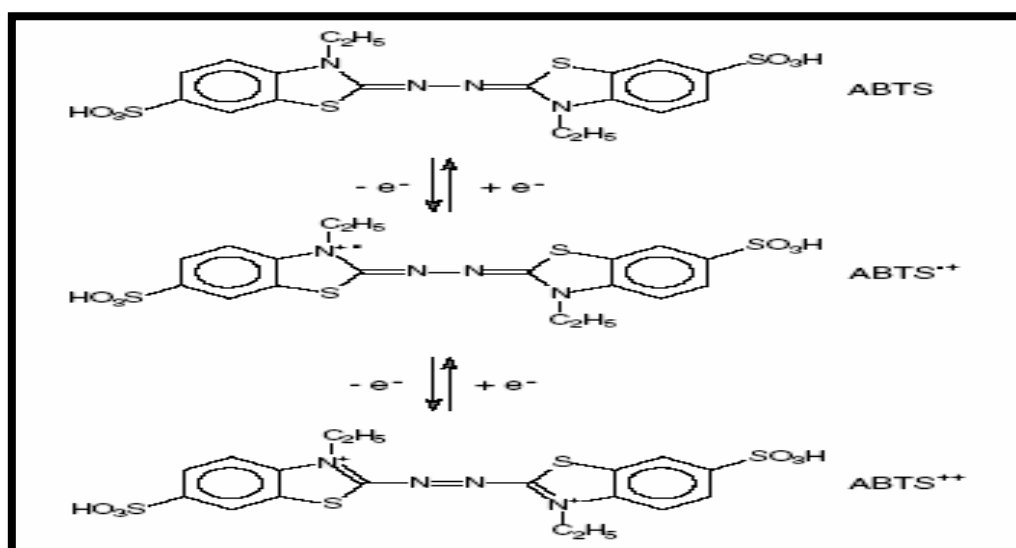


Figure 10 : Les étapes de formation du radical ABTS (Stjepan et al., 2007).**➤ Mode opératoire :**

Préparer des dilutions décroissantes de l'extrait dans le méthanol selon plusieurs concentrations.

IV.2.2.1.2.3.3. Montage sur microplaque (96 puits) :

Type de puits / Contenu :

Tableau 5 : Montage sur microplaque

Type de puits	Contenu
Échantillons	40 μL de l'extrait dilué + 160 μL de la solution ABTS ⁺ (à différentes concentrations).
Contrôle	40 μL de la solution mère + 160 μL de la solution ABTS ⁺
Blanc	40 μL méthanol + 160 μL de PBS (sans ABTS ⁺)

- ✓ Mélanger doucement le contenu de chaque puits (pipetage ou agitation douce).
- ✓ La plaque est incubée à température ambiante et à l'obscurité pendant 10 minutes.
- ✓ Mesurer l'absorbance à 734 nm à l'aide d'un lecteur de microplaque

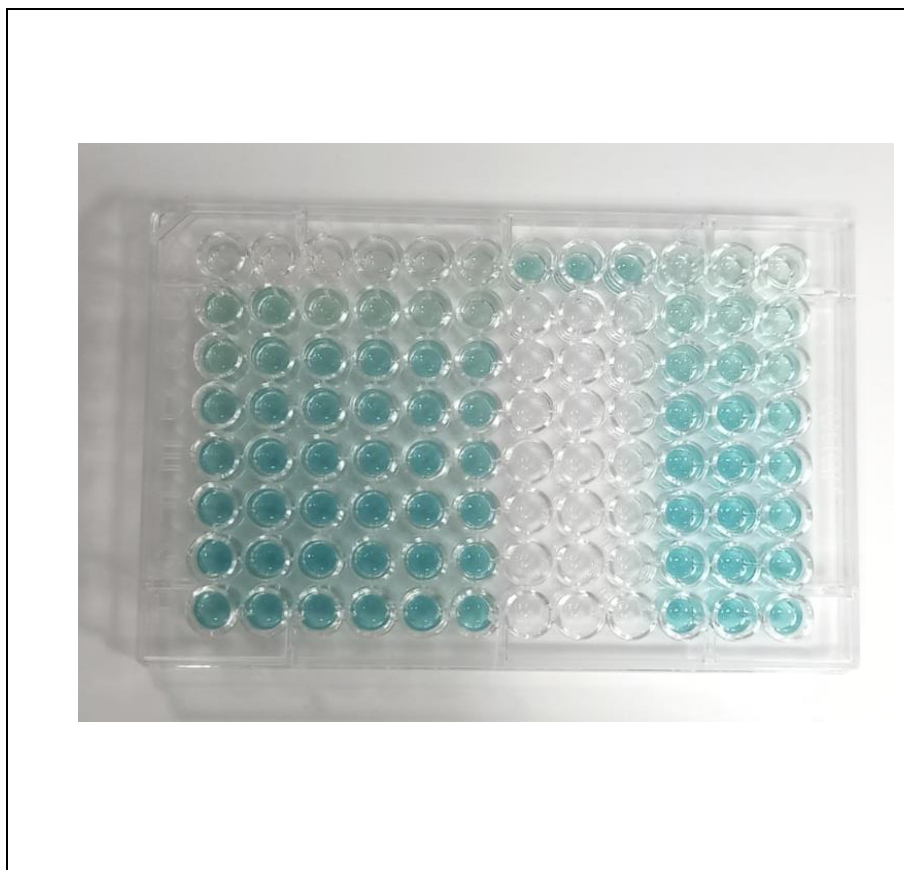


Figure 11 : préparation des différentes concentrations des ABTS+ (**Photo personnelle, 2025**).

IV.2.3. Évaluation de l'activité antibactérienne :

Les tests d'activité antibactérienne ont été réalisés au niveau du laboratoire pédagogique du Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf Mila.

Cette technique consiste à étaler la culture bactérienne sur un milieu d'agar nutritif, puis à déposer, à la surface, des disques et des puits imprégnés d'extraits végétaux à sa surface.

Si ces extraits possèdent des propriétés antibactériennes, une zone claire sans croissance bactérienne apparaîtra autour de chaque disque.

Le diamètre de cette zone constitue un indicateur du pouvoir inhibiteur de l'extrait vis-à-vis de la souche bactérienne étudiée.

IV.2.3.1. Les Souches bactériennes testées :

Les souches bactériennes utilisées dans ce test nous ont été fournies par **Dr. Amira Amira**. Les souches employées sont présentées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 6 : Les bactéries testées.

Bactérie	Gram	Code
<i>Bacillus subtilis</i>	Positif	ATCC 6633
<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif	ATCC 25923
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Négatif	ATCC 27853
<i>Escherichia coli</i>	Négatif	ATCC 25922

IV.2.3.2. Préparation des milieux :

L'évaluation de l'activité antibactérienne a été réalisée par la technique de diffusion en milieu solide, connue sous le nom de méthode de diffusion en puits, avec quelques modifications apportées au protocole original (Rahal et al., 2005).

IV.2.3.2.1. Préparation du bouillon nutritif:

Le bouillon nutritif (BN) est utilisé pour évaluer la vitalité des bactéries ainsi que pour la réactivation et la conservation des souches bactériennes.

Pour le préparer, on dissout 4 g de BN dans 250 ml d'eau distillée en agité pendant quelques minutes jusqu'à dissolution complète.

Une fois le bouillon prêt, il est réparti dans des tubes en verre munis de bouchons.



Figure 12 : Préparation du Bouillon Nutritif (BN) (Photo personnelle, 2025).

IV.2.3.2.2. Préparation de milieu Mueller Hinton (MH) :

Le milieu Mueller Hinton est utilisé pour le repiquage des souches bactériennes en vue d'évaluer leur activité antibactérienne.

Pour sa préparation, on introduit 38g de poudre MH dans un erlenmeyer contenant 1000 ml d'eau distillée. Le mélange est agité en continu sur une plaque chauffante à température élevée jusqu'à ébullition.

Une fois le milieu prêt, il est réparti dans des flacons en verre.



Figure 13 : Préparation de milieu Mueller Hinton (MH) (Photo personnelle, 2025).

IV.2.3.2.3. Préparation de Gélose nutritif :

La gélose nutritive est un milieu de culture ordinaire, non sélectif, couramment utilisé pour favoriser la croissance de diverses souches bactériennes.

Dans le cadre de cette préparation, une quantité de 500ml d'eau distillée a été utilisée, dans laquelle 20g de poudre déshydratée de gélose nutritive ont été ajoutés conformément aux recommandations de la fiche technique du fabricant.

Le mélange a été homogénéisé à l'aide d'un agitateur magnétique dans un erlenmeyer jusqu'à dissolution complète du milieu.



Figure 14 : Préparation de milieu Gélose nutritive (Photo personnelle, 2025).

IV.2.3.2.4. Préparation de l'eau physiologique :

L'eau physiologique est préparée en vue de l'ensemencement des souches bactériennes.

Elle est obtenue en dissolvant 9g de chlorure de sodium (NaCl) pour 1 L d'eau distillée pour obtenir une solution physiologique à 0,9% (solution isotonique), sous agitation pendant quelques minutes afin d'assurer une dissolution complète.

La solution obtenue est ensuite répartie dans des tubes en verre munis de bouchons.



Figure 15 : Préparation de l'eau physiologique (Photo personnelle, 2025).

IV.2.3.2.5. Préparation des disques d'aromatogramme :

Une feuille de papier Whatman n°6 est découpée en disques de 6 mm de diamètre.

Ces disques sont ensuite placés dans un papier d'aluminium fermé, stérilisés à l'autoclave, puis conservés dans des conditions appropriées jusqu'à leur utilisation.

IV.2.3.2.6. Stérilisation du matériel :

Tous Les matériels préparés : milieu de culture MH, l'eau physiologie, BN, Gélose nutritive (GN), les tubes à vis, les disques préparés, (les embouts et enrobées dans du papier aluminium) sont stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 20 minute.



Figure 16 : Stérilisation du matériel dans l'autoclave (photo personnelles, 2025)

IV.2.3.3. Activation des souches bactériennes :

Les souches bactériennes sont réactivées dans un bouillon nutritif et incubées à 37 °C pendant 24 heures.

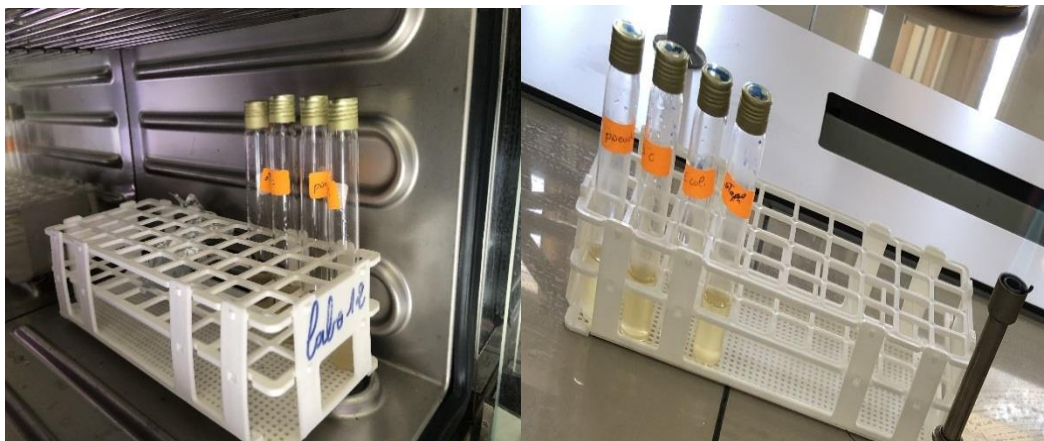


Figure 17 : activation des souches bactériennes (photo personnelle, 2025)

IV.2.3.4. Repiquage des souches bactériennes :

Afin d'obtenir une culture jeune ainsi que des colonies bien isolées pour les différentes souches, les cellules bactériennes sont repiquées sur une gélose nutritive en boîte de Pétri à l'aide d'un écouvillon. Les boîtes sont ensuite incubées à 37 °C pendant 24 heures dans une étuve.

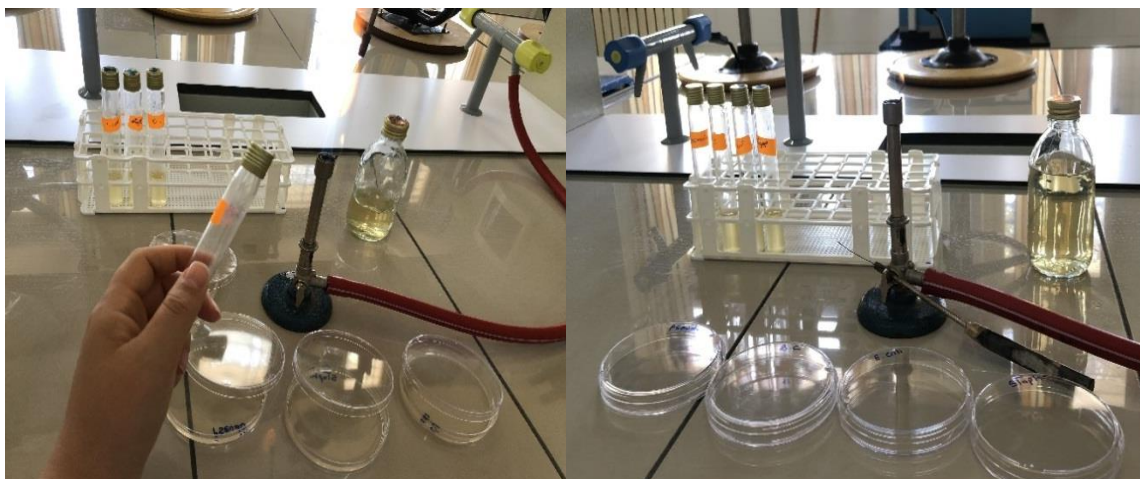


Figure 18 : Repiquage des souches bactériennes sur gélose nutritive (photo personnelle, 2025).

IV.2.3.5. Antibiotogramme :

IV.2.3.6. La dilution d'extraits :

Les concentrations des extraits de *Malva sylvestris* L. sont préparées conformément aux protocoles analytiques standards en vue de leur évaluation.

- SM : 400mg d'extrait avec 1ml de DMSO [100%].
- C1 : 0,5ml d'extrait de SM avec 0.5ml de DMSO [50%].
- C2 : 0.5ml d'extrait de C1 avec 0.5ml de DMSO [25%].
- C3 : 0.5ml d'extrait de C2 avec 0.5ml de DMSO [12.5%].

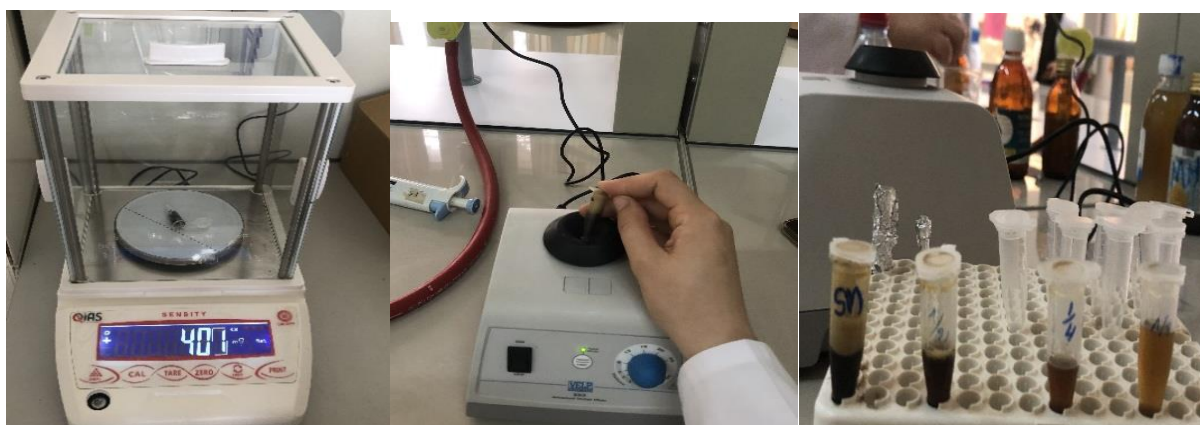


Figure 19 : Préparation des dilutions à différentes concentrations (photo personnelle, 2025).

IV.2.3.7. Préparation de la suspension bactérienne :

La suspension bactérienne a été préparée à partir de cultures récentes âgées de 18 à 24 heures, préalablement repiquées par la méthode de la strie sur milieu Muller Hinton (MH).

Entre est préparée en prélevant 1 à 3 colonies bien isolées à l'aide d'une anse de platine, puis mises dans 9mL d'eau physiologique stérile.

La densité de cette suspension a ensuite été ajustée, soit par l'ajout de culture bactérienne, soit par l'ajout d'eau physiologique, la densité optique est ajustée à 0,08–0,10 à 625 nm (**Bendahou et al., 2007**).

IV.2.3.8. Coulage du milieu de culture MH :

Le milieu de culture stérile est placé dans une boîte de pétri d'environ 4 mm de hauteur. Près du bec benzène.



Figure 20 : Coulage du milieu de culture MH (photo personnelle, 2025).

IV.2.3.9. Ensemencement bactérienne :

Commencez par tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne. Après avoir préparé et identifié correctement les boîtes de Pétri, étalez la suspension sur toute la surface de la gélose MH sèche en passant l'écouvillon de haut en bas. Répétez l'opération trois fois, en tournant la boîte de Pétri de 60° à chaque passage, afin d'assurer une répartition homogène des bactéries sur le milieu de culture.

IV.2.3.10. Dépôt des disques et les puits et l'injection des extraits :

À ce stade, nous avons utilisé deux méthodes pour appliquer l'extrait : par disques et par puits pour chaque échantillon.

IV.2.3.10.1. Par disques :

Après stérilisation, les disques de papier Whatman de 6 mm de diamètre sont manipulés à l'aide d'une pince stérile, à proximité d'un bec benzène, puis déposés délicatement sur la surface de la gélose Mueller-Hinton (MH) préalablement ensemencée avec les souches bactériennes testées (voir la Figure).

Ensuite, en ajoute 10 μ L de chaque concentration de l'extrait hydrométhanoliques (SM, C1, C2, C3) et du DMSO (témoin négatif, T-) sont appliqués sur les disques à l'aide d'une micropipette stérile.



Figure 21 : Dépôt des disques (photo personnelle, 2025).

IV.2.3.10.2. Par puits :

De la même manière, l'opération est réalisée, mais cette fois-ci, au lieu de déposer des disques, des puits sont creusés dans le milieu de culture à l'aide d'une pipette pasteur en verre.

Chaque puits est ensuite rempli avec 10 μ L de chaque concentration de l'extrait hydrométhanoliques (SM, C1, C2, C3), ainsi que du DMSO utilisé comme témoin négatif (T-).

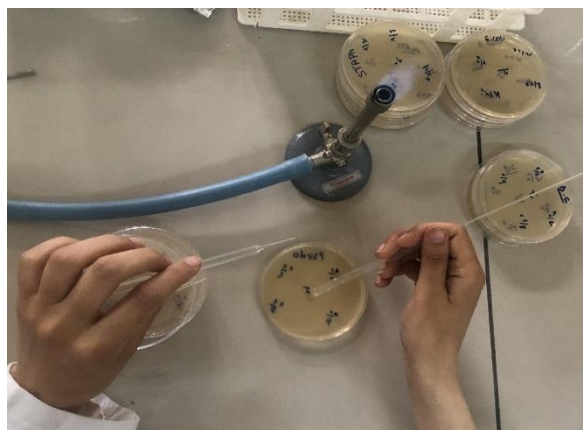


Figure 22 : Dépôt des puits (photo personnelle, 2025).

Finalement, les boîtes de Pétri sont incubées pendant 24 heures à 37°C dans l'étuve.

➤ **Lecture :**

Après incubation, la lecture des résultats se fait en mesurant le diamètre (mm) de la zone entourant chaque disque à l'aide d'un Pied à Coulis, l'apparition d'une zone transparente autour des extraits indique l'absence de croissance bactérienne.

Plus le diamètre de cette zone est grande, plus la souche est sensible.

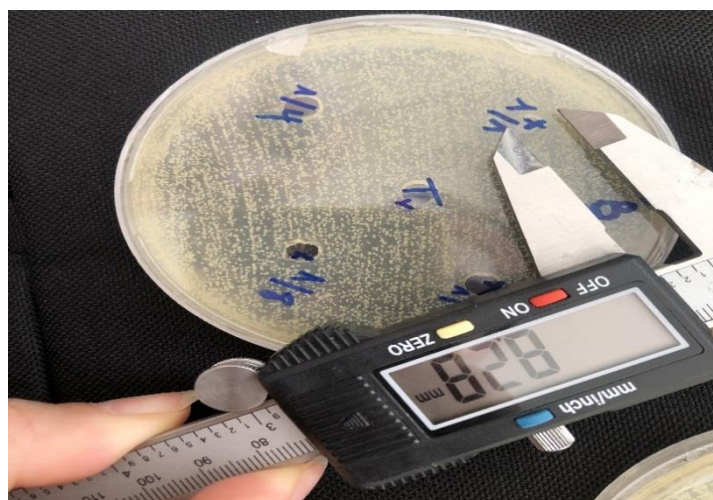


Figure 23 : Lecture des résultats (photo personnelle, 2025).

IV.2.4. Activité antifongique :

Cette opération a été réalisée au niveau des Laboratoires de recherche, Université Mentouri – Constantine.

IV.2.4.1. La souche champignons testée :

Les souches des champignons utilisées dans ce test nous ont été fournies par **Dr. Ben Sarradj Wafaa**.

Les souches employées sont présentées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 7 : La souche champignons testée

les champignons	Code
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Isolation
<i>Aspergillus Flavus</i>	Isolation
<i>Candida albicans</i>	Isolation

Nous avons utilisé la méthode de diffusion en milieu solide (**Belhattab et al., 2004**) et en précisant les diamètres des zones inhibitrices.

IV.2.4.2. La réactivation des isolats fongiques :

- ✓ *Candida albicans* : Ensemencée sur Sabouraud, incubée à 37 °C pendant 24–48 h.
- ✓ *Aspergillus* : Ensemencés sur PDA, incubés à 28 °C pendant 7 jours.

IV.2.4.3. Préparation des suspensions fongiques :

Pour les champignons filamenteux, des suspensions concentrées de spores et de fragments mycéliens sont préparées en raclant les cultures après addition d'eau physiologique.

Ces suspensions sont ensuite diluées jusqu'à obtenir une absorbance de 0,2 mesurée à 650 nm. Une dilution supplémentaire au 1/10 est ensuite réalisée dans de l'eau physiologique.

En ce qui concerne les levures, la suspension est ajustée à une densité de 0,5 selon l'échelle de Mc Farland, à l'aide d'eau physiologique stérile.

IV.2.4.4. Technique des disques :

Des boîtes de Pétri contenant le milieu Sabouraud ont été ensemencées avec les suspensions fongiques préparées au préalable.

Après séchage du milieu en surface, des disques de papier stériles (en général de 6 mm de diamètre) imprégnés de 20µl d'extrait végétal à différentes concentrations (100 mg/ml, 50 mg/ml, 25 mg/ml, 12,5 mg/ml) ont été déposés à la surface de la gélose.

Les boîtes ont d'abord été incubées à 4 °C pendant 30 minutes afin de permettre la diffusion de l'extrait, puis transférées à 28 °C.

L'incubation a duré de 48 à 72 heures pour les moisissures, et de 24 à 48 heures pour *Candida albicans*.

L'activité antifongique se manifeste par l'apparition de zones d'inhibition autour des disques, dont le diamètre est mesuré pour évaluer l'efficacité de l'extrait.

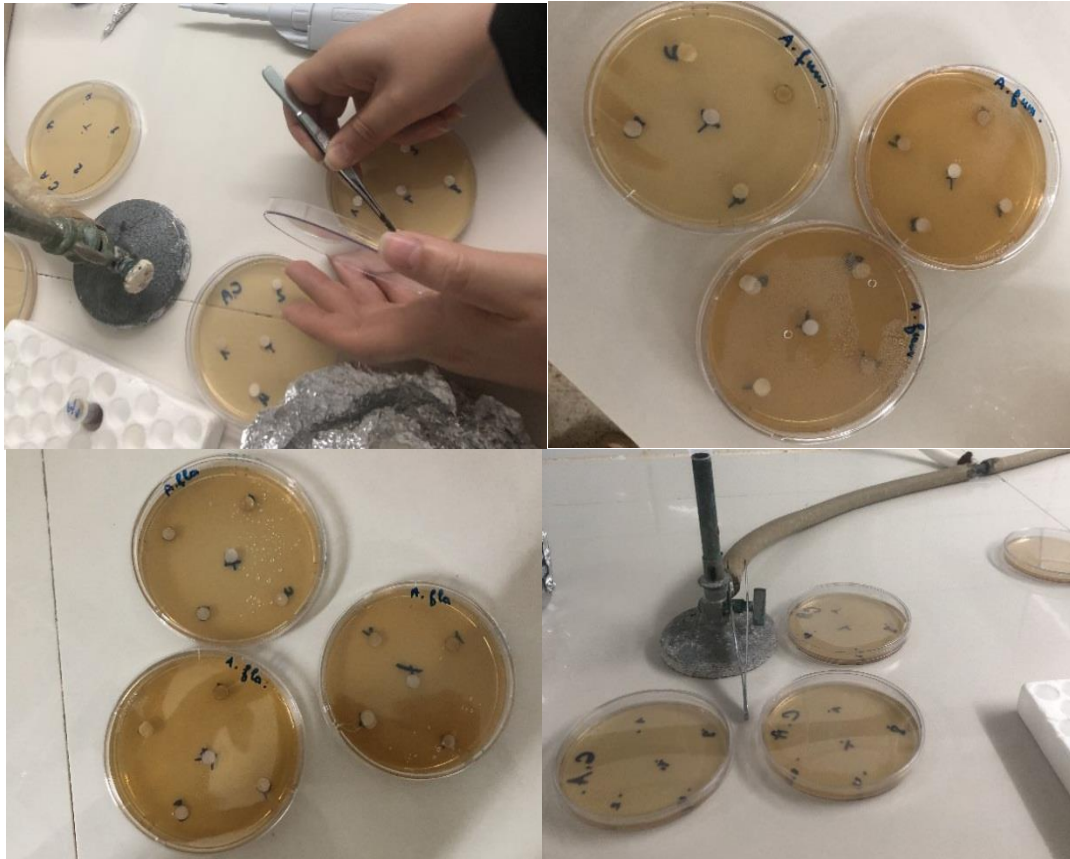


Figure 24 : Lecture des résultats (photo personnelle, 2025).

➤ **Lecture :**

Après incubation, la lecture des résultats se fait en mesurant le diamètre (mm) de la zone entourant chaque disque à l'aide Pied à Coulisse, l'apparition d'une zone claire autour du disque indique l'absence de croissance bactérienne.

Plus le diamètre de cette zone est important, plus la souche est sensible.



Figure 25 : Lecture des résultats (Photo personnelle, 2025).

Partie III : Résultats et discussion

V. Résultats :

V.1. Détermination du rendement :

Les résultats du rendement d'extraction de nos extraits hydro-méthanoliques obtenus après évaporation par rapport au matériel végétal sec sont présentés dans ce tableau.

Tableau 8 : Détermination du rendement

Organe	Résultats
<i>Malva sylvestris L.</i>	18.05 %

➤ Discussion :

Les composés phénoliques ont été extraits à partir des fleurs séchées de *Malva sylvestris*.L par macération. 40 grammes de poudre végétale ont été mis en contact avec 800mL d'éthanol 70 % et l'eau distillée 30 % pendant 24 heures à température ambiante, avec agitation occasionnelle.

Le mélange a ensuite été filtré, puis le solvant a été évaporé à 45 °C à l'aide d'un évaporateur rotatif. L'extrait obtenu a été conservé à 4 °C pour les analyses ultérieures.

Le rendement obtenu est de 18,05 %.

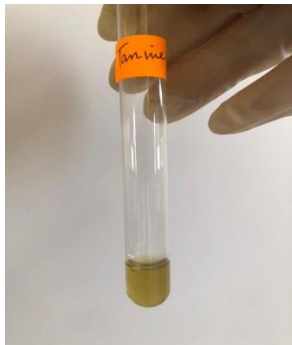
Selon Adepo et al.(2010), les extraits obtenus à partir de plantes sèches présentent généralement des rendements plus élevés que ceux issus de plantes fraîches.

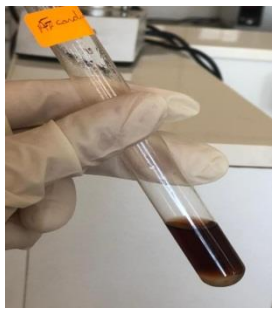
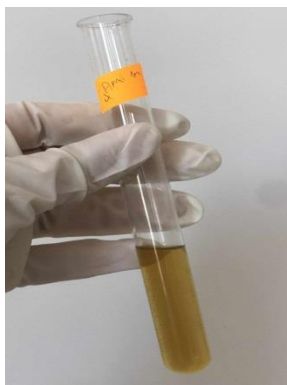
V.2. Screening phytochimique :

Il s'agit d'une étude qualitative visant la recherche des principaux groupes chimiques, (les alcaloïdes, les coumarines, les flavonoïdes, les saponosides, les Tannins, les glucosides cardiaques, d'amidon, les mucilages, les acides aminés, les stérols et les tri-terpènes) contenus dans les fleurs de *Malva Sylvestris L.*

Les résultats de ces essais sont présentés dans ce tableau :

Tableau 9 : Screening phytochimique

Tests	Résultats	Coloration	Les photos
Test des tanins	++	Vert foncée	
Les flavonoïdes	+++	Rouge	
Les alcaloïdes	+	Blanc jaune	
Les mucilages	+++	apparition d'un précipité floconneux.	

Les saponosides	+++	Mousse persistante après 15 min	
Les glucosides cardiaques	+++	Rougeâtre foncée	
Les coumarines	+++	marron	
Amidon	-	Vert claire	

Les acides aminés	+	Rose	
les stérols et les tri-terpènes	+++	Formation d'un anneau rouge-brunâtre à la zone de contact des deux liquides et la coloration verte de la couche surnageante révèlent la présence de stérols et de triterpènes.	

- (+++) : Test Très positif.
- (++) : Test positif.
- (+) : Test faiblement positif.
- (-) : Test négatif.

➤ **Discussion :**

Nous avons effectué des tests chimiques sur les fleurs de *Malva sylvestre* L. pour détecter le contenu de cette plante en métabolites secondaires.

Les résultats recueillis pour la plante de *Malva sylvestre* L. dans le tableau indiquent la présence des alcaloïdes, les coumarines, les flavonoïdes, les saponosides, les Tannins, les glucosides cardiaques, les mucilages, les acides aminés, les stérols et les tri-terpènes et l'absence d'amidon

Ces résultats sont en accord avec plusieurs études.

- Coumarines : détectées également par **Mohajer et al. (2016)**.
- Alcaloïdes : mis en évidence par **El Bardai et al. (2001)**.
- Flavonoïdes : largement documentés pour leurs propriétés antioxydantes (**Ben Haj Koubaier et al., 2011**).
- Saponosides : signalés par **Yesil-Celiktas et al. (2010)**.
- Tanins : identifiés par **Ivanova et al. (2005)**.
- Glucosides cardiaques : rapportés par **Bahorun et al. (2003)**.
- Mucilages : signalés dans cette espèce par **Barros et al. (2010)**.
- Acides aminés : détectés par **Barros et al. (2011)**.
- Stérols et triterpènes : confirmés par **Conforti et al. (2008)**.

V.3. Analyse quantitative :

V.3.1. Résultats du dosage des polyphénols totaux :

La détermination de la teneur en polyphénols totaux de l'extrait de *Malva sylvestis* .L, est faite par l'utilisation de réactif de Folin Ciocalteu en utilisant une gamme étalon d'acide gallique.

Les résultats sont exprimés en mg équivalents acide gallique (mg EAG/g d'extrait sec).

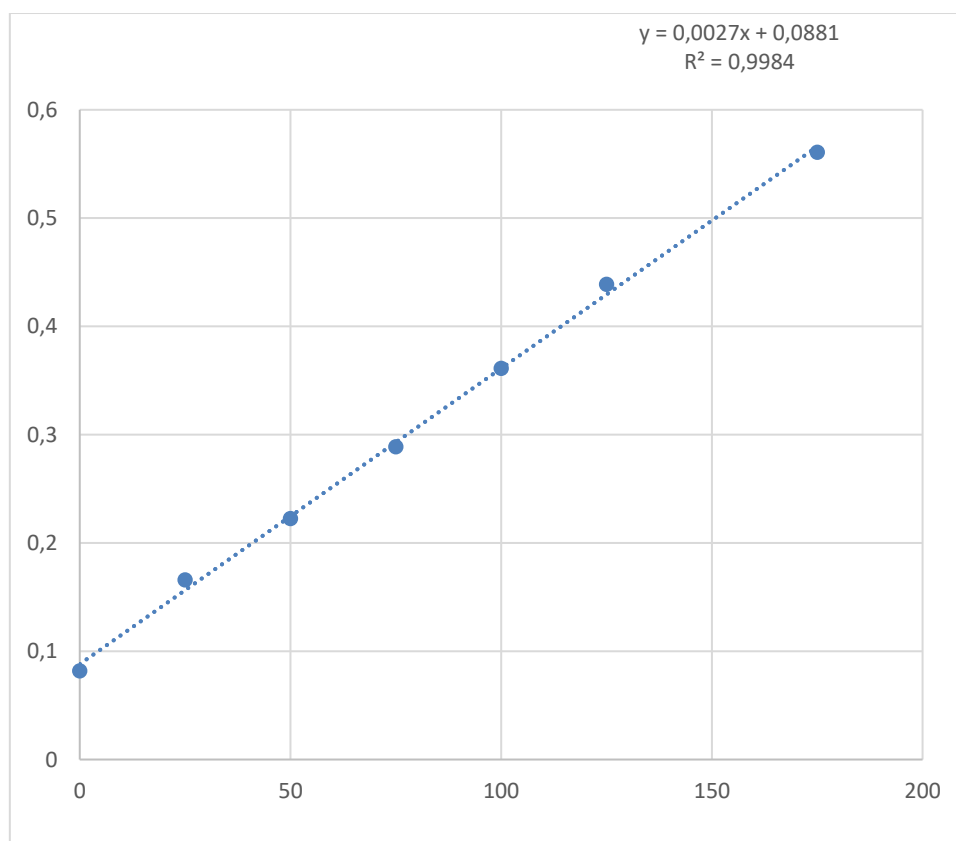


Figure 26 : courbe d'étalonnage obtenue à partir des différentes concentrations de l'acide gallique et la lecture de l'absorbance à 765 nm.

La teneur totale en polyphénols dans les extraits de *Malva sylvestris*.L a été déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu.

La courbe d'étalonnage a été établie à partir de l'acide gallique avec l'équation :

$$y = 0,0027x + 0,0881$$

$$R^2 = 0,9984$$

Parmi les différents extraits analysés, celui obtenu avec le méthanol a montré l'absorbance la plus élevée (0,428), correspondant à une concentration d'environ 66 mg EAG/g d'extrait sec.

- Les résultats obtenus confirment que *Malva sylvestris*.L est une source riche en composés phénoliques, particulièrement lorsqu'un solvant polaire comme le méthanol est utilisé pour l'extraction.

Cette richesse en polyphénols confère à l'espèce une forte capacité antioxydant, ce qui corrobore les données bibliographiques antérieures.

- Globalement, ces résultats encouragent la valorisation de *Malva sylvestris*.L dans le développement de formulations naturelles à visée antioxydant, en particulier dans le domaine pharmaceutique ou agroalimentaire.

V.3.2. Résultats du dosage des flavonoïdes :

Les résultats de la teneur en flavonoïdes de l' extrait est motionnée sur la figure suivante :

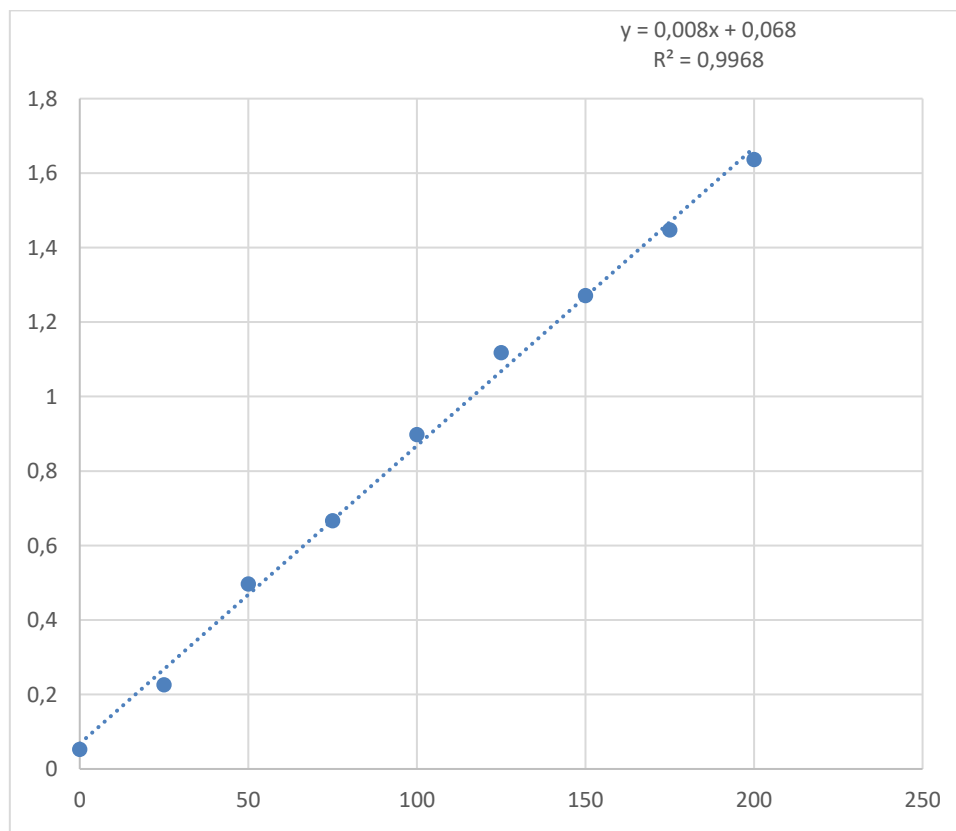


Figure 27 : courbe d'étalonnage obtenue à partir des différentes concentrations de quercitrine et la lecture de l'absorbance à 455 nm.

Dosage des flavonoïdes totaux dans l'extrait hydrométhanolique de *Malva sylvestris*.L :

La teneur en flavonoïdes totaux de l'extrait hydrométhanolique de *Malva sylvestris*.L a été déterminée par la méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium (AlCl_3), en utilisant la quercétine comme standard de référence.

La courbe d'étalonnage obtenue présente une bonne linéarité avec une équation de la droite :

$$y = 0,008x + 0,068$$

$$(R^2 = 0,9968)$$

Les valeurs d'absorbance enregistrées pour l'extrait de *Malva sylvestris*.L variaient entre 0,089 et 0,099 ce qui correspond, selon la courbe étalon, à une concentration équivalente en quercétine comprise entre 2,625 et 3,875 µg/ml.

En tenant compte de la concentration de l'extrait (1 mg/ml) et du volume utilisé lors du dosage, la teneur en flavonoïdes totaux a été estimée à environ :

26,25 A 38,75 mg EQ/g d'extrait sec.

Ces résultats révèlent une teneur modérée en flavonoïdes, en accord avec plusieurs études antérieures.

Djeridane et al.. (2006) ont rapporté des teneurs similaires dans les feuilles et les fleurs de la même espèce (27,39 et 41,76 mg EQ/g, respectivement).

Tandis que **Petkova et Popova (2020)** ont obtenu une valeur de 30,12 mg EQ/g dans les fleurs. **Kebieche et al. (2015)** ont trouvé des teneurs comprises entre 22,5 et 35,7 mg EQ/g selon les conditions d'extraction.

Cette cohérence avec la littérature suggère que *Malva sylvestris*.L constitue une source intéressante de flavonoïdes susceptibles de contribuer à son activité antioxydante.

V.4. Activités biologiques :

V.4.1. Evaluation de l'activité antioxydante :

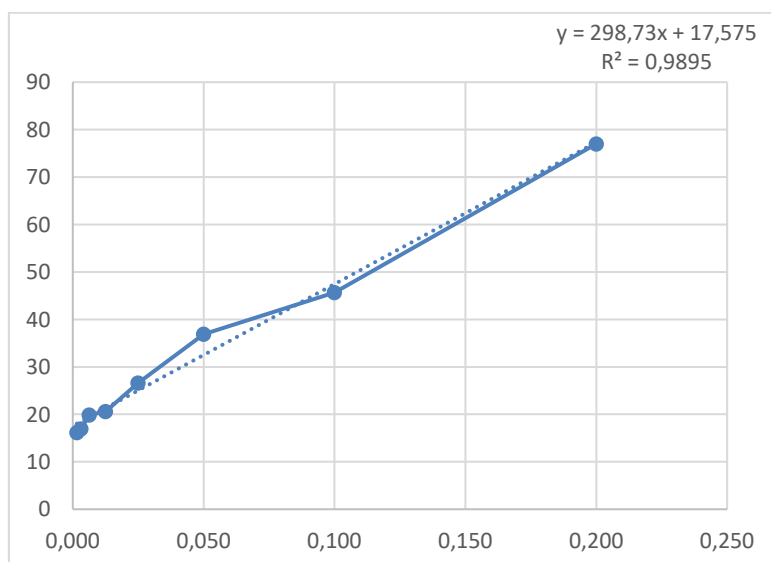


Figure 28 : Courbe d'inhibition du radical DPPH par l'acide ascorbique (AA).

Ce graphique représente le témoin positif du test DPPH, utilisant l'acide ascorbique (AA) comme antioxydant de référence. Une relation linéaire entre la concentration et le pourcentage d'inhibition a été observée, avec une valeur de IC_{50} estimée à 0.109 mg/mL.

V.4.1.1. DPPH :

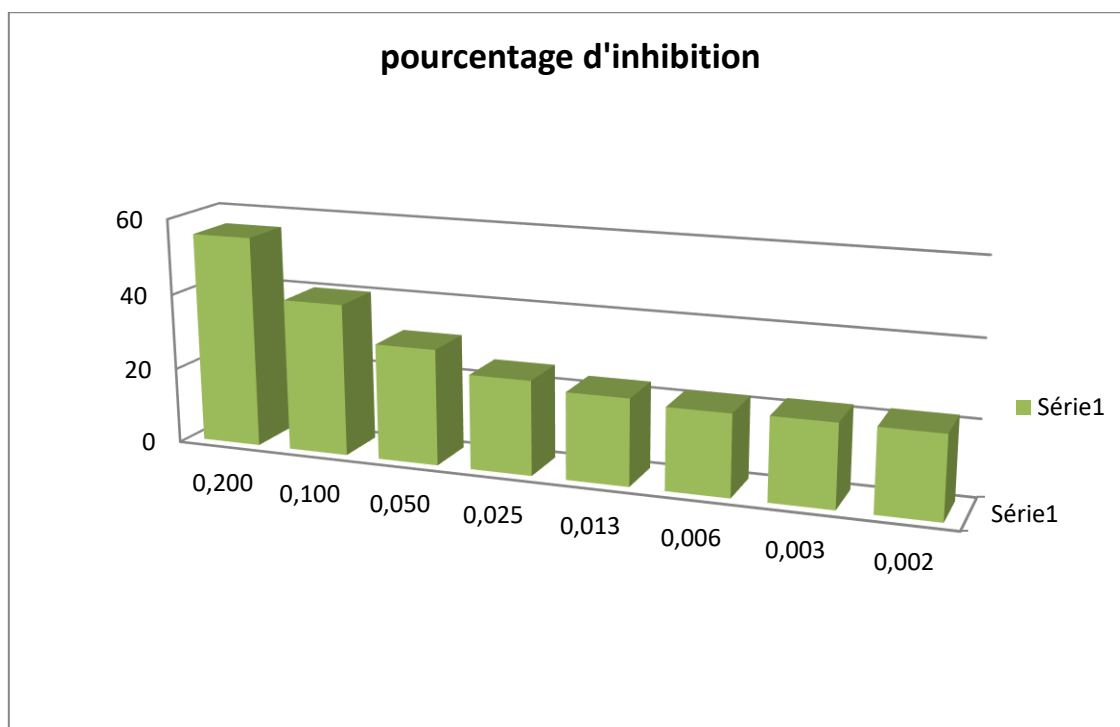


Figure 29 : Pourcentages d'inhibition du radicale DPPH par l'extrait hydrométhanolique de la plante *Malva sylvestre* L.

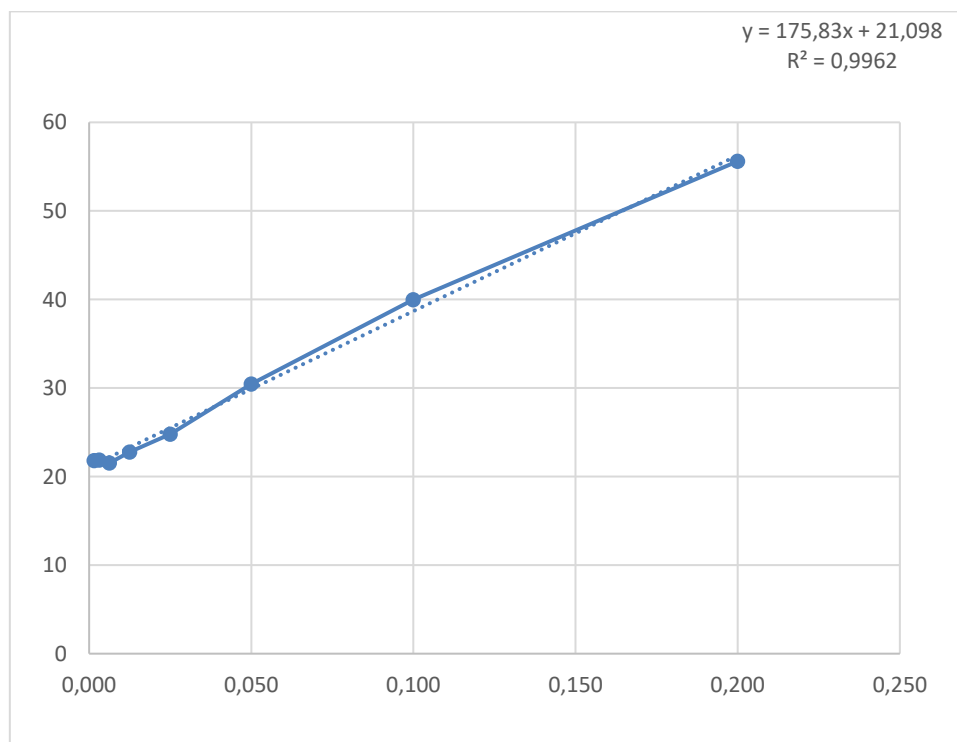


Figure 30 : Pourcentages d'inhibition du radicale DPPH par les extraits de la plante *Malva sylvestre* L.

D'après les résultats mentionnés sur les figures on remarque que :

L'étude présente une évaluation claire de la capacité antioxydant de l'extrait de *malva sylvestris*.L par la mesure du pourcentage d'inhibition des radicaux libres, révélant que l'extrait possède une efficacité notable à cet égard.

Avec l'augmentation de la concentration de l'extrait, une élévation progressive du pourcentage d'inhibition des radicaux libres a été observée.

Cette efficacité a été confirmée par la détermination de la valeur IC₅₀, qui s'élevait à 0,164 mg/mL.

Cette faible valeur d'IC₅₀ indique que l'extrait de Mauve a une forte capacité à piéger et à inhiber les radicaux libres, ce qui reflète son efficacité en tant qu'antioxydant.

Ces résultats concordent fortement avec ceux rapportés par des études antérieures, où certaines recherches ont montré des valeurs d'IC₅₀ pour des extraits de *Malva sylvestris*.L d'environ 0,176 mg/ml pour un extrait hydrométhanolique des fleurs (**Ahmed et al., 2018**), tandis que d'autres études ont indiqué des valeurs d'IC₅₀ nettement inférieures pour des extraits aqueux de feuilles, comme 0,00585 mg/ml mentionné par **Moualek et al. (2020)**, soulignant ainsi les différences potentielles d'efficacité selon la partie de la plante utilisée et la méthode d'extraction.

Par conséquent, l'extrait de Mauve peut être considéré comme une source prometteuse de composés à activité antioxydant, ouvrant des perspectives pour son utilisation dans diverses applications.

V.4.1.2. ABTS :

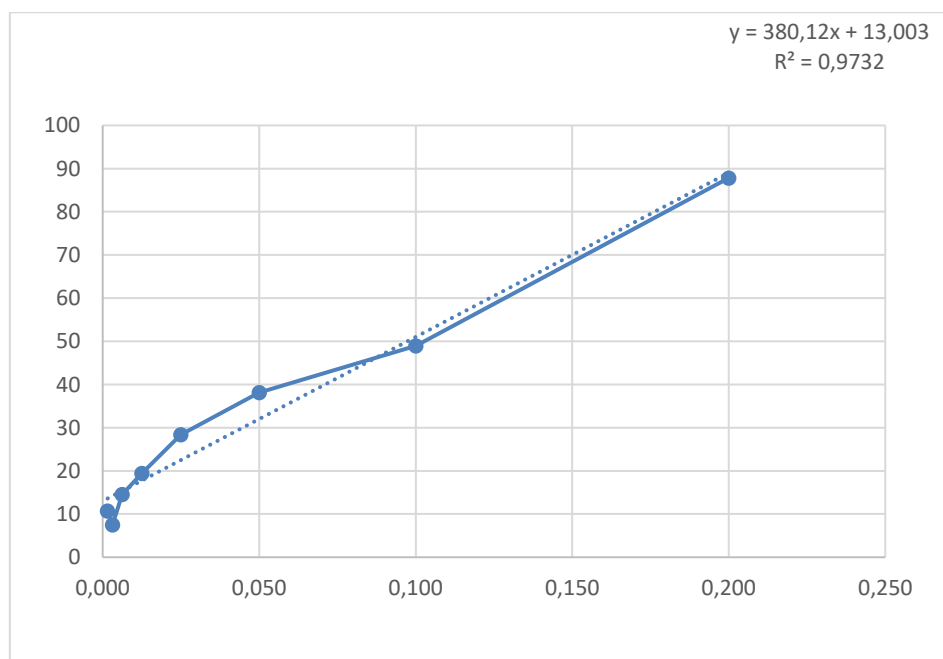


Figure 31 : Pourcentages d'inhibition du radical ABTS⁺ en fonction des concentrations de l'extrait hydrométhanolique de *Malva sylvestris* L .

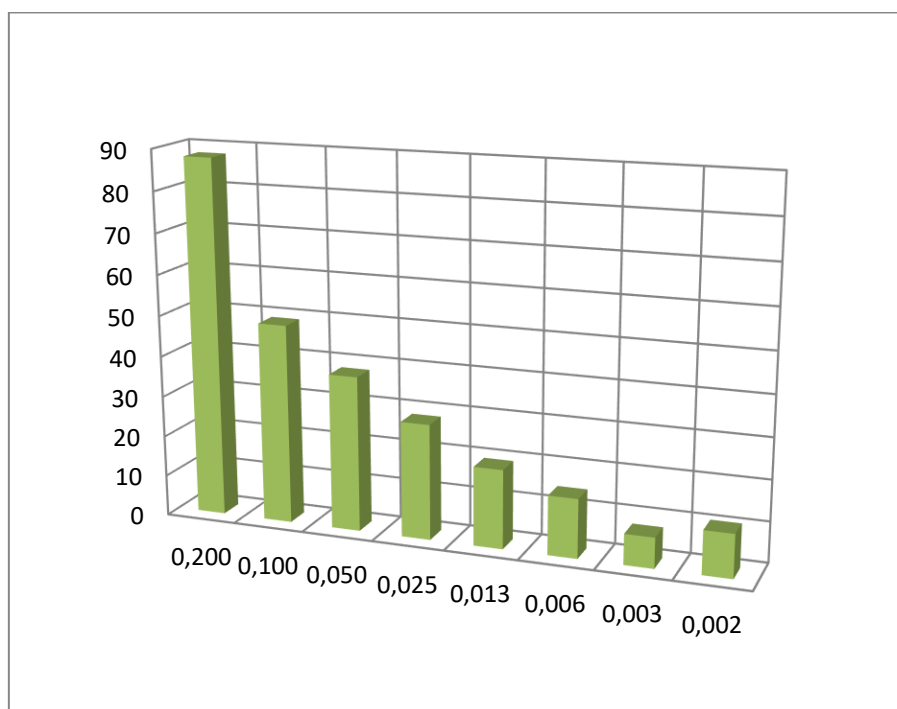


Figure 32 : Pourcentages d'inhibition du radical ABTS⁺ par différentes concentration de l'extrait hydrométhanolique de *Malva sylvestris* .L.

L'évaluation de l'activité antioxydant de l'extrait hydrométhanolique de *Malva sylvestris*.L a été réalisée à l'aide du test ABTS⁺.

Les résultats obtenus montrent une inhibition croissante en fonction de la concentration de l'extrait, allant de 7,52 % à 87,83 % pour des concentrations comprises entre 0,0078 et 0,2 mg/ml.

L'ajustement des données à une régression linéaire a donné l'équation suivante :

$$y = 380,12x + 13,003$$

$$(R^2 = 0,9731)$$

Des études antérieures ont rapporté des résultats similaires, confirmant la validité de nos données.

Par exemple, une étude menée à l'Université de Béjaïa en 2016 a révélé une IC_{50} de 0,044 mg/ml pour un extrait hydrométhanolique de *Malva sylvestris*.L en utilisant le test ABTS⁺, ce qui reflète une activité antioxydante comparable (**Université de Béjaïa, 2016**).

De même, **Taha Nejad et al. (2012)** ont observé un taux d'inhibition de 70 % à 5 mg/ml, indiquant une IC_{50} dans une plage similaire comprise entre 0,1 et 1 mg/ml, selon l'extrait utilisé.

Par ailleurs, **Houali et al. (2020)** ont rapporté une IC_{50} plus faible (5,85 µg/mL) pour un extrait aqueux, tandis que **Tabaraki et al. (2012)** ont obtenu des valeurs allant de 2,57 à 3,10 mg/ml, montrant que le type de solvant influence fortement l'efficacité antioxydante. **Dellagreca et al. (2009)** ont identifié plusieurs composés actifs tels que la scopoletine et l'acide férulique, tandis que **Batihéa et al. (2023)** ont confirmé la richesse de la plante en flavonoïdes, anthocyanines, tanins et mucilages.

La convergence des résultats entre notre étude et d'autres travaux confirme le potentiel de *Malva sylvestris*.L comme source naturelle fiable de molécules antioxydantes bioactives, bien que des variations puissent survenir en fonction de la méthode d'extraction, de la partie utilisée, ou de l'origine géographique de l'échantillon.

V.5. Résultat et discussion les activités biologique :

V.5.1. Activité antibactérienne :

Les résultats de l'activité antibactérienne sont obtenus en mesurant le périmètre de la zone d'inhibition.

Les résultats sont présentés dans le tableau :

Tableau 10 : Résultats de l'activité antibactérienne

Extrait	Bactérie	Constatation mg /ml	Diamètre de zone d'inhibition (mm)	
			disque	Puits
Les fleurs de <i>Malva</i> <i>sylvestres</i> <i>L.</i>	<i>B.subtilis</i>	SM	6	8.28
		C1	6	8.02
		C2	6	7.96
		C3	6	6
	<i>S.aureus</i>	SM	6	10.26
		C1	6	8.60
		C2	6	8.53
		C3	6	6
	<i>P. aeruginosa</i>	SM	6	9.53
		C1	6	9.07
		C2	6	8.60
		C3	6	8.32
	<i>E.coli</i>	SM	6	7.11
		C1	6	7.63
		C2	6	7.28
		C3	6	6.94
	<i>B.subtilis</i>	/	-	-
	<i>S.aureus</i>	/	-	-

DMSO (T-)	<i>P. aeruginosa</i>	/	-	-
	<i>E.coli</i>	/	-	-

Selon **ponce et al., (2003)** et **Moreira et al., (2005)**, le renseigne diamètre des zones d'inhibition sur la sensibilité d'une bactérie donnée est :

- Non sensible (-) : diamètre des zones d'inhibition < 8 mm.
- Sensible (+) : diamètre des zones d'inhibition = 9-14mm.
- Très sensible (++) : diamètre des zones d'inhibition = 15-19mm.
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre des zones d'inhibition >20mm

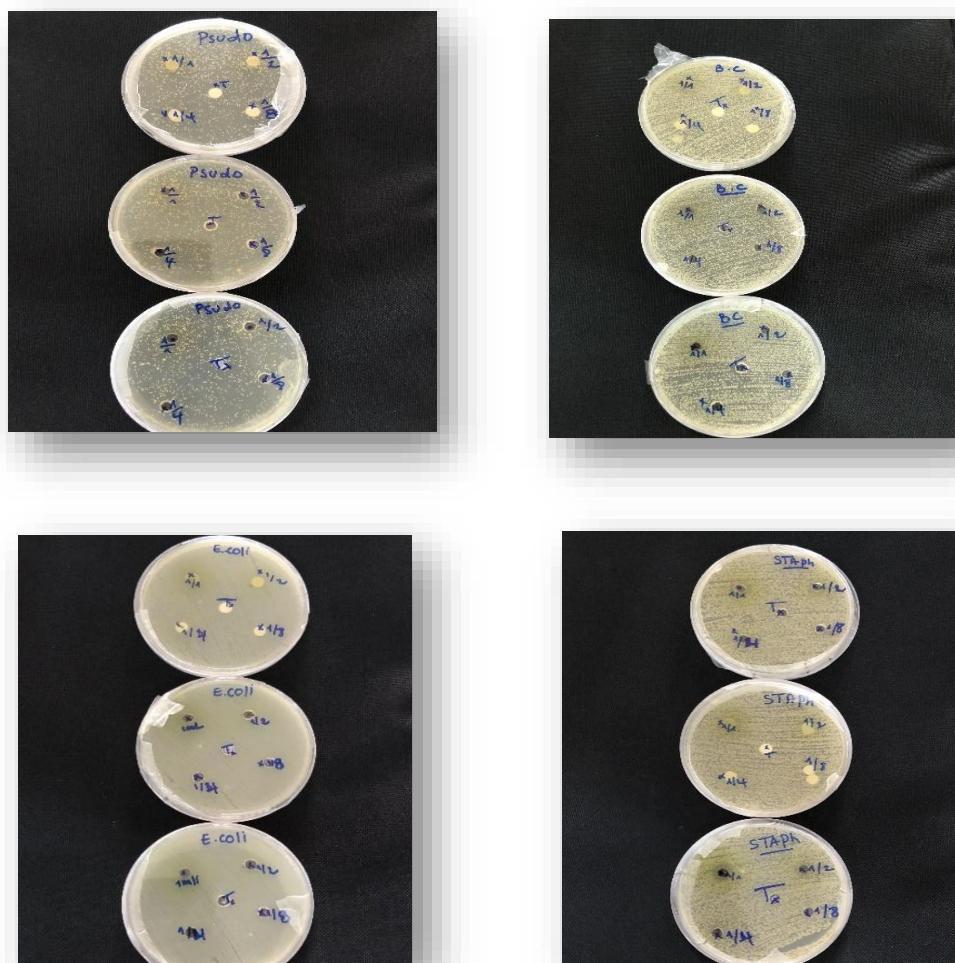


Figure 33 : Zones d'inhibition de différentes souches bactériennes traitées par différentes Concentrations d'extrait des fleurs de *malva sylvestris* .L (**photo personnelle,2025**).

Discussion :

Les résultats de cette étude ont démontré que l'extrait hydrométhanolique des fleurs de *Malva sylvestris* L. présente une activité antibactérienne variable selon la souche bactérienne.

Une activité modérée a été observée contre *Staphylococcus aureus* (10,26 mm) et *Pseudomonas aeruginosa* (9,53 mm), tandis que *Escherichia coli* et *Bacillus subtilis* ont montré une sensibilité plus faible.

Ces résultats sont cohérents avec ceux rapportés par **Batiha et al. (2022)**, qui ont souligné que les composés bioactifs de *Malva sylvestris*, L notamment les flavonoïdes, les tanins et les composés phénoliques, sont responsables de son effet antimicrobien, particulièrement efficace contre les bactéries à Gram positif telles que *S. aureus*.

La moindre efficacité contre les bactéries à Gram négatif s'explique par la structure complexe de leur paroi cellulaire, qui limite la pénétration des agents actifs.

De plus, l'étude de **Sharifi-Rad et al. (2020)** a confirmé l'effet antimicrobien des extraits hydrométhanoliques et éthanoliques de cette espèce contre *S. aureus* et *E. coli*, attribuant cette activité à la présence de, de mucilages et d'autres métabolites secondaires.

Ainsi, bien que certains écarts soient liés aux méthodes expérimentales (type de solvant, concentration, partie de la plante utilisée, nature des souches), la récurrence de l'efficacité contre *S.aureus* renforce l'hypothèse que *Malva sylvestris* L. représente une source prometteuse de composés antibactériens naturels.

V.5.2. Les résultats de l'activité antifongique :

Les activités antifongiques ayant entraîné une inhibition de la croissance ont été répertoriées dans un tableau, tandis que les essais n'ayant montré aucun effet inhibiteur sont présentés dans la figure suivante :

Répétition 01 :

Tableau 11 : Résultats de Répétition 01 de l'activité antifongique

Extrait	Champignon	Constataion mg /m	Diamètre de zone d'inhibition (mm)
Les fleurs de <i>Malva sylvestres</i> L.	<i>Candida albicana</i>	SM	12.5
		C1	9.89
		C2	8.02
		C3	7.81
DMSO (T-)	<i>Candida albicana</i>	SM	-
		C1	-
		C2	-
		C3	-

Répétition 02:

Tableau 12 : Résultats de Répétition 02 de l'activité antifongique

Extrait	Champignon	Constatation mg /m	Diamètre de zone d'inhibition (mm)
Les fleurs de Malva sylvestres L.	<i>Candida albicana</i>	SM	9.74
		C1	8.19
		C2	7.45
		C3	7.81
DMSO (T-)	<i>Candida albicana</i>	SM	-
		C1	-
		C2	-
		C3	-

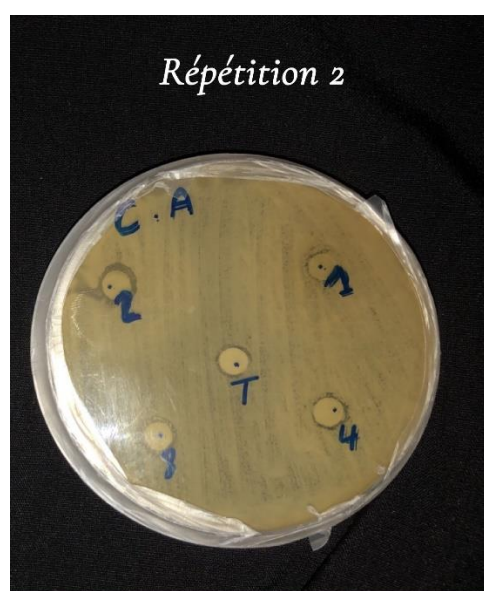


Figure 34 : Activité antifongique des différentes concentrations d'extrait de fleur *Malva sylvestres*. L sur la souches *candida albicans* testées qui faire une inhibition (**photo personnelle, 2025**).



Figure 35 : Activité antifongique des différentes concentrations d'extrait de fleur *Malva sylvestris*. L sur les souches fongiques testées qui n'est pas faire une inhibition. (photo personnelle, 2025)

Discussion :

L'extrait hydrométhanolique des fleurs de *Malva sylvestris* L. a montré une activité antifongique mesurable contre *Candida albicans*. Les diamètres d'inhibition, bien que modérés, sont significatifs et suggèrent une efficacité dose-dépendante.

Ces observations sont appuyées par les travaux de **Sharifi-Rad et al. (2020)**, qui ont démontré que les extraits hydrométhanoliques de cette plante contiennent des composés actifs tels que les flavonoïdes, les tanins et les composés phénoliques, reconnus pour leurs propriétés antifongiques. En revanche, aucune activité significative n'a été observée contre *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus flavus*, ce qui peut s'expliquer par :

- leur paroi cellulaire plus résistante (**Dabiri et al., 2013**),
- ou une concentration insuffisante de l'extrait pour franchir leurs défenses.

Selon **Akinmoladun et al. (2007)**, l'efficacité antifongique dépend largement du type de champignon, du solvant d'extraction, et de la concentration appliquée.

Ces résultats suggèrent que *Malva sylvestris* L. pourrait être valorisée comme source naturelle d'agents antifongiques, principalement contre les levures comme *C. albicans*, mais que son efficacité contre les moisissures mérite des études approfondies et des optimisations d'extraction.

Conclusion

Conclusion

Le présent travail avait pour objectif principal de réaliser une étude phytochimique approfondie de l'extrait hydrométhanolique des fleurs de *Malva sylvestris* L., ainsi qu'une évaluation de ses activités biologiques, notamment antioxydante, antibactérienne et antifongique, en plus de la détermination du rendement d'extraction.

Les résultats obtenus nous ont permis de conclure ce qui suit :

- Le rendement d'extraction de l'extrait hydrométhanolique (70 % méthanol / 30 % eau distillée) a été de 18,05 %, un taux relativement élevé, témoignant de la richesse de la plante en composés bioactifs solubles.
- Le screening phytochimique qualitatif a révélé la présence de plusieurs familles de métabolites secondaires : flavonoïdes, tanins, saponosides, alcaloïdes, mucilages, stérols et triterpènes, glucosides cardiaques, acides aminés, avec une absence d'amidon.

Cette composition chimique justifie largement les usages traditionnels de la plante.

- L'analyse quantitative a mis en évidence une teneur significative en polyphénols totaux et en flavonoïdes, confirmant le potentiel antioxydant de la plante.
- Les tests d'activité antioxydante (DPPH et ABTS) ont montré une bonne capacité de piégeage des radicaux libres, ce qui renforce l'intérêt thérapeutique de l'extrait en tant qu'agent antiradicalaire naturel.
- L'activité antibactérienne, évaluée sur quatre souches (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*), a révélé un effet inhibiteur variable, avec une action marquée contre *Pseudomonas aeruginosa* et *E. coli*, indiquant une efficacité prometteuse contre certaines bactéries pathogènes.
- Concernant l'activité antifongique, les résultats ont démontré une inhibition modérée mais significative de la croissance de *Candida albicans*, tandis qu'aucune activité n'a été observée contre les moisissures *Aspergillus flavus* et *Aspergillus fumigatus*. Cela suggère un potentiel antifongique ciblé de l'extrait contre les levures.

Perspectives :

- Isoler, purifier et identifier les molécules actives responsables des effets observés afin d'éclaircir les mécanismes d'action.

- Évaluer la toxicité aiguë et chronique de l'extrait pour leur usage thérapeutique.
- Développer des formulations naturelles à base de *Malva sylvestris* L. destinées à des applications buccales ou dermatologiques (ex. : bains de bouche antifongiques, crèmes cicatrisantes).

Étendre l'évaluation biologique à d'autres microorganismes, ainsi qu'à d'autres solvants d'extraction pour maximiser l'activité.

Références bibliographiques

Références

A

- **ABERRANE S MEHALLA M., 2019.** Etude de l'activité anti-inflammatoire et antihémolytique de l'extrait aqueux de feuilles de *Malva sylvestris* L. Mémoire présenté pour obtenir le Diplôme de Master : Biochimie Appliquée. UNIVERSITE MOULOUD MAMMERI DE TIZI-OUZOU .76p.
- **Ahmed, A. A. A., El-Sayed, M. M., & Hassan, R. A. (2018).** Antioxidant activity of a methanolic extract from the flowers of *Malva sylvestris*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 12(5), 78–84.
- **Akinmoladun, F. O., Akinrinlola, B. L., Farombi, E. O., & Olaleye, T. M. (2007).** Phytochemical and antimicrobial evaluation of extracts from **Malva sylvestris** and **Acalypha wilkesiana****. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, **6**(2), 679–684.
- **Amezouar F., Badri W., Hsaine M., Bourhim N., et Fougrach H., (2013).** Évaluation des activités antioxydante et anti-inflammatoire de *Erica arborea* L. du Maroc. *Pathologie Biologie*. 61. 254–258.

B

- **Badiaga.M(2012).** Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Thèse de doctorat. Université de Bamako (Mali), p.75-184.
- **Bahorun, T., et al. (2003).** Cardiac glycosides in medicinal plants. *Phytotherapy Research*.
- **Barros, L., et al. (2010).** Nutritional and chemical composition of *Malva sylvestris* flowers. *Food and Chemical Toxicology*.
- **Barros, L., et al. (2011).** Amino acids and nutritional evaluation of wild edible flowers. *Food Research International*.
- **Batiha, GES., Tene, ST., Teibo, JO., Shaheen, HM., Oluwatoba, OS., Ayandeyi Teibo,TK., Al-kuraishy, HM., Al-Garbee, AI., Alexiou, A., Papadakis, M (2022)** The phytochemical profiling, pharmacological activities, and safety of *malva sylvestris*: a review. *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*
- **Beloued A., 2001.** Plantes médicinales d'Algérie. OPU. Alger. p 132.

- **Ben abdallah, R., Frikha, D., Maalej et S. Sass, S (2019).** Evaluation in vitro de l'activité antibactérienne et antifongique de quatre espèces algales marines in vitro evaluation of the antibacterial and antifungal activities of marine algae. *Jim Stax* N°31. P. 38-44.
- **Ben Haj Koubaier, H., et al. (2011).** Flavonoid and phenolic content in *Malva sylvestris*: Antioxidant activity. *Industrial Crops and Products*.
- **Bendahau M., Nenyouchef M., benkhada D et Elissacosta J. (2007).** Influence of the processes extraction on essential oil of *Origanum gl. and ulosum* .J. of applied sciences. 8:1152-1157.
- **Blamey Marjorie & Grey–Wilson Christopher – 1991** (pour l'édition française) – La flore d'Europe occidentale – Arthaud.
- **Bonnier Gaston & Douin Robert – 1912–1935 –** La grande flore en couleur de Gaston Bonnier – Belin
- **Bouaziz A., Khennouf S., Zarga M. A., Abdalla S., Baghiani A., & Charef N., 2015.** Phytochemical analysis, hypotensive effect and antioxidant properties of *Myrtus communis* L. growing in Algeria. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(1), 19–28 Pp.
- **Bruneton .J (1999).** Phytochimie et plante médicinale. J. pharmacognosie. 3ème Ed Lavoisier. Paris. 1120 p.
- **Bruneton J (1993 ; 1999) :** Pharmacognosie : Phytochimie & Plantes médicinales. 2^e ; 3^e éd. Editions techniques et documentation & éditions médicales internationales, Lavoisier, Paris, France.
- **Bruneton J. (2009).** Pharmacognosie-Phytochimie, plante médicinale .4ème édition. Paris : Edition Tec et Doc, Edition médicales internationales. 1292p.
- **Bruneton, J. (2009).** *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales* (4^e éd.). Paris : Lavoisier.

C

- **Capitulare de Villis.** (Fin du VIII^e siècle). Ordonnance de Charlemagne sur les plantes à cultiver dans les domaines impériaux.
- **Commission E (Allemagne). (1992).** *Monographs on the Medicinal Uses of Plant Drugs*. Bonn : Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM).

- **Conforti, F., et al. (2008).** Sterols and triterpenes from *Malva sylvestris* and related species. *Journal of Natural Products*.
- **Couplan François & Debuigne G. – 2006** – Petit Larousse des plantes qui guérissent – Larousse.
- **Cuendet M ; (1999) :** Recherche de nouveaux composés capteurs de radicaux libres et antioxydants à partir d'une plante d'Indonésie : *Fagraea blumei* et de trois plantes d'altitude : *Bartsia alpina*, *Loiseleuria procumbens* et *Campanula barbata*. Thèse de doctorat, Faculté des sciences de l'Université de Lausanne, p.24.
- **Cuendet M., 1999-** Thèse doctorat, Recherche de nouveaux composés capteurs de radicaux libres et antioxydants à partir d'une plante d'Indonésie: « *Fagraea blumei* » (Loganiaceae) et de trois plantes d'altitude: « *Bartsia alpina* » (Scrophulariaceae), « *Loiseleuria procumbens* » (Ericaceae) et Camp, 24p.

D

- **Dabiri, M., Damaghani, M. A., Shafiee, A., & Moazeni, M. (2013).** Antifungal activity of some Iranian plant extracts against *Aspergillus flavus** and *Aspergillus fumigatus*. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, **12**, 405–410.
- **DADACHE C .BOUZID H., 2021.** Les propriétés de *Malva sylvestris* L. Mémoire présenté pour obtenir le Diplôme de Master : Biochimie. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A, 49.
- **Desport, JC., Couratier, P (2002).** Stress oxydant et maladies neurodégénératives. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. 16(4), p. 253-259.
- **Devlynne, S., Ondusko, MD, Dawn Nolt, MD., MPH (2018).** *Staphylococcus aureus*. *Pediatrics in Review*, 39 (6): 287-298. Dominique, Chabasse, Jean-Philippe, B., Ludovic, G., Sophie, B., Bernard, C., & Bascale,
- **Dictionnaire des cosmétiques naturels. (2011).** Paris : Éditions Alternatives / Éditions Médecis (selon édition). **Encyclopédie des plantes médicinales.** (Éd. Larousse ou autres). Paris : Larousse
- **Dogan Y., S. Baslar, G. Ay et HH Mert. 2004.** L'utilisation des plantes sauvages comestibles en Anatolie (Turquie). *Botanique économique*, 58:684-690
- **Duke, J. A. (2002).** *Handbook of Medicinal Herbs* (2nd ed.). Boca Raton : CRC Press.

- **Dutertre 2011.** Enquête prospective au sein de la population consultant dans les cabinets de médecine générale sur l'île de la Réunion : à propos des plantes médicinales, utilisation, effets, innocuité et lien avec le médecin généraliste. Thèse doctorat d'État, Univ. Bordeaux 2-Victor Segalen U.F.R des sciences médicales, France, 33 p

E

- **El Bardai, S., et al. (2001).** Pharmacological activity of *Malva sylvestris* extracts. Journal of Ethnopharmacology.
- **EMA (European Medicines Agency). (2016).** *Assessment report on Malva sylvestris L., flos/foolium*. Disponible sur : <https://www.ema.europa.eu>
- **ESCOP (European Scientific Cooperative on Phytotherapy). (2003).** *Monographs on the Medicinal Uses of Plant Drugs*. Exeter : ESCOP.

F

- **Fletcher Neil – 2007 –** Reconnaître la nature comestible et savoureuse sans peine – Nathan
- **Fournier Paul – 1934 – 1940 –** Les quatre flores de France – Dunod.
- **Fournier, P. (1947).** *Le Livre des plantes médicinales et vénéneuses de France*. Paris : Paul Lechevalier.
- **Frank, D.W (2022).** *Pseudomonas aeruginosa, Biology, Genetics, and Host-Pathogen Interactions*. F. E-books (ed.). Lausanne, Switzerland : Frontiers in Microbiology.

G

- **Gardner J (2014)** *Living with Herbs: A Treasury of Useful Plants for the Home and Garden* (2nd ed). United States of America: The Countryman Press. 189p.
- **Garnier, R. (1996).** *Plantes médicinales : Usages et traditions*. Rennes : Éditions Ouest-France.
- **Gurib-Fakim A., (2006)** **Medicinal plants:** Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine* 27, 1-93.

H

- **Heller W et Forkmann G. (1999).** The flavonoids. Advances in research since In Harborne JB. Secondary Plant Products. Encyclopedia of plant physiology. London: Chapman et Hall. 399-425p.
- **Hidalgo, M. A., et al. (1999).** *Plantas medicinales en el Pirineo aragonés*. Huesca : Instituto de Estudios Altoaragoneses.
- **Hippocrate.** (Ve siècle av. J.-C.). *Corpus Hippocraticum*. (Éditions et traductions variées).
- **Hopkins. W(2003).** Physiologie végétale. 2 éme édition. De Boeck, Bruscelles, 61-476.
- **Horace.** (Ier siècle av. J.-C.). *Odes*. (Trad. fr. variable selon l'édition). Paris : Les Belles Lettres.

I

- **Iserin. P., Masson.M., Restellini. J., Ybert. E., De Laage de Meux.A., Moulard.F., Zha. E., De la Roque. R., De la Roque. O., Vican. P (2001)** Larousse des plantes médicinales identification, préparation, soins. Editions Larousse, Paris, 15.
- **Ivanova, D., et al. (2005).** Polyphenols and tannins in *Malva sylvestris* and their antioxidant properties. Journal of Agricultural and Food Chemistry.

K

- **Kaper J. B., Nataro J. P., et Mobley H. L. (2004).** Pathogenic *Escherichia coli*. Nature reviews microbiology, 2(2), p: 123-140.
- **Kebieche, M., et al. (2015).** Phenolic content, antiproliferative and antioxidant activities of Algerian *Malva sylvestris*. Journal of Applied Pharmaceutical Science, 5(11), 7–13.
- **Kebili.Z (2016).** Contribution à l'étude de quelques activités biologiques des extraits d'*Ephedra Alata* de la région d'Ouargla mémoire de magister.
- **Krief S., 2003-** Thèse doctorat, Métabolites Secondaires des Plantes et Comportement Animal, Museum National d'Histoire Naturelle, 32p.
- **Kültür S. 2007.** Plantes médicinales utilisées dans la province de Kirklareli (Turquie). Revue de Ethnopharmacologie, 111:341-364.

L

- **Labri, M., Ziani, S. (2019).** Etude de l'activité antioxydant et antibactérienne de l'extrait aqueux de feuille de Malva Sylvestris, mémoire de master en microbiologie option Microbiologie Appliquée. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.
- **Llopis Lisa (2017)** « les plantes médicinales pyrénéennes et leurs utilisations thérapeutiques dans les pathologies bénignes ». Diplôme D'état de Docteur en pharmacie, France: Université de Bordeaux.

M

- **Mainil J. (2013).** Escherichia coli virulence factors. Veterinary immunology and immunopathology, 152(1-2), p: 2-12.
- **Marref, S ., 2018-** These doctorat, Contribution à l'étude des activités biologiques de l'extrait méthanolique de la plante Gladiolus segetum in vivo et in vitro, Université de Batna 2 Mostefa Ben Boulaïd, 15-16 Pp.
- **Mezouar, D., Lahfa, F., Djaziri, R., Boucherit-Otmani, Z (2014).** Évaluation de l'activité antioxydante de Berberis vulgaris L. Phytothérapie 12, 297–301.
- **Mohajer, S., et al. (2016).** Phytochemical analysis of Malva sylvestris L. and evaluation of its antimicrobial activity. Journal of Medicinal Plants Research.
- **Moualek, I., Djedjiga, M., Benarab, K., Sebbane, H., Bariz, K., & Houali, K. (2020).** Evaluation of antioxidant potential of Algerian Malva sylvestris aqueous extract. Ponte International Journal of Sciences and Modern Management, 76(4), 45–52

O

- **Ondua, M., Njoya, E.M., Abdalla, M.A., McGaw, L. J (2019).** Anti-inflammatory and antioxidant properties of leaf extracts of eleven South African medicinal plants used traditionally to treat inflammation. J. Ethnopharmacol. 234, 27–35.

P

- **penn. (2002).** Cahier de formation biologie médical- l es moisissures d'intérêt médical (N25). rue Lrry angers cedex.
- **Petkova, N., & Popova, A. (2020).** Antioxidant properties and some phytochemical components of the edible medicinal Malva sylvestris L. Agriculture, 10(10), 452.
- **Pline l'Ancien.** (Ier siècle ap. J.-C.). *Histoire naturelle*. Livre XX. Paris : Les Belles Lettres.

- **Popovici C., Saykova I., Tylkowski B. (2009).** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel* 4: 25-39

Q

- **Quézel, P et Santa, S. (1963).** Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 2. Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, 603 p
- **Quideau, S. (2009).** Chemistry and Biology of underestimated class of bioactive plant Polyphenols Ellagitannins. World Scientific Publishing, 1-367 p.

R

- **Rahal, K. (2005).** Standardization de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale. 4ème édition. Alger, p : 116.
- **Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. (1996).** Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20(7), 933–956. Hahn, M. W., Lunsdorf, H., Wu. Q., Schauer, M., Hofle, M. G., Boenigk, J., Stadtler, P.,
- **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**

S

- **Salhi C. (2018).** Les plantes antitussives à l'officine. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Grenoble Alpes faculté de pharmacie, Grenoble, p : 45-59.
- **Sanogo R. (2006)** Le Rôle des Plantes Médicinales en Médecine Traditionnelle. Développement, Environnement et Santé. 10ème école d'été de l'IEPF et SIFEE du 06 au 10 juin 2006, 53 p
- **Sarni-Manchado. P et Cheynier. V (2006).** Polyphenols in food products. Polyphenols in food products.
- **Schaffner Willi – 1993 – Les Plantes Médicinales et leurs Propriétés, Manuel d'herboristerie – Delachaux & Niestlé**
- **Sharifi-Rad, J., Sureda, A., Tenore, G. C., Daglia, M., Sharifi-Rad, M., Valussi, M., Tundis, R., Sharifi-Rad, M., Loizzo, M. R., Ademiluyi, A. O., & Sharifi-Rad,**

R. (2020). *Malva sylvestris* L.: A review of its ethnobotany, phytochemistry and pharmacology *Phytotherapy Research* 34(3), 546–567.

- **Sokatch, J (2012).** *The Biology of Pseudomonas* (London:Academic).
- **Spiridon, I., Bodirlau, R., & Teaca, C.-A (2011)** Total phenolic content and antioxidant activity of plants used in traditional Romanian herbal medicine, *Central European Journal of Biology*, 6(3),p. 388-396.
- **Stevanovic T et Perrin D. (2009).** *Chimie du bois*. Lausanne : Presses polytechniques et universitaires romandes, 179-180 p.

T

- **Tela botanica (2020)** : site d'internet... <http://www.tela-botanica.org> consulté le : 12/04/2021
- **The Plant List. (2013).** Version 1.1. *Malva sylvestris* L. Retrieved from <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-2504161>

Y

- **Yesil-Celiktas, O., et al. (2010).** Bioactive compounds in *Malva sylvestris*. *Food Chemistry*.

Annexes

Annexes



Rota Vapeur



Agitateur



Pied à Coulisse



Etuve



Plaque chauffante



Balance



Balance Précision



Vortex



Autoclave



Bain Mari

2.Verreries, matériel en plastique et produits chimiques :

Verreries et matériaux en plastique	Produits chimiques	Milieu de culture
-Becher - Burette graduée - Erlenmeyer - Embouts - Entonnoir - Eprouvette - Fioles - Flacons en verre ambré - Micro pipette - Pipettes graduée - Tube - Tube à vis - Tube à essais - Porte tube à essais - Boîtes de pétrie - Entonnoir - Pipette pasteur - Ballon - Pipette - Verre a montre - Tubes - Eppendorfs - Pince	- méthanol (MEOH) - L'eau distillée - Acide chlorhydrique (HCl) - Chloroforme (CHCL3) - Chlorure de ferrique (FeCl3) - Acide sulfurique (H2SO4) - Folin Ciocalteu - Acide ascorbique (C6H8O6) - Trichlorure d'aluminium (AlCl3) - Carbonate de sodium (Na2CO3) - Diméthylesulfoxyde (DMSO) - Di-Phenyl-Pieryl-Hydrazyl (DPPH) - Iode (I2) - Iodure de potassium (KI) - Méthanol (CH3OH) - Hydroxyde de potassium (KOH) - Magnésium (Mg)	- La gélose Mueller Hinton (MH) - La gélose Bouillon nutritif (BN) -La gélose Sabouraud

-Papier wattman	- Alcool absolu (C ₂ H ₅ OH)	
- Papier filtre	- Ninhydrine (C ₉ H ₆ O ₄)	
- Papier film	- Ether de pétrole (C ₆ H ₁₄)	
- Papier aluminium	- Anhydride acétique (C ₄ H ₆)	
- écouvillon		
- Spatule		

3. Réactifs utilisés :

3.1 Réactif de Wagner :

Ce réactif est composé d'un mélange de 1.27g d'Iode KI et 2g d'Iodure de potassium I et dissout dans 100ml d'eau distillée.

3.2 Réactif d'amidon :

1,2g d'iode I et 2.5g de d'Iodure de potassium KI solubilisés dans 500ml d'eau distillée