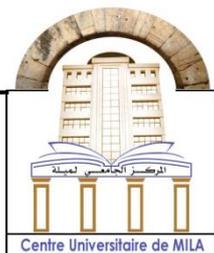


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

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 et de la Technologie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

**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 :

**Evaluation de quelques activités biologiques de
deux plantes médicinales (*Bunium mauritanicum* L.
et *Malva sylvestris* L.)**

Présenté par :

- GHARBOUDJE Fadia
- HELLOUS Khawla

Devant le jury :

BOUCHEKRIT Moufida	(MCA)	Centre universitaire de Mila.	Présidente
BENSERRADJ Ouafa	(MCA)	Centre universitaire de Mila.	Examinatrice
BENMAKHLOUF Zoubida	(MCA)	Centre universitaire de Mila	Promotrice

Année Universitaire : 2022/2023

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciements

Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements à Allah le Tout Puissant, de nous avoir accordé la force et la patience d'aller jusqu'au bout de notre rêve et le bonheur d'achever ce travail.

*Nous exprimons nos remerciements et notre gratitude à notre professeur, le Dr (**Benmakhlouf Zoubida**), pour toutes les indications et observations. Et pour avoir supervisé cet humble travail.*

*Nous exprimons notre gratitude à Mme (**Bouhekrit Moufida**) d'avoir acceptée la présidence du jury. Nous remercions également Mme (**Benserradj Ouafa**), qui est honorée de réviser notre mémoire. Sans oublier Mme (**Amari Salima**) et Mme (**Benserradj**) encore une fois pour leur grande coopération avec nous et leurs conseils et orientations pour nous.*

Nous remercions également tous nos enseignants, nos collègues et les administrateurs du département des Sciences de la Nature et de la Vie. Nous ajoutons des remerciements groupés à tous les techniciens des laboratoires de centre universitaire de Mila.

et remerciements À toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail.

Dédicace

*Avec l'aide et la volonté de Dieu, j'ai pu faire cet humble acte. Al
hamdollah qui m'a donné cette joie.*

*Avec beaucoup de remerciements et d'amour, je dédie ce simple travail à
ma chère mère (**Badiaa**) et à mon cher père (**Azz El Din**). Que Dieu les
garde en bonne santé. Tous les mots de remerciement ne remplissent pas
leur droit.*

*A mes frères et sœurs pour m'avoir soutenu dans la vie (**Mouaad,
Housin, Omar, Lila, Fatima, Siham, Farah**) La femme de mon frère et
leurs enfants (**Mahdi, Moataz**) Que Dieu vous accorde une vie pleine de
joie et de bonheur.*

Je n'oublie pas toute ma famille et mes proches sans exception.

*À ma compagne dans mon cursus universitaire et mes années d'études
(**Khawla**), et n'oubliez pas de mentionner (**Meriam**), Et mon collègue
dans la note (**Khawla**)*

*Et tous mes amis, sans exception, et tous ceux qui m'ont donné amour et
optimisme et qui ont contribué à mon succès de près ou de loin. Merci à
tous.*

Fadia

Dédicace

Je dédie cet humble travail : à Dieu Tout-Puissant parce qu'il nous a donné la santé et la volonté de commencer et de terminer cette thèse.

*À mes parents "**Yazid**" et "**Fatiha**" grâce à tous leurs sacrifices, leur soutien, leurs encouragements et leur amour, j'ai réussi. Dieu leurs donne la santé et une longue vie.*

*À mes frères bien-aimés "**Ayoub**", "**Yacoub**" et "**batoul**" pour m'aider et était le meilleur soutien. Avec mes meilleurs voeux de bonheur et de succès dans leur vie.*

*À la grande famille "**grand-père**", "**grand-mère**", "**tante**", à mes cousins et oncles, en particulier "**Fadia**" et à tous mes amis qui m'ont aidé, en particulier mon âme sœur "**Rima**" et mon collègue dans la note (**Fadia**). Enfin, que tous ceux qui ont été impliqués directement ou indirectement dans le développement de cette œuvre trouvent ici l'expression de ma gratitude.*

Khawla

Résumé

L'objectif principal de notre travail est l'étude phytochimique des extraits des plantes *Bunium mauritanicum* L. et *Malva silvestris* L., la quantification des polyphénols et flavonoïdes et l'évaluation de leurs activités biologiques (antioxydante et antimicrobienne).

Les résultats indiquent que le rendement d'extraction de la plante de *Bunium mauritanicum* L. est de 6,59% et le rendement de la *Malva silvestris* L. a atteint 17,80%.

Les différents tests de screening phytochimique utilisées dans notre expérimentation permis la détection de plusieurs molécules biologiquement actives tels que les alcaloïdes, les saponosides, les tanins, les stérols et tri- terpènes, les glycosides cardiaques, les mucilages et les acides aminés chez les deux plantes étudiées.

Les résultats de l'analyse quantitative montrent que la plante *Malva silvestris* L. et *Bunium mauritanicum* L. renferment des quantités importantes de polyphénols et de flavonoïdes, mais elles restent plus importantes dans la plante *Malva silvestris* L. et à travers les résultats obtenus, on constate que les deux plantes possèdent des propriétés antioxydantes, par rapport à l'acide ascorbique.

Concernant l'activité antimicrobienne, la sensibilité des souches bactériennes aux deux extraits varie selon la concentration de l'extrait et le type de la bactérie. Cependant, les souches fongiques (*Aspergillus. niger*, *Aspergillus. brasiliensis*, *Aspergillus. flavus*) montrent une résistance totale aux deux extraits.

Mots clés : *Bunium mauritanicum* L. *Malva sylvestre* L. polyphénols et flavonoides, antioxydants, activité antibactérienne, activité antifongique.

Abstract

The main objective of our work is the phytochemical study of the extracts of the plants *Bunium mauritanicum* L. and *Malva silvestris* L., the quantification of polyphenols and flavonoids and the evaluation of their biological activities (antioxidant and antimicrobial).

The results indicate that the extraction yield of the *Bunium mauritanicum* L. plant is 6.59% and the yield of the *Malva silvestris* L. has reached 17.80%.

The various phytochemical screening tests used in our experiment allowed the detection of several biologically active molecules such as alkaloids, saponosides, tannins, sterols and triterpenes, cardiac glycosides, mucilages and amino acids in the two plants studied.

The results of the quantitative analysis show that the *Malva silvestris* L. plant and *Bunium mauritanicum* L. contain significant amounts of polyphenols and flavonoids, but they remain more important in the Malva plant and through the results obtained, it is found that both plants have antioxidant properties, compared to ascorbic acid.

Regarding the antimicrobial activity, the sensitivity of the bacterial strains to the two extracts varies according to the concentration of the extract and the type of the bacterium. However, fungal strains (*Aspergillus niger*, *Aspergillus brasiliensis*, *Aspergillus flavus*) show total resistance to both extracts.

Key words: *Bunium mauritanicum* L. *Malva sylvestre* L. polyphenols and flavonoids, antioxidants, antibacterial activity, antifungal activity.

ملخص

الهدف الرئيسي من عملنا هو الدراسة الكيميائية النباتية لمستخلصات *Malva* و *Bunium mauritanicum* L. *sylvestre* L.، والتقدير الكمي للبوليفينول والفلافونويد، كما يتم ايضا تقييم أنشطتهما البيولوجية (مضادات الأكسدة ومضادات الميكروبات تشير النتائج إلى أن عائد الاستخلاص لنبات *Bunium mauritanicum* L. بلغ 6.59 % وعائد نبات *Malva sylvestre* L. وصل إلى 17.80 %).

سمحت اختبارات الفحص الكيميائي النباتي المختلفة المستخدمة في تجربتنا باكتشاف العديد من الجزيئات النشطة بيولوجيا مثل القلويدات والصابونوسيدات والعفص والستيروول وثلاثي التربينات والجليكوسيدات القلبية والصمغ والأحماض الأمينية في النباتين المدروسين.

تظهر نتائج التحليل الكمي أن نبات *Malva sylvestre* L. و *Bunium mauritanicum* L. يحتويان على كميات كبيرة من البوليفينول والفلافونويد ، لكنها تظل أكثر أهمية في نبات *Malva sylvestre* L. ومن خلال النتائج التي تم الحصول عليها ، وجد أن كلا النباتين لهما خصائص مضادة للأكسدة ، مقارنة بحمض الأسكوربيك.

فيما يتعلق بالنشاط المضاد للميكروبات ، تختلف حساسية السلالات البكتيرية تجاه المستخلصين وفقا لتركيز المستخلص

ونوع البكتيريا. ومع ذلك، فإن السلالات الفطرية (*Aspergillus niger*, *Aspergillus brasiliensis*, *Aspergillus flavus*) إظهار المقاومة الكاملة لكلا المستخلصين.

الكلمات المفتاحية : *Bunium maritanicum* L., *Malva sylvestre* L., بوليفينول وفلافونويد، مضادات الأكسدة، نشاط مضاد للجراثيم، نشاط مضاد للفطريات.

Sommaire

Remerciements

Dédicace

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des abréviations

Liste des Figures

Liste des tableaux

Introduction

Partie I : Synthèse bibliographique

I. Généralité sur Les plantes médicinale	4
I.1. Définition des plantes médicinales	4
I.1.1. Généralité sur les Plantes étudiées	4
I.1.1.1. Présentation de la plante <i>Bunium mauritanicum</i> L.	4
I.1.1.1.1. La famille des Apiaceae	4
I.1.1.1.2. Classification botanique de l'espèce <i>Bunium mauritanicum</i> L.	4
I.1.1.1.3. Synonymes et noms locaux	5
I.1.1.1.4. Description de l'espèce <i>Bunium mauritanicum</i> L.	5
I.1.1.1.5. Répartition géographique de <i>Bunium mauritanicum</i> L.	5
I.1.1.1.6. Utilisation thérapeutiques de <i>Bunium mauritanicum</i> L.	6
I.1.1.2. Présentation de la plante <i>Malva silvestris</i> L.	6
I.1.1.2.1. La famille des Malvaceae	6
I.1.1.2.2. Classification botanique de <i>Malva silvestris</i> L.	6
I.1.1.2.3. Synonymes et noms locaux	7
I.1.1.2.4. Description de l'espèce <i>Malva silvestris</i> L.	7
I.1.1.2.5. Répartition géographique de <i>Malva silvestris</i> L.	7
I.1.1.2.6. Utilisation thérapeutique <i>Malva silvestris</i> L.	8
I.2. Les métabolites secondaires	8
I.2.1. Définition	8
I.2.2. Classification des métabolites secondaires	8
I.2.2.1. Les composés phénoliques	8

I.2.2.1.1. Les acides phénoliques	9
I.2.2.1.2. Les flavonoïdes	10
I.2.2.1.3. Les coumarines.....	12
I.2.2.1.4. Les tanins.....	12
I.2.2.1.5. Le mucilage	13
I.2.2.2. Les alcaloïdes.....	14
I.2.2.3. Les terpènes et les stérols.....	15
I.3. Les activités biologiques	16
I.3.1. L'activité antioxydante	16
I.3.1.1. Les radicaux libres	17
I.3.1.2. Les antioxydants	17
I.3.1.3. Les Types des antioxydants	17
I.3.2. L'activité antibactérienne	18
I.3.2.1. Définition des bactéries.....	18
I.3.2.2. Les souches bactériennes testées :	19
I.3.3. L'activité antifongique	19
I.3.3.1. Définition de champignon.....	19
I.3.3.2. Les types de champignons	19
I.3.3.2.1. <i>Aspergillus flavus</i>	19
I.3.3.2.2. <i>Aspergillus niger</i>	20
I.3.3.2.3. <i>Aspergillus brasiliensis</i>	20

Partie II : Etude expérimentale

I. Matériel et méthodes.....	22
I.1. Matériel	22
I.1.1. Matériel végétal	22
I.1.2. Les souches bactériennes testées	22
I.1.3. Les champignons testés	22
I.2. Méthodes de travail	22
I.2.1. Préparation des extraits végétaux	22
I.2.2. Préparation des extraits.....	23
I.2.2.1. Principe	23

I.2.2.2. Mode opératoire	24
I.2.3. Etude phytochimique	26
I.2.3.1. Screening phytochimique.....	26
I.2.3.1.1. Phytochimie qualitative	26
I.2.3.1.1.1. Rendement d'extraction.....	28
I.2.3.1.2. Etude quantitative.....	28
I.2.3.1.2.1. Dosage des polyphénols totaux	28
I.2.3.1.2.2. Dosage des flavonoïdes :	28
I.2.3.1.2.3. Evaluation de l'activité antioxydante.....	28
I.2.3.1.2.3.1. Méthode de Di-Phenyl-Pieryl-Hydrazyl (DPPH)	28
I.2.3.1.2.3.2. Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique	30
I.2.3.1.2.4. Évaluation de l'activité antibactérienne :	31
I.2.3.1.2.4.1. Souches bactériennes testées.....	32
I.2.3.1.2.4.2. Préparation des milieux.....	32
I.2.3.1.2.5. Activité antifongique	39
II. Résultats et discussion	42
II.1. Résultats	42
II.1.1. Rendement d'extraction	42
II.1.2. Screening phytochimique	42
II.1.3. Analyse quantitative	47
II.1.3.1. Résultats du dosage des polyphénols.....	47
II.1.3.2. Résultats du dosage des flavonoïdes	48
II.1.4. Activités biologiques.....	50
II.1.4.1. Evaluation de l'activité antioxydante	50
II.1.4.2. Activité antibactérienne	51
II.1.4.3. Les résultats de l'activité antifongique	55

Conclusion générale

Références bibliographiques

Annexes

Liste des abréviations

(-) : Test négatif.

(+) : Test faiblement positif.

(++): Test positif.

(+++) : Test Très positif.

µg : Microgramme.

µl : Microlitre.

Abs : Absorbance.

ATCC : American Type Culture C.

B.m : *Bunium mauritanicum* L.

BN : Bouillon Nutritif.

C : Concentration.

C°: Degré Clesius.

C1 : Concentration 50%.

C2: Concentration 25%.

C3 : Concentration 12.5%.

DMSO : Diméthylesulfoxyde.

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

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 plante <i>Bunium mauritanicum</i> L.	5
Figure 2 : Représentation de la plante <i>malva silvestris</i> L.	7
Figure 3 : Représentation de différentes parties d'une plante <i>Malva silvestris</i> L.....	7
Figure 4 : Structure chimique des composés phénolique (groupe phénol)	9
Figure 5 : Structure chimique des acides phénoliques	10
Figure 6 : Structure de base des flavonoïdes	10
Figure 7 : Les déférentes structures de flavonoïdes	11
Figure 8 : Structure de base des coumarines	12
Figure 9 : structures de base du tanin	13
Figure 10 : structure chimique du mucilage	13
Figure 11 : Structures chimiques de quelques alcaloïdes	14
Figure 12 : Structure chimique des Terpènes : α -pinène (a), β -pinène (b) et dipentène (c)	15
Figure 13 : Structure chimique des stérols	16
Figure 14 : Structure de base des saponosides	16
Figure 15 : Trois classes de bactéries (a) Cocci (b) Vibrio (c) Bacilles	18
Figure 16 : Séchage et Broyage des plantes étudiées	23
Figure 17 : Extraction par soxhlet des plantes étudiées (B.m : <i>Bunium mauritanicum</i> L. M.s : <i>Malva silvestris</i> L.)	24
Figure 18 : Evaporation des échantillons à 60°C	25
Figure 19 : Séchage dans l'étuve à température 50° C (B.m : <i>Bunium mauritanicum</i> L. M.s : <i>Malva silvestris</i> L.)	25
Figure 20 : préparation des différentes concentration des DPPH	30
Figure 21 : dilution de la solution mère de l'acide ascorbique.	30
Figure 22 : préparation des différentes dilutions de l'acide ascorbique	31
Figure 23 : Préparation de milieu Mueller Hinton (MH)	32

Figure 24 : Préparation du Bouillon Nutritif (BN)	33
Figure 25 : Préparation de l'eau physiologique	33
Figure 26 : Préparation des disques d'aromatogramme	34
Figure 27 : Stérilisation du matériel	34
Figure 28 : Réactivation des souches bactériennes	35
Figure 29 : Repiquage des souches bactériennes	35
Figure 30 : Différentes concentrations des extraits	36
Figure 31 : Préparation de l'inoculum bactérien	36
Figure 32 : Coulage de milieux de culture MH	37
Figure 33 : Ensemencement bactérienne	37
Figure 34 : Mettre des disques (A) et l'injection des extraits (B)	38
Figure 35 : mettre des disques d'antibiotiques (Gentamicine) et DMSO	38
Figure 36 : Lecture des résultats	39
Figure 37 : Préparation du milieu Sabouraud	40
Figure 38 : Les différentes étapes de l'activité antifongiques	41
Figure 39 : Teneurs en polyphénols de l'extrait hydro-méthanoïque de la plante <i>Bunium mauritanicum</i> L. (B.m) et <i>Malva sylvestre</i> L. (M.s).	48
Figure 40 : Teneurs en flavonoïdes de l'extrait hydro-méthanoïque de la plante <i>Bunium mauritanicum</i> L. (B.m) et <i>Malva sylvestre</i> L. (M.s).	49
Figure 41 : Pourcentages d'inhibition du radicale DPPH par les extraits de la plante <i>Bunium mauritanicum</i> L. (B.m) et <i>Malva sylvestre</i> L. (M.s).	50
Figure 42 : IC50 de l'acide ascorbique et des extraits hydro-méthanoliques de <i>Bunium mauritanicum</i> L. (B.m) et <i>Malva sylvestre</i> L. (M.s).	50
Figure 43 : Zones d'inhibition de différentes souches bactériennes traitées par différentes concentrations d'extrait de <i>Bunium mauritanicum</i> L.	53
Figure 44 : Zones d'inhibition de différentes souches bactériennes traitées par différentes concentrations d'extrait de <i>Malva sylvestres</i> L.	54
Figure 45 : Aspect des zones d'inhibition de Gentamicine vis-à-vis les souches bactériennes. ..	54

Figure 46 : Activité antifongique des différentes concentrations d'extrait de *Bunium mauritanicum* L. sur les trois souches fongiques testées.55

Figure 47 : Activité antifongique des différentes concentrations d'extrait de *Malva sylvestres* L. sur les trois souches fongiques testées.55

Figure 48 : Activité antibiotique des 1. Mycozan, 2. Fongenol et 3. Verten sur les trois souches fongiques testées.56

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification botanique de <i>Bunium mauritanicum</i> L.	4
Tableau 2 : Classification botanique de <i>Malva silvestris</i> L.	6
Tableau 3 : Différentes solutions préparées pour le test.	29
Tableau 4 : Les bactéries testées.	32
Tableau 5 : Les champignons testés.	39
Tableau 6 : Résultats du rendement d'extraction des feuilles de <i>Malva silvestris</i> L. et tubercules de <i>Bunium mauritanicum</i> L.	42
Tableau 7 : Résultats des tests phytochimiques.	43
Tableau 8 : Diamètres de la zone d'inhibition de l'extrait des tubercules de <i>Bunium mauritanicum</i> L., des feuilles de <i>Malva sylvestris</i> L., de la Gentamicine (T+) et du DMSO (T-) avec des différentes dilutions.	51

Introduction

La nature a toujours été une source d'agents médicinaux et l'homme a l'habitude de les utiliser depuis l'Antiquité, grâce à ses propriétés pharmacologiques pour traiter de nombreuses maladies. Elle représente la seule source thérapeutique de traitement traditionnel (**Abayomi, 2010**). Et cela est confirmé par l'Organisation mondiale de la Santé (OMS), selon ses estimations, il y a plus de 80% de la population mondiale, en particulier dans les pays en développement adopte la médecine traditionnelle.

C'est ce qui a poussé la médecine moderne à s'intéresser à ces plantes et elles sont devenues la principale source de médicaments, grâce aux produits de métabolisme secondaire caractérisés par des glucosides, des alcaloïdes, des tanins, des polyphénols, des flavonoïdes, des saponines... etc, qui ont un impact sur de nombreuses activités biologiques (activité antioxydant, activités antibactérienne, activités antifongique) (**Eddouks et al., 2007**).

L'Algérie est un pays riche en plantes médicinales et aromatiques de par la diversité de son climat et la nature de son sol et constitue un véritable réservoir phylogénétique, avec environ 4000 espèces et sous-espèces de plantes vasculaires. Malgré cela, les plantes médicinales en Algérie sont pas encore totalement connues (**Hamel et al., 2018**).

La plante *Bunium mauritanicum* L., appartient à la famille Apiaceas où ses tubercules sont récoltés pour l'extraction de la farine alimentaire et ses tubercules séchés sont encore utilisés pour traiter de nombreuses maladies car ils contiennent de nombreux composés chimiques qui ont un effet sur les activités biologiques (**Benkhalifa et Toumi, 2018**). La *Malva sylvestris* L. appartient à la famille Malvaceae où les racines, les fleurs et surtout les feuilles sont utilisées dans le traitement de certaines maladies, par exemple les troubles du système digestifs et respiratoires, et possède également des propriétés anti-inflammatoires (**Barros et Carvalho, 2010**).

Le but de notre travail est d'étudier la Phytochimie de *Bunium mauritanicum* L. et *Malva sylvestris* L., leur teneur en polyphénols et flavonoïdes et leur activités biologiques (activité antioxydante, activités antibactérienne et activités antifongique).

Le mémoire est organisé en deux parties :

- ✓ La première partie concerne la synthèse bibliographique, elle contient:
 - Généralité sur *Bunium mauritanicum* L. et *Malva sylvestris* L.
 - Généralité sur les métabolites secondaires.
 - Activités biologiques.

La deuxième partie concerne l'étude expérimentale, elle comprend :

- Matériel et méthodes : on a réalisé les tests phytochimiques, L'évaluation du rendement d'extraction et les activités biologiques.

- Résultats et discussion.

✓ On termine notre travail par une conclusion générale.

Partie I : Synthèse bibliographique

I. Généralité sur Les plantes médicinale

I.1. Définition des plantes médicinales

Les plantes médicinales sont toutes les plantes qui contiennent des substances actives responsables d'une action thérapeutique. Ces substances sont présentes dans une ou plusieurs parties de la plante (feuilles, écorce, fleurs, fruits, graines ou racines). Mais il est important de noter que les plantes médicinales contiennent des substances fortes qui peuvent être dangereuses, nous devons donc les utiliser à bon escient (**Limonier, 2018**).

I.1.1. Généralité sur les Plantes étudiées

I.1.1.1. Présentation de la plante *Bunium mauritanicum* L.

I.1.1.1.1. La famille des Apiaceae

La famille Apiaceae qui comprend 446 genres et 3540 spp; est en cours l'une des principaux réarrangements taxonomiques avec des angiospermes. Les plantes de cette famille se caractérisent par les fleurs blanches, jaunâtres ou verdâtres; avec des côtes apparentes, des feuilles plates à des feuilles à feuilles (Umbellae) et des fruits lisses, finement tuberculés ou poils (**Jiménez et Vargas, 2015**).

La famille des Apiacées regroupe plusieurs plantes aromatiques, la plupart d'entre elles sont situées dans la région méditerranéenne et en Asie du Sud-Ouest, elles sont introduites et cultivées dans le monde entier et utilisées dans l'alimentation, la pharmacie, les parfums et les productions cosmétiques (**Ahmed et al., 2017**). Trouvé dans Algérie, Bosnie, Bulgarie, Canada, Herzégovine, Iran, Irak, Italie, Jordanie, Kirghizistan, Liban, Libye, Pakistan, Palestine, Espagne, Tunisie, Turquie et Ouzbékistan (**Sayed-Ahmad et al., 2017**).

I.1.1.1.2. Classification botanique de l'espèce *Bunium mauritanicum* L.

Tableau 1 : Classification botanique de *Bunium mauritanicum* L. (**Lebouazid et meziani, 2021**).

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Apiales
Famille	Apiaceae
Genre	Bunium
Espèce	<i>Bunium mauritanicum</i> L.

I.1.1.1.3. Synonymes et noms locaux

Nom scientifique : *Bunium mauritanicum* L.

Nom vulgaire : Français : Noix ou glande de terre; Arabe : Talghouda , (تالغودة)

I.1.1.1.4. Description de l'espèce *Bunium mauritanicum* L.

L'espèce *Bunium mauritanicum* L. est une plante médicinale de bonne réputation dans le domaine médical. Elle appartient à la famille des Apiacées. Elle contient de nombreuses substances actives aux multiples bienfaits (Karouche et al., 2022).

C'est une plante bulbeuse vivace herbacée annuelle sauvage, avec une habitude ombellifère, ombels de 5 à 7 cm de large. Les tiges de cette espèce sont moins épaisses et minces et mal développées; Sillonné, surtout vers le haut, aromatiques. Ces feuilles sont alternes, 2 à 3 fois divisées en bandes étroites avec un contour triangulaire général. Les fruits; c'est une partie souterraine est un tubercule brunâtre, généralement arrondie, de 1-2 cm de diamètre, brunâtre à l'extérieur, blanc à l'intérieur. Fleurs en ombrelle de couleur blanche, Floraison : mars juillet (Adoui et al., 2022).



Figure 1 : Représentation de plante *Bunium mauritanicum* L. (Benkhalifa et Toumi, 2019).

I.1.1.1.5. Répartition géographique de *Bunium mauritanicum* L.

L'espèce *Bunium mauritanicum* L., trouvé dans le nord de l'Angleterre, l'Italie, la Sicile, la péninsule balkanique et l'Espagne, elle apparaît spontanément en Europe. En Afrique du Nord, cette espèce pousse nativement au Maroc en Tunisie, en Algérie, et dans plusieurs habitats : dans les clairières et bordures de maquis et maquis méditerranéens, sur sols calcaires, argilo-calcaires et rocheux. elle est assez commune sur les terrains rudéraux

En Algérie; Elle est localisée dans l'Est, notamment à Oum Elbouaghi où elle est très commune (**Adoui et al., 2022**), à El Kala et endémique à Lalla Khedidja dans le Djurdjura; l'Atlas tellien (Alger, Kabylie et Aurès) (**Benkhalifa et Toumi, 2019**).

I.1.1.1.6. Utilisation thérapeutiques de *Bunium mauritanicum* L.

Le tubercule de cette plante est récolté pour extraire une farine alimentaire (**Benkhalifa et Toumi, 2019**). Il est aussi utilisé dans l'industrie; cosmétique, pharmacologique et agroalimentaire, il contient de nombreuses molécules actives telles que les coumarines, les acides phénoliques, terpènes et flavonoïdes, alcaloïdes, tanins, lignines, qui possèdent potentiellement des activités biologiques, antimicrobiennes, anti-inflammatoires, anti-oxydantes et anti-cancérigènes (**Karouche et al., 2022**). Dans la médecine traditionnelle cette partie de la plante est utilisé comme remède de dysfonctionnement thyroïdien (**Benkhalifa et Toumi , 2019**).

I.1.1.2. Présentation de la plante *Malva silvestris* L.

I.1.1.2.1. La famille des Malvaceae

L'espece *Malva silvestris* L. appartient à la famille des Malvaceae C'est une famille qui vit principalement sous les tropiques et comprend environ 5000 espèces. Ce sont des plantes arbustes ou herbacées (**Llopis, 2017**). Elles brillent et n'ont pas de parfum, leurs fleurs sont groupées en inflorescences variables. Les feuilles de ces plantes alternes, stipulée, habituellement lobées et à nervation palmée (**Spichiger et al, 2004**).

I.1.1.2.2. Classification botanique de *Malva silvestris* L.

Tableau 2 : Classification botanique de *Malva silvestris* L. (**Ghedira et Goetz, 2016**).

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Malvales
Famille	Malvaceae
Genre	Malva
Espèce	<i>Malva silvestris</i> L.

I.1.1.2.3. Synonymes et noms locaux

Nom scientifique : *Malva silvestris* L.

Nom vulgaire : Français : Mauve sylvestre; Arabe : khobiza, خبيزة

I.1.1.2.4. Description de l'espèce *Malva silvestris* L.

C'est une plante médicinale poilue vivace et herbacée que l'on trouve dans les régions tempérées. Ses feuilles 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 2 : Représentation de la plante *malva silvestris* L. (Halous et Gharboudje, 2023).



Figure 3 : Représentation de différentes parties d'une plante *Malva silvestris* L. (Chelghoum et al., 2020).

I.1.1.2.5. Répartition géographique de *Malva silvestris* L.

C'est une plante très répandue, commune en Europe et en Asie. On la trouve largement en Afrique du Nord et en Algérie, en particulier dans le nord du Sahara.-Elle pousse aussi dans les champs, les décombres, les cultures (couplan, 2009).

I.1.1.2.6. Utilisation thérapeutique *Malva silvestris* L.

La mauve est l'une des plantes qui possède des propriétés médicinales grâce à ses composés chimiques bioactives. Elle est utilisée pour arrêter la douleur en la mettant sur le lieu de la blessure, cette fonctionnalité est considérée comme l'un des avantages les plus répandus. Ainsi cette espèce traite des problèmes respiratoires et des troubles du système digestif dont elle agit comme un laxatif qui accélère le mouvement des intestins. Elle montre aussi une activité anti-inflammatoire dans le cas de piqûres d'insectes ou certains problèmes de peau (**Beloued, 2001**).

I.2. Les métabolites secondaires

I.2.1. Définition

Les métabolites secondaires sont des composés chimiques synthétisés par les plantes Ils sont importants pour la survie et la propagation des plantes qui les produisent (**Botineau et al., 2010**). Ils sont très nombreux, et il se composent de quatre catégories principales : les composés phénoliques, les saponines, les composés terpéniques, les alcaloïdes et composés azotés (**Macheix et al., 2005**). Ils ne sont pas les mêmes que les métabolites primaires présents dans toutes les plantes et toutes les cellules, Les métabolites secondaires ont une distribution limitée dans les cellules et leur concentration varie d'une plante à l'autre, ils sont produits à certains stades de développement.

Ces métabolites présents dans les fruits peuvent ralentir leur détérioration ou servir de signal pour attirer les animaux (**Morand et Lajaunie, 2018**). Ces substances bioactives sont aussi utilisées par l'homme pour produire certaines préparations thérapeutiques (**Krief, 2003**).

I.2.2. Classification des métabolites secondaires

I.2.2.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires qui possèdent un cycle aromatique portant un ou plusieurs groupements hydroxyles (**Macheix et al., 1996**). Ces derniers sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) (**Ojeil et al., 2010**).

Ils ont une valeur plus générale car ils ont deux propriétés communes à toutes les plantes. D'une part, en termes de sa remarquable capacité de biosynthèse, et d'autre part, en termes de bénéfice fondamental et appliqué. Il existe actuellement des milliers de composés phénoliques

connus et leur nombre ne cesse d'augmenter, ce qui en fait un groupe chimique important (Macheix et *al.*, 2005).

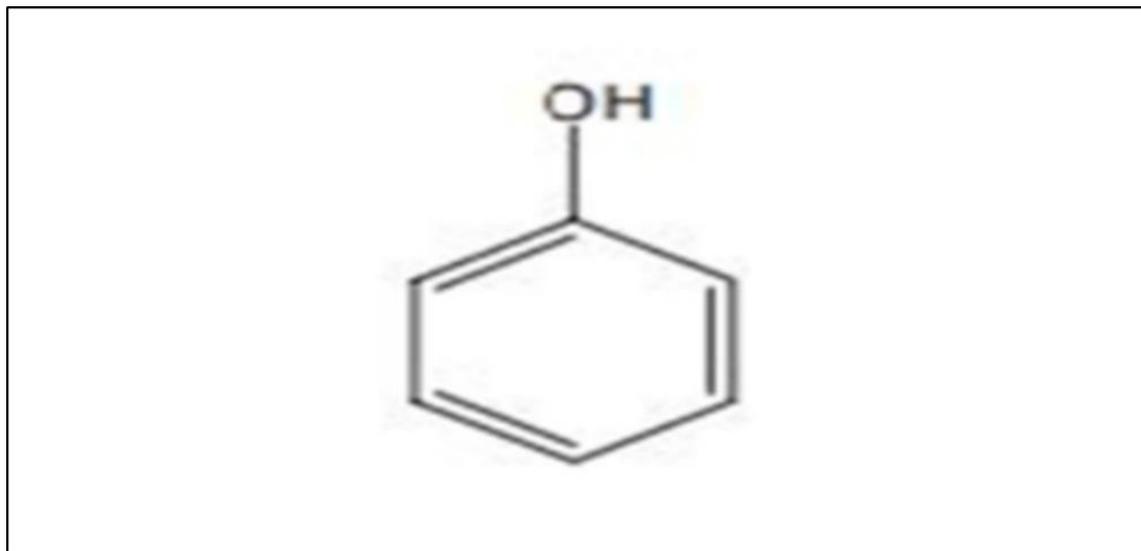


Figure 4 : Structure chimique des composés phénolique (groupe phénol) (Manallah, 2012).

I.2.2.1.1. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques font partie de ces groupes végétaux aromatiques secondaires qui ont tous une caractéristique structurelle commune, un phénol (cycle aromatique portant au moins un hydroxyle substituant). Les acides phénoliques ont une fonctionnalité acide carboxylique.

Ces acides phénoliques naturels contiennent deux cadres carbones constitutives distinctes : la structures hydroxy cinnamiques et hydroxy benzoïques (Robbins, 2003).

- **Les acides hydroxybenzoïques :**

Les acides hydroxybenzoïques ont une structure en C6-C1, composé d'un noyau benzénique sur lequel vient attacher une chaîne aliphatique à un carbone. Nous trouvons acide vanillique, acide syringique, acide gneissique et acide gallique.

- **Les acides hydroxycinnamiques :**

L'acide cinnamique est un composé C6-C3 produit par une désamination de la phénylalanine catalysée par la phénylalanine amonia-lyase, l'acide paracoumarique (p-coumarique) est alors produit par l'hydroxylation de l'acide cinnamique. Leur squelette de base est un cycle benzénique avec une chaîne aliphatique à 3 carbones, avec un ou plusieurs groupes hydroxyle souvent estérifiés dans un ester d'alcool aliphatique (Ischira et *al.*, 2008).

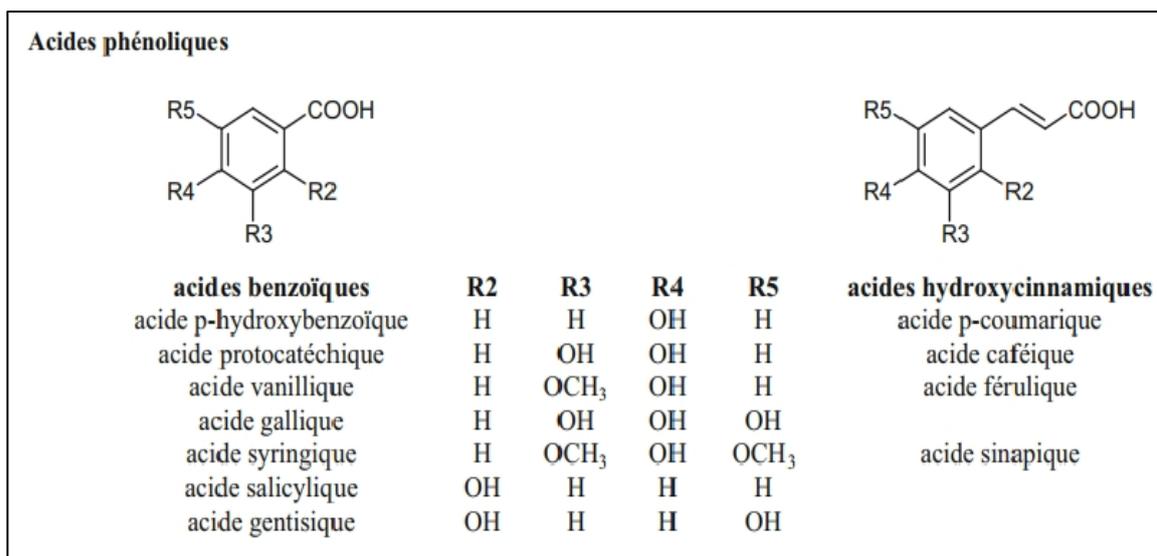


Figure 5 : Structure chimique des acides phénoliques (Ischira et al., 2008).

I.2.2.1.2. Les flavonoïdes

Ce sont des colorants solubles dans l'eau et sont présents au niveau des vacuoles, constituent les plus grands groupes de composés phénoliques de la plante (Raven et al., 2007).

Tous les flavonoïdes dérivent de l'enchaînement benzopyrone, Il est généralement consommé sous forme de légumes et de fruits et est capable de modifier de nombreux systèmes cellulaires et l'activité de certaines enzymes (Ghedira, 2005). Ces composés sont responsables de la coloration des fleurs (Botineau et al., 2009).

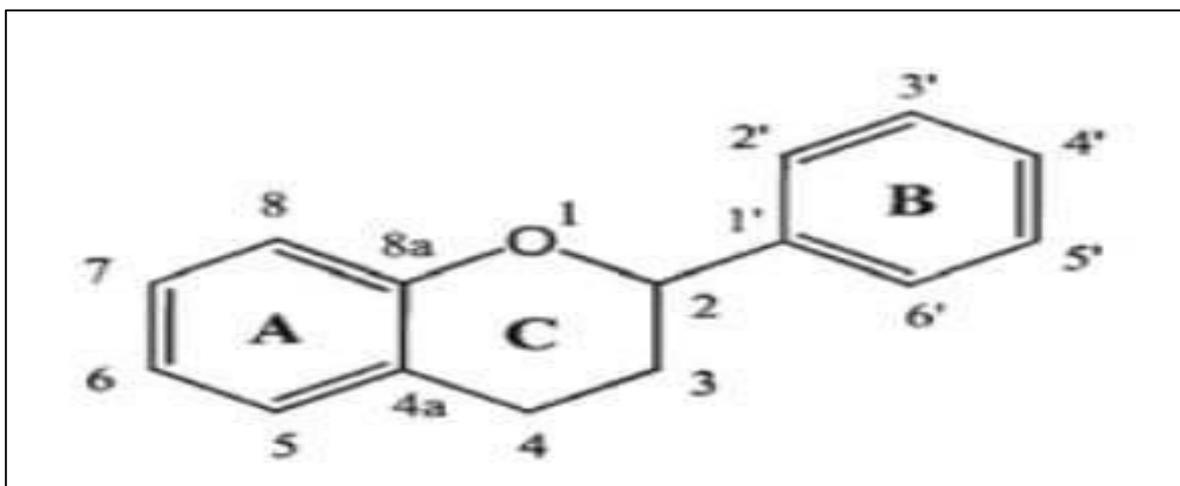
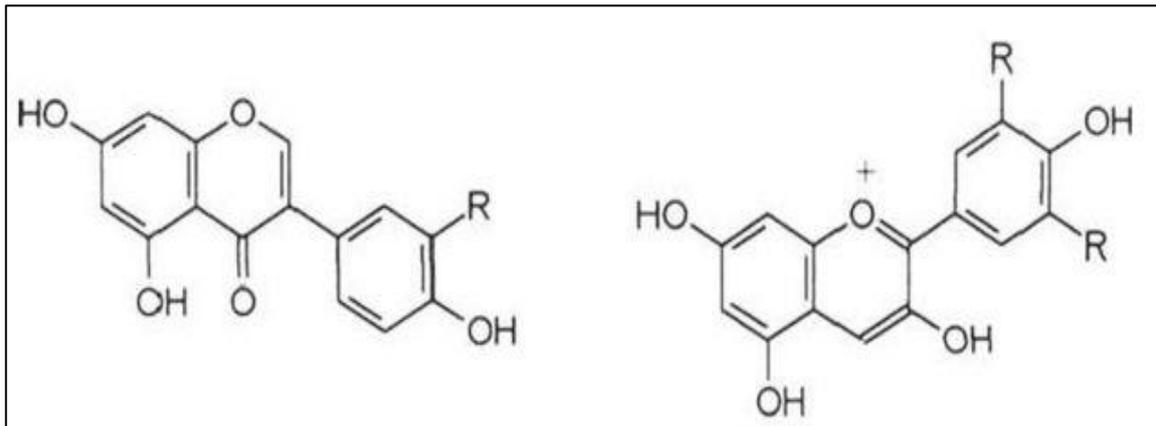


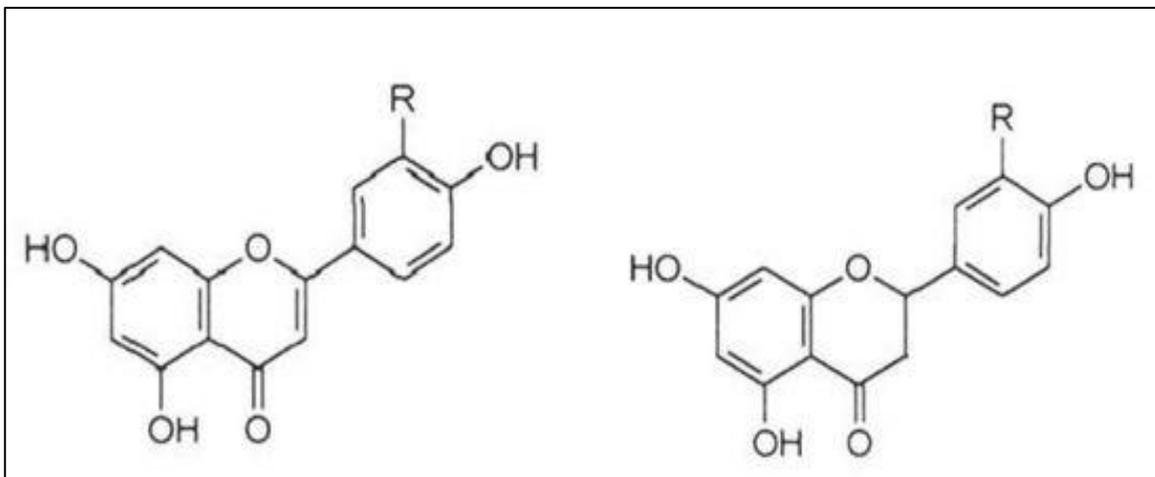
Figure 6 : Structure de base des flavonoïdes (Pyrzynska et Biesaga, 2009).

Il existe de nombreux types de structures différentes :



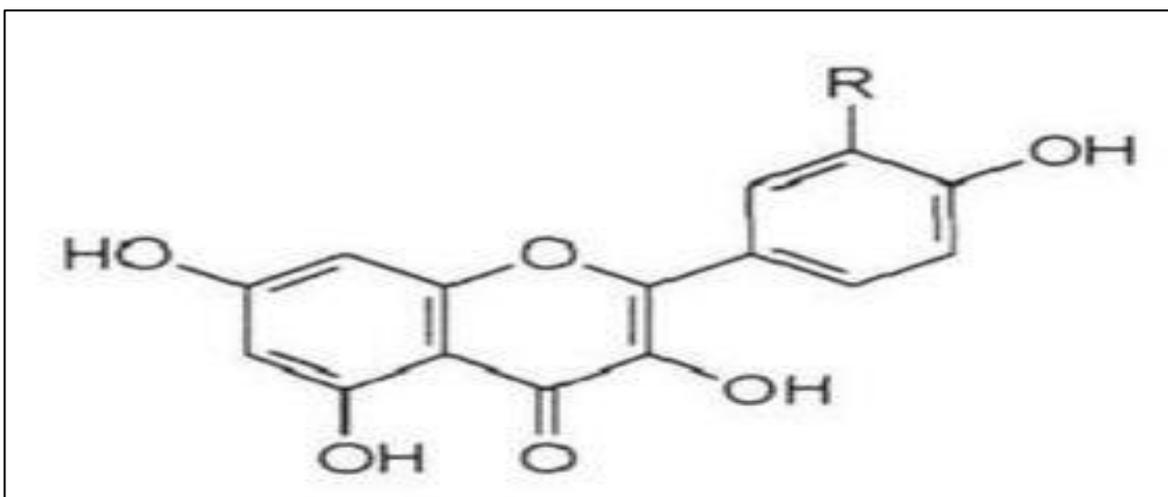
Isoflavone

Anthocyanidins



Flafones

Flafanones



Flavonols

Figure 7 : Les déférentes structures de flavonoïdes (Pyrzynska et Biesaga, 2009).

I.2.2.1.3. Les coumarines

Les coumarines sont des composés naturels présents dans les plantes leur structure de base (c6-c3) dérivant des acides ortho-hydro cinnamiques (Collin et Crouzet, 2011). Des extraits de plantes contenant de la coumarine ont été utilisés comme anticoagulants, antispasmodiques et sédatifs, Et se trouvent notamment dans les écorces d'agrumes (Mpondo et al., 2015).

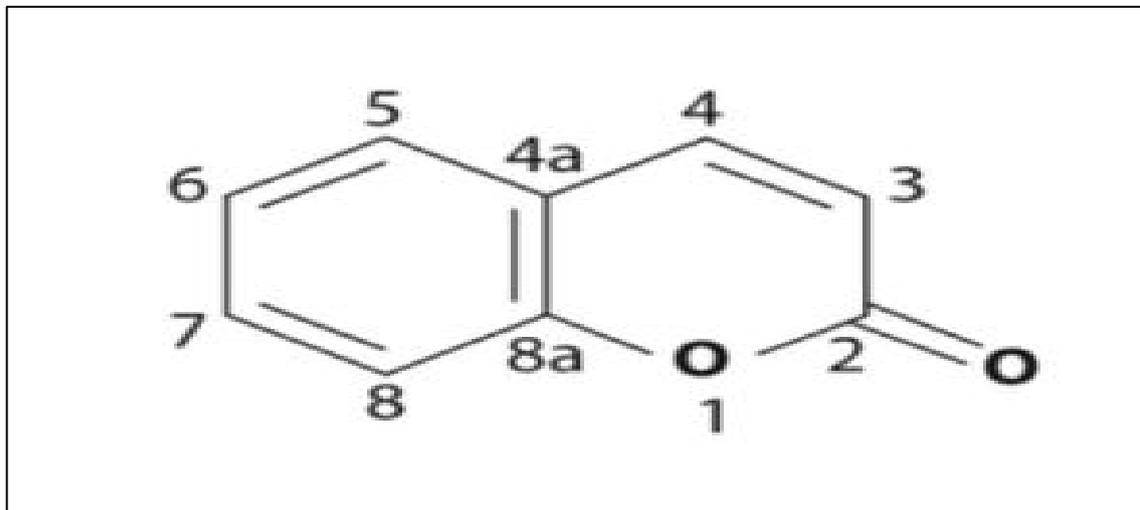


Figure 8 : Structure de base des coumarines (Waksmundzka-Hajnos et Sherma, 2010).

I.2.2.1.4. Les tanins

Ce sont des composés polyphénoliques solubles qui ont des propriétés antioxydants et antiseptiques et sont utilisés dans la fabrication du vin, que l'on trouve en abondance dans les raisins rouges (Académie et Spiritueux, 2022).

Selon leur composition chimique, on peut les classer en deux groupes :

- **tanins hydrolysables** : sont des polymères de l'acide gallique (Girard et al., 2020). est extrait principalement du chêne à galle (Orecchioni et Gazengel, 2013).
- **tanins catéchiques** : sont des polymères d'unités flavan-3-ol de type 2-r, 3-5 (+)-catéchol, 2-r, 3-r (-)-épi catéchol (Girard et al. 2020). Il est l'extrait de l'écorce de pin maritime (Orecchioni et Gazengel, 2013).

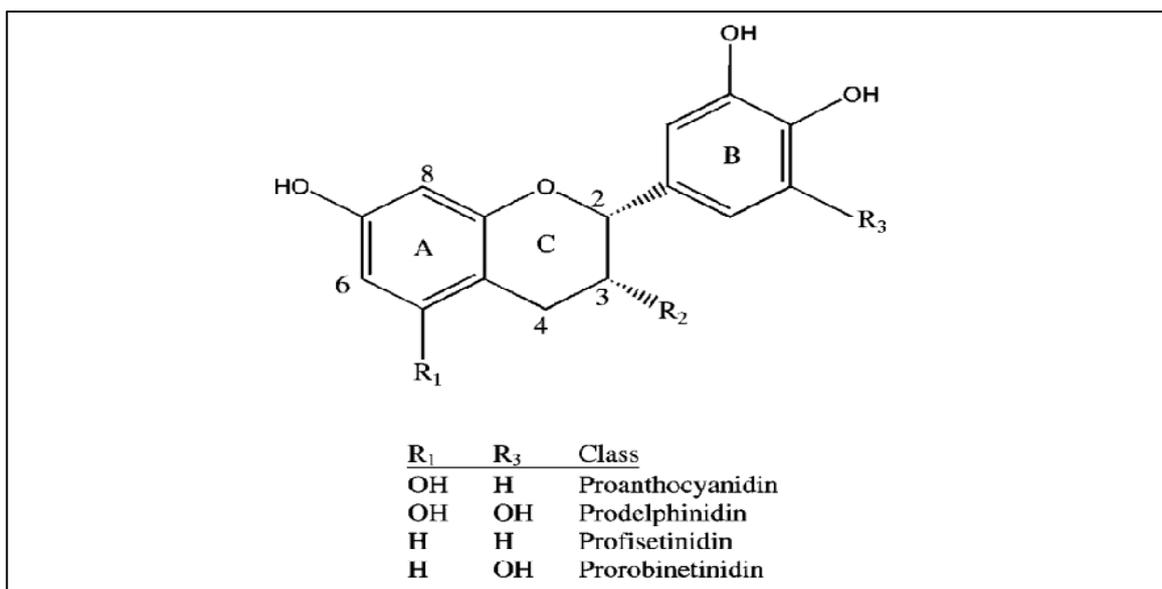


Figure 9 : structures de base du tanin (Schofield *et al.*, 2001).

I.2.2.1.5. Le mucilage

Le mucilage est un mélange de polysaccharides complexes formés de sucre et d'acides uroniques unités que l'on trouve couramment dans divers organes de nombreuses espèces végétales supérieures. Il a une multitude de fonctions physiologiques chez les plantes (Kolhe *et al.*, 2014).

Ces composés sont insolubles dans l'alcool mais dissoudre ou gonfler dans l'eau. Ils sont généralement formés à partir de la paroi cellulaire (Edmond Ghanem *et al.*, 2010).

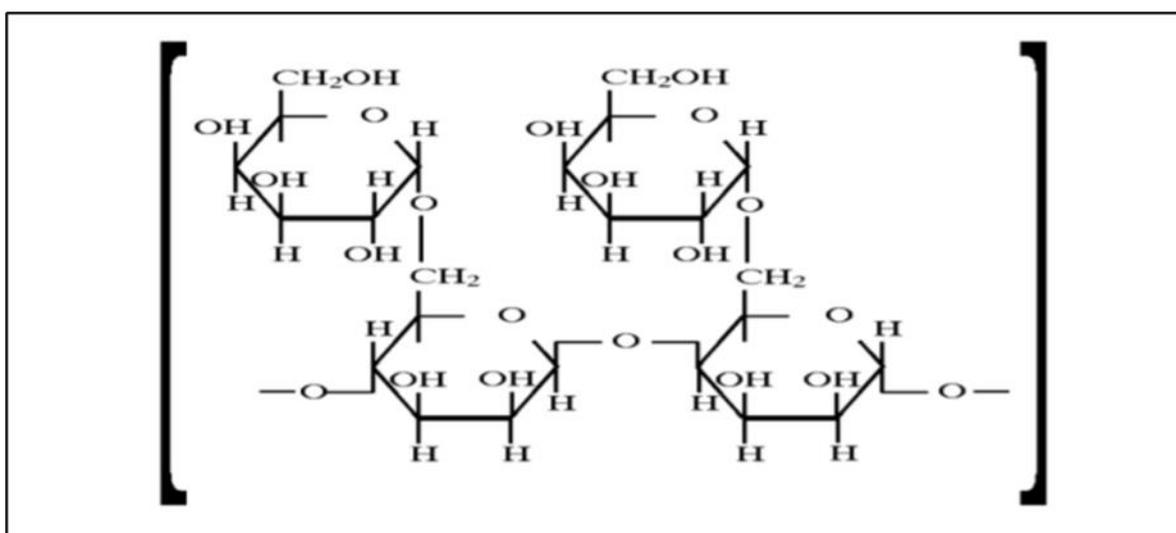


Figure 10 : structure chimique du mucilage (Dvipul *et al.*, 2013).

I.2.2.2. Les alcaloïdes

Ce sont des métabolites secondaires des plantes avec une très grande diversité chimique (12 000 identifiés). On les trouve en abondance dans les angiospermes. Ils contiennent de l'azote dans leur molécule et présentent généralement une réaction alcaline d'où leur nom.

Les alcaloïdes sont des molécules aux structures chimiques très complexes, Ils sont utilisés dans l'industrie pharmaceutique et sont souvent toxiques, Certains alcaloïdes contiennent des noyaux hétérocycliques déjà rencontrés dans des composés fondamentaux, Leurs précurseurs sont dans la majorité des cas des acides aminés qui apportent les atomes d'azote (**Heller et al., 2004**).

On distingue généralement :

- **Les alcaloïdes vrais** : azote inclus dans un hétérocycle, ce groupe représente la majorité des alcaloïdes.
- **Les proto-alcaloïdes** : ils ne n'ont pas d'azote intra-cyclique, ils ont une structure proche des amines.
- **Les pseudo-alcaloïdes** : présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des Alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés (**Ghedjati, 2014**).

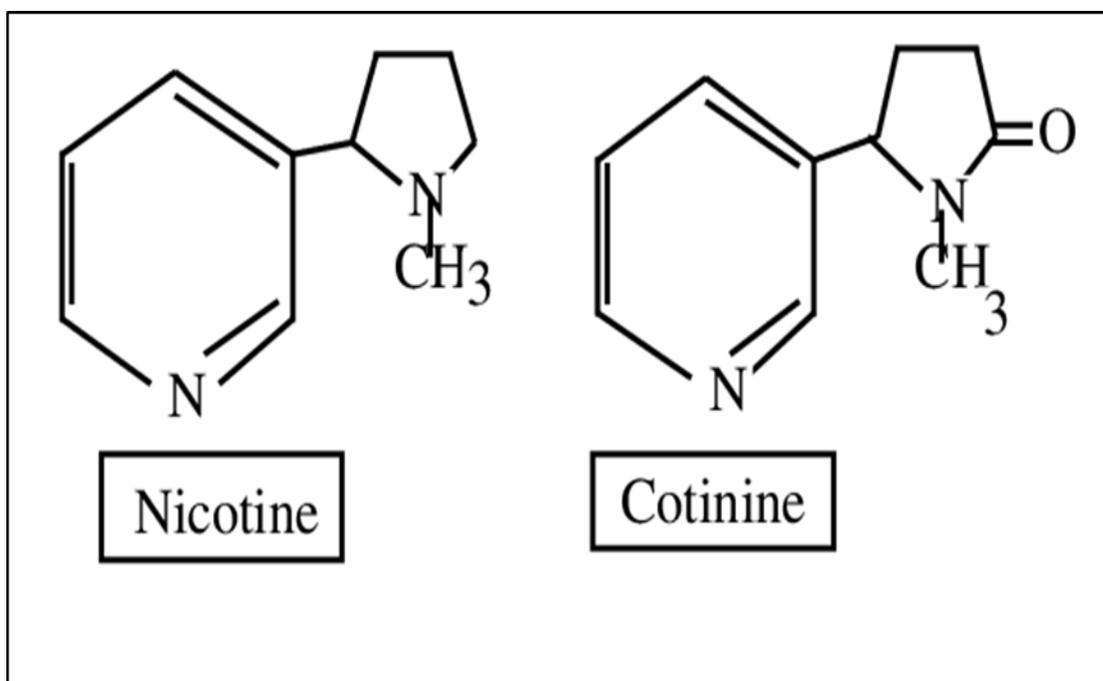


Figure 11 : Structures chimiques de quelques alcaloïdes (**Heller et al., 2004**).

I.2.2.3. Les terpènes et les stérols

- **Les terpènes :**

Les terpénoïdes ce sont des ensembles de substances présentant le squelette terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, cétone, aldéhyde, acide, lactone, etc.) (Malecky, 2008). Les terpènes sont présents dans la plupart des plantes. Ce sont des hydrocarbures cycliques insaturés correspondant à la formule chimique $C_{10}H_{16}$. Ses principaux constituants sont α -pinène, β -pinène et dipentène (Blayo, 2022).

Ce sont les principaux constituants des inclusions huileuses présentes dans certains tissus sécréteurs. Ces huiles, légères et réfringentes, sont souvent volatiles (René, 2011), la plupart des huiles essentielles qui donnent l'odeur ou le goût des plantes (Rufatto et al, 2017).

La famille des terpénoïdes comprend également de nombreux autres composés. Par exemple le phytol (constituant de la chlorophylle), ou encore la vitamine A, sont des terpènes (en C_{20}) Ainsi que l'acide abscissique (en C_5) (Heller et al., 2004).

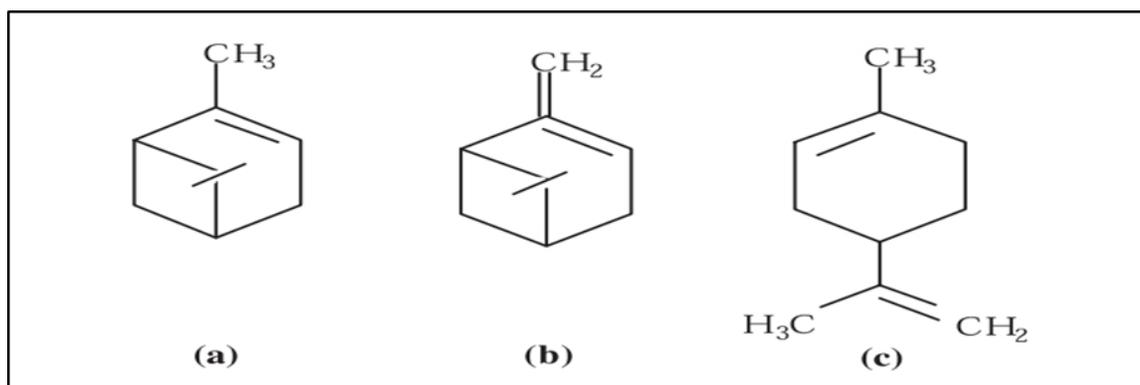


Figure 12 : Structure chimique des Terpènes : α -pinène (a), β -pinène (b) et dipentène (c) (Blayo, 2022).

- **Les stérols :**

Les stérols ce sont des composés tétracycliques comportant 27 à 29 atomes de carbone. Ils sont présents sous forme libre (80%) et estérifiée. Les stérols proviennent de la saponification des esters d'acides gras (Giuffrè et al, 2012).

Les stérols ce sont des alcools de triterpènes, dont le type est le scalène, qui résulte de la condensation, en opposition, de deux farnésyldiphosphate (en C_{13}) (Heller et al., 2004).

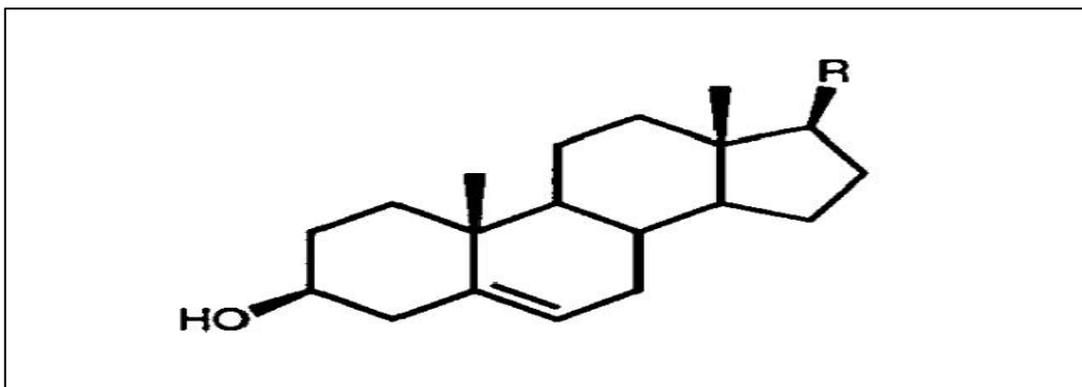


Figure 13 : Structure chimique des stérols (McMullen et al., 1995).

- Les saponosides :

Ce sont des terpènes glycosylés. Ils peuvent être des stéroïdes glycosylés, des stéroïdes, alcaloïdes glycosylés ou des hétérosides triterpéniques. Bien qu'ils ne sont pas toxiques, ils ont un goût amer et âcre qui provoque une irritation de gastriques après l'avoir mangé (Hopkins et Evard, 2003). Ce sont aussi des substances très lipophiles (Foury et patrat, 2015).

Les saponosides sont utilisés dans la fabrication de détergents et cela est dû à leurs propriétés tensioactives qui leur confèrent le pouvoir de lipolyse (Martini, 2011).

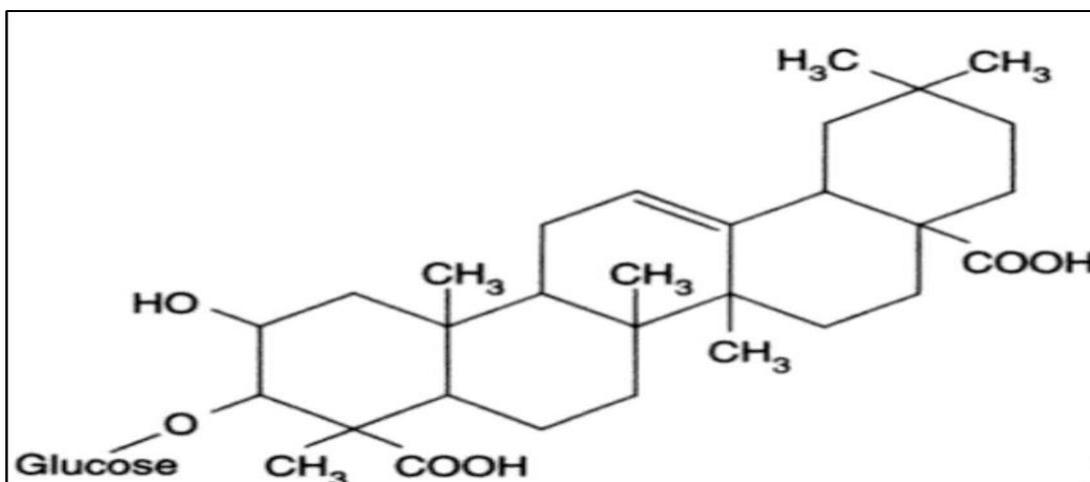


Figure 14 : Structure de base des saponosides (Hopkins et Evrard, 2003).

I.3. Les activités biologiques

I.3.1. L'activité antioxydante

Les composés antioxydants sont principalement des composés phénoliques typiques qui possèdent des acides phénoliques et des flavonoïdes. Les acides phénoliques, compris l'acide caféique, l'acide vanillique et l'acide férulique, sont largement distribués dans le règne végétal et ont été à plusieurs reprises impliqués comme antioxydants naturels (Spiridon et al., 2011). Les composés phénoliques présents dans les plantes médicinales sont très importants car ils

provoquent diverses activités, telles que l'activité antioxydant qui est importante pour lutter contre le stress oxydatif (**Jara et al., 2013**).

Pour étudier l'activité antioxydant de ces substances in vitro est leur capacité de piégeage des radicaux libres; les échantillons sont mélangés avec des radicaux stables, et le taux de dégradation radicalaire est mesurée, par spectrophotométrie, Ces méthodes reflètent l'action protectrice possible de la plante (**Zillich et al., 2015**).

I.3.1.1. Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des substances produites par le métabolisme cellulaire et qui peuvent être toxiques pour les tissus biologiques et source de lésions de l'ADN, des membranes cellulaires, des protéines, des lipides (**Desport et Couratier, 2002**).

Les radicaux libres est un atome ou une molécule qui porte un ou plusieurs électrons non appariés est capable de présenter indépendamment. Des exemples de radicaux libres sont les radicaux libres hydroxyles, sans superoxydeanion radicalaire, peroxyde lipidique, alcoyle lipidique (**Ondua et al., 2019**).

I.3.1.2. Les antioxydants

Ce sont des substances capables d'empêcher ou de ralentir l'oxydation d'autres molécules. Ils agissent de plusieurs manières. Directement ou indirectement, au sein de la structure d'enzymes et/ou de cofacteurs d'enzymes antioxydants (**Mezouar et al., 2014**).

Ces composés sont très importants pour protéger le corps humain contre les dommages causés par les espèces d'oxygène réactives. De nombreux extraits de plantes et produits végétaux ont montré une activité antioxydant significative et pour cette raison des produits et des médicaments récemment naturels comme des agents antioxydants ont reçu beaucoup d'attention et des médicaments à base de plantes ont été améliorés comme solution alternative aux problèmes de santé et aux coûts des produits pharmaceutiques (**Çoban et al., 2011**).

I.3.1.3. Les Types des antioxydants

- **Les antioxydants endogènes :**

Les radicaux libres sont des molécules qui ont un électron non double dans leur orbitale externe et une production accrue de radicaux conduit à ce que l'on appelle le stress oxydatif (**Haleng, 2007**). Pour se protéger contre ce stress, les cellules produisent des molécules appelées antioxydants endogènes. Et dans de nombreux cas, ce sont des enzymes (**powers et jackson, 2008**).

- **Les antioxydants exogènes :**

Ils sont obtenus de l'extérieur du corps, c'est-à-dire de la nourriture. La plupart des fruits et légumes contiennent une variété d'antioxydants.

Les antioxydants exogènes aident également à protéger les cellules contre les radicaux libres (Traber et Stevens, 2011). Et souvent, ce sont de la vitamine E et C et des composés phénoliques (Libbey, 2018).

I.3.2. L'activité antibactérienne

Les microorganismes sont à l'origine de l'apparition d'infections bactériennes, ils sont également à l'origine des maladies les plus mortelles et des épidémies les plus répandues. C'est pourquoi des antibiotiques ont été découverts et fabriqués, qui est une substance antibactérienne produite par des microorganismes, qui empêche la multiplication des bactéries ou les détruit (Ben Abdallah et al., 2019).

I.3.2.1. Définition des bactéries

Les bactéries sont des microorganismes unicellulaires. Ce sont les plus simples et les plus abondants au monde, sans noyau et sans organites complexes. La taille d'une bactérie est inférieure à 10 μm . On l'observe au microscope électronique pour l'étudier. Ces microorganismes sont classés selon leur forme et leur importance; Les formes en bacilles, en spirale et sphérique (cocci). Ils sont également classés selon leur morphologie; Gram positif ou Gram négatif. Ses composants les plus importants sont: capsule peptidoglycane, membrane cytoplasmique, flagelles, pili et les produits sécrétés (Mohamad et al., 2014).

Les bactéries évoluent et se multiplient en présence de conditions qui leur conviennent (Hallmann et al., 1997).

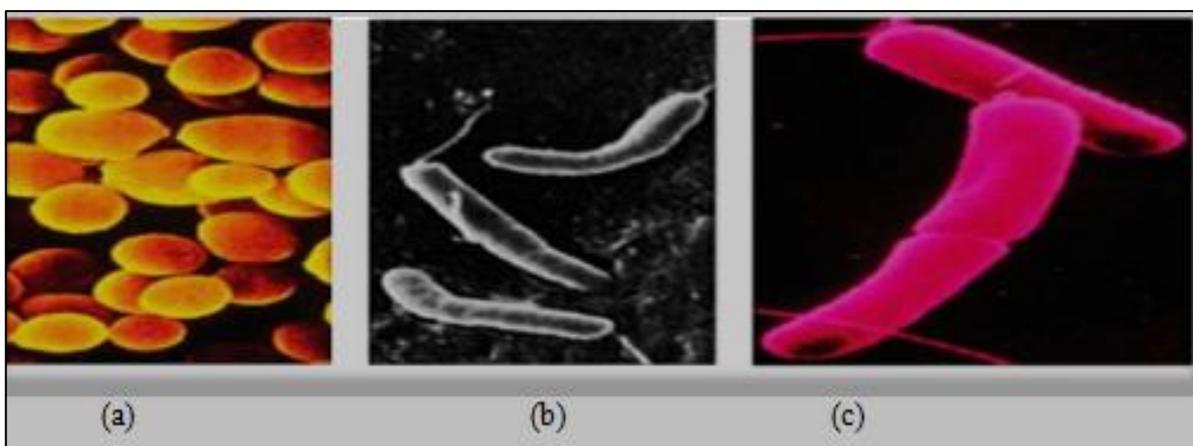


Figure 15 : Trois classes de bactéries (a) Cocci (b) Vibrio (c) Bacilles (Mohamad et al., 2014).

I.3.2.2. Les souches bactériennes testées :

- *Bacillus spizizenii* :

Bacillus est un genre de bactéries Gram positifs sous la forme d'un bar. Ce sont des bactéries anaérobies et aérobies (Turnbull, 1996).

- *Escherichia coli* :

Elle est un microorganisme unicellulaire sous la forme d'un bacille à Gram négatif. C'est l'un des microorganismes les plus étudiés, se trouvent naturellement dans les intestins des animaux et sont généralement inoffensifs (Makvana, 2015).

- *Pseudomonas aeruginosa* :

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

- *Staphylococcus aureus* :

Bactérie Gram positive Staphylococcus, provoquant une variété de maladies par un groupe purulent ou pyogène qui provoque des infections (Devlyne et al., 2018).

Ses symptômes peuvent être décrits comme une infection chronique qui endommage la peau et d'autres (Götz, 2002).

I.3.3. L'activité antifongique

I.3.3.1. Définition de champignon

Ce sont des microorganismes eucaryotes hétérotrophes appartenant au règne végétal et les champignons comptent plus de 1,5 million d'espèces. La plupart d'entre eux vivent aux dépens des organismes végétaux et animaux et jouent un rôle important dans l'environnement en les aidant à décomposer la matière organique et à fabriquer des antibiotiques, mais certains d'entre eux sont toxiques (Ripert, 2013).

I.3.3.2. Les types de champignons

I.3.3.2.1. 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**).

I.3.3.2.2. Aspergillus niger

C'est un champignon filamenteux et est considéré comme l'une des espèces les plus répandues et se présente sous la forme d'une moisissure noire. Présente sur les fruits et légumes, aucune forme sexuelle n'est connue (**Champion, 1997**).

I.3.3.2.3. Aspergillus brasiliensis

C'est un champignon diploïde à quatre ou cinq chromosomes de tailles différentes. Il subit une transformation complexe in vivo lorsqu'il est inhalé sur les poumons, où il se transforme en levure pathogène lorsque la température change, entraînant une modification de la composition de la paroi cellulaire provoquant des infections fongiques (**Borges-Walmsley et al., 2002**).

Partie II : Etude expérimentale

I. Matériel et méthodes

• Objectif de notre travail

Notre étude expérimentale est menée au niveau des laboratoires pédagogiques du Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf- Mila. Le but de notre travail est d'étudier les caractéristiques phytochimiques des deux plantes : *Bunium mauritanicum* L. et *Malva silvestris* L., et leur activités biologiques (activité antioxydante et activités antimicrobiennes).

I.1. Matériel

I.1.1. Matériel végétal

Nous avons utilisé les feuilles de *Malva silvestris* L. que nous l'avons ramené d'un jardin familial, c'est une plante commune et facile à trouver. Nous avons aussi utilisé les tubercules de la plante *Bunium mauritanicum* L., qui sont achetés chez un herboriste de la wilaya de Mila au Nord-Est Algérien, et d'après ce dernier, on les trouve dans les champs.

I.1.2. Les souches bactériennes testées

Dans notre étude, nous avons utilisé quatre souches bactériennes :

- ✓ deux bactéries à gram positif : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus spizizenii*.
- ✓ deux bactéries à gram négatif : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*.

I.1.3. Les champignons testés

Dans notre étude, nous avons utilisé trois souches de champignons:

Aspergillus niger, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus brasiliensis*.

I.2. Méthodes de travail

I.2.1. Préparation des extraits végétaux

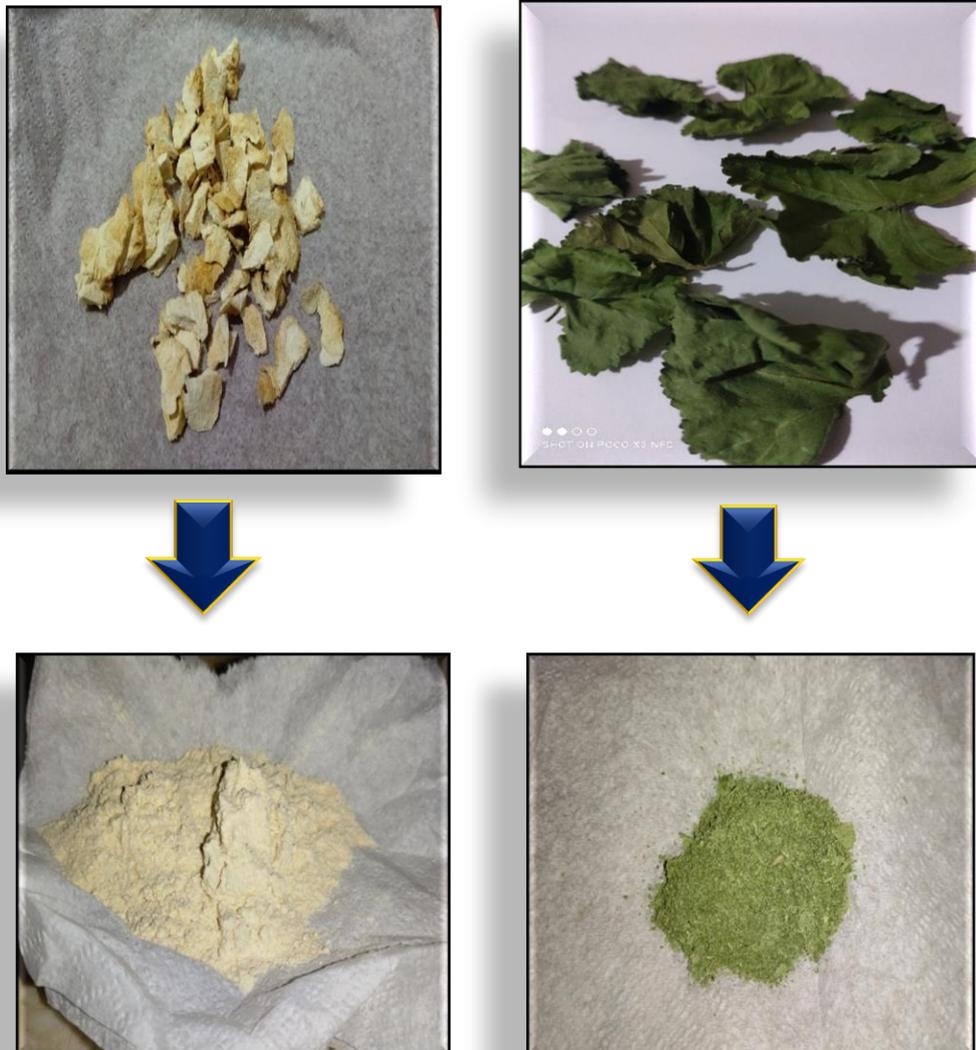
Pour extraire des composés biochimiques à partir des feuilles de *Malva silvestris* L., et des tubercules de de *Bunium mauritanicum* L., nous avons suivi les étapes suivantes :

• Séchage :

Après avoir collecté les échantillons à étudier et après leur nettoyage de toutes les impuretés, nous les avons placés à une température ambiante à l'obscurité et de l'humidité pour assurer un bon séchage.

- **Broyage :**

Après le séchage, nos échantillons sont broyés en utilisant un broyeur électrique afin d'obtenir une poudre. Cette dernière sera stockée jusqu'à utilisation.



Bunium mauritanicum L.

Malva silvestris L.

Figure 16 : Séchage et Broyage des plantes étudiées (**Photo personnelle, 2023**).

I.2.2. Préparation des extraits

I.2.2.1. Principe

L'extracteur Soxhlet est un appareil en verre qui permet d'effectuer un processus d'extraction solide-liquide avec des solvants d'espèces chimiques contenues dans une matrice solide. Cette méthode est basée sur un système en circuit fermé et elle est adaptée à l'évaporation et à la condensation du solvant et lui permet ainsi de démarrer un nouveau cycle d'évaporation-

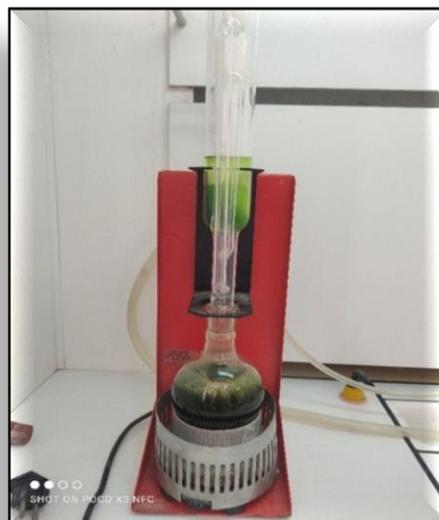
condensation, elle est bien meilleure par rapport à la méthode traditionnelle car elle permet de réduire le temps d'extraction (castro et al., 2010).

I.2.2.2. Mode opératoire

La poudre de chaque partie de la plante (15g) est introduite dans la cartouche en papier-filtre épais (poreuse), placée dans le Soxhlet surmonté d'un réfrigérant. L'avantage de ce type d'extraction est, que le solvant condensé, s'accumule dans un réservoir à siphon, ce qui augmente la durée de contact entre le solvant et le produit à extraire. Quand le solvant atteint un certain niveau, il amorce le siphon et retourne dans le ballon en entraînant la substance dissoute. En premier lieu, verser environ 350 ml de solvant organique spécifique (méthanol) et 150ml d'eau distillée dans le ballon et porter à ébullition. Après une douzaine de siphonages, et de cycles, le solvant hydro-méthanolique s'enrichit en substances bioactives extraites jusqu'à épuisement de l'échantillon en molécules d'intérêt. Cette opération est faite à reflux pendant 3 à 5 heures.



B.m



M.s

Figure 17 : Extraction par soxhlet des plantes étudiées (B.m : *Bunium mauritanicum* L. M.s : *Malva silvestris* L.) (Photo personnelle, 2023).

Par la suite, un transvasement de l'extrait dans un ballon est effectué, afin, d'éliminer le solvant à l'aide d'un évaporateur rotatif muni d'une pompe a vide et ce à une température de 65°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.

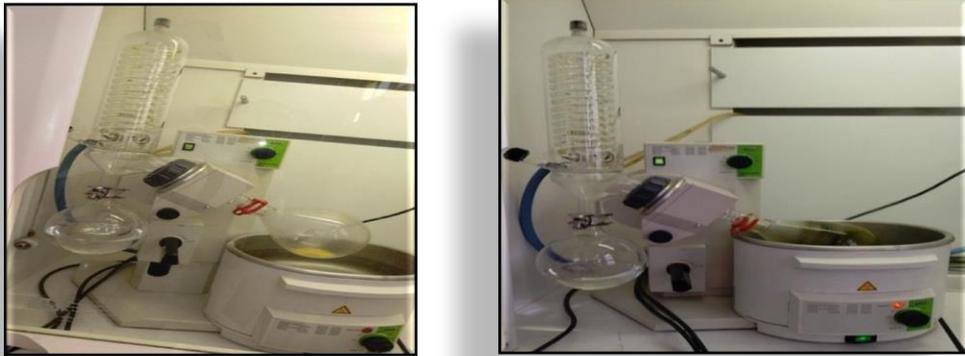


Figure 18 : Evaporation des échantillons à 60°C (Photo personnelle, 2023).

Après l'avoir retiré d'évaporateur rotatif, nous le mettons dans l'étuve pour sécher l'extrait complètement à une température de 50°. Ainsi, le résidu sec obtenu, est conservé à une température de (4°C à 6°C) pour protéger ses caractéristiques physicochimiques (Ganzler et Salgo, 1987).



B.m

M.s

Figure 19 : Séchage dans l'étuve à température 30° C (B.m : *Bunium mauritanicum* L. M.s : *Malva silvestris* L.) (Photo personnelle, 2023).

I.2.3. Etude phytochimique

I.2.3.1. Screening phytochimique

Le screening phytochimique représente l'ensemble des techniques qualitatives qui permettent d'identifier les différents groupes chimiques présents dans un organe végétal. Ce sont des réactions physiques et chimiques qui permettent de déterminer la présence de produits chimiques. Les groupes phytochimiques sont nombreux et variés, mais les principaux sont les macro-polyphénols comprenant des flavonoïdes, des anthocyanes, des tanins et des coumarines, les alcaloïdes, les saponosides, les stéroïdes, les stérols, les terpènes...etc. (**Lendvai et al., 2002**).

I.2.3.1.1. Phytochimie qualitative

➤ **Test des tanins :**

La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant à 2 ml de l'extrait méthanolique, 1 à 2 gouttes de solution de chlorure ferrique (FeCl₃) diluée à 0,1%. L'apparition d'une coloration vert foncée indique la présence de tanins cathéchiques ou bleu-vert indique la présence des tanins galliques (**Harborne, 1998**).

➤ **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 chaque extrait. L'apparition d'un précipité blanc jaune indique la présence des alcaloïdes (**Benzahi et Chaouch, 2001**).

➤ **Test des saponosides :**

Test 1 : 5 ml de la solution à tester sont bien mélangés avec 10 ml d'eau distillée pendant 2 mn. La formation d'une mousse persistante après 15 mn confirme la présence des saponosides (**Karumi et al., 2004**).

➤ **Test des flavonoïdes :**

Traiter 5 ml de chaque extrait avec quelques gouttes de HCl concentré. Ajouter une quantité de tournures de magnésium (Laisser agir). La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition d'une couleur rouge ou orange (**Karumi et al., 2004**).

➤ **Test des glycosides cardiaques :**

2 ml de chaque extrait a été dissous avec 2 ml de chloroforme et d'acide sulfurique concentré a été ajoutée avec précaution pour former une couche rougeâtre foncée de couleur

brun à l'interface de l'anneau stéroïde indique la présence de glycosides cardiaques (**Harbarne, 1973**).

➤ **Test des coumarines :**

Faire bouillir à reflux 2 g de poudre dans 20 ml d'alcool éthylique on le fait bouillir pendant 15 mn puis filtrer après refroidissement. A 5 ml du filtrat rajouter 10 gouttes de la solution alcoolique de KOH à 10% et quelques gouttes d'HCl à 10 %.

➤ **Test d'amidon :**

Traiter l'extrait aqueux avec le réactif d'amidon. L'apparition d'une coloration bleue violacée indique la présence d'amidon.

Réactif d'amidon : 1,2 g d'I₂ et 2,5 g de KI solubilisés dans 500 ml d'eau distillée. Le test est positif par l'apparition d'une coloration rouge orangée (**Benmehdi, 2000**).

➤ **Test des mucilages :**

Mélanger 1 ml d'extrait aqueux et 5 ml d'alcool absolu. Un test positif est révélé par l'apparition d'un précipité floconneux (**Karumi et al., 2004**).

➤ **Test des acides aminés :**

Ce test est basé sur la réaction des acides aminés avec la ninhydrine. A 1ml de la solution à tester (solubilisée dans l'eau distillée) ajouter 1ml de solution de ninhydrine préparée dans l'acétone (ou éthanol) dont la concentration est de 1%. Chauffer dans le bain marie et observer le changement de couleur. La présence des aminoacides est confirmée par l'apparition d'une couleur violette (**Harbonne, 1998**).

➤ **Les stérols et les tri-terpènes :**

Introduire dans un tube à essais 1g de poudre et 20ml d'éther. Boucher, agiter et laisser en contact pendant 24 heures. Après ce temps, filtrer et compléter à 20ml avec de l'éther.

La réaction de Liebermann-Buchard consiste à évaporer à sec dans une capsule 10ml d'extrait. Dissoudre le résidu dans 1ml d'anhydride acétique avec 1ml de chloroforme et recueillir la solution dans un tube à essais. Ajouter 1 à 2ml d'acide sulfurique concentré au fond du tube à essais à l'aide d'une pipette et ne pas agiter. La formation d'un anneau rouge-brunâtre ou violet à la zone de contact des deux liquides et la coloration verte ou violette de la couche surnageante révèlent la présence de stérols et de triterpènes (**Mouellet, 2005**).

I.2.3.1.1.1. Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction (%) est calculé par la formule suivante :

$$R(\%) = M / M_0 \times 100$$

R (%) = Masse de l'extrait sec.

M₀: Masse en gramme du matériel.

M : Masse en gramme de l'extrait sec résultant (**Harborne, 1998**).

I.2.3.1.2. Etude quantitative

I.2.3.1.2.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des phénols dans les extraits de feuilles *Malva sylvestris* L. et tubercule de *Bunium mauritanicum* L. est effectué spectrophotométriquement selon la méthode suivant :

0.2 ml d'extrait est ajouté à 0.8 ml de la solution de Na₂CO₃ (75 mg/ml d'eau distillée), formé une solution jaune acide contenant un complexe polymérique d'ions (hétéro polyacides). Après agitation de 1ml de réactif de Folin Ciocalteu (dilué dix fois dans l'eau distillée) acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀) , Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols et formé un complexe bleu alcalin de tungstène et de molybdène, après 2 h d'incubation à la température du laboratoire, l'absorbance est lue à 765 nm contre un blanc sans extrait (**Daels-rakotoarison, 1990**).

I.2.3.1.2.2. Dosage des flavonoïdes :

La méthode du trichlorure d'aluminium (**Bahorun et al., 1996**) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les extraits. À 1 ml d'échantillon ou standard (préparés dans le méthanol) est ajouté 1 ml de la solution de trichlorure d'aluminium AlCl₃ (10 % dans l'eau distillé). Après 10 minutes de réaction. Une lecture de la densité optique à 430 nm est effectuée. La quercitine est utilisé comme standard pour préparer une gamme étalon dans la marge de concentration 0 - 10mg/ml.

I.2.3.1.2.3. Evaluation de l'activité antioxydante

I.2.3.1.2.3.1. Méthode de Di-Phenyl-Pieryl-Hydrazyl (DPPH)

La méthode au DPPH est réalisée en suivant les étapes ci-dessous :

- ✓ La préparation de la solution DPPH, une masse de 24mg de poudre de DPPH est solubilisée dans 100 ml méthanol. Cette solution est mise en agitation pendant 24h.

- ✓ Préparation de solvants 70% méthanol et 30% eau distillée.
- ✓ Différentes concentrations sont préparées dans des tubes. On prélève par micropipette différentes concentrations (Extraits Solvant DPPH), comme il est montré dans le tableau 3. Et après agitation, les tubes sont incubés à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 min.
- ✓ Pour chaque concentration le test est répété 2 fois.
- ✓ Le blanc est préparé en mélangeant 1ml d'méthanol avec 2 ml eau distillée et 1ml de la solution méthanolique de DPPH (**Koleva et al ., 2002**).

Tableau 3 : Différentes solutions préparées pour le test.

	Extrait (ml)	Solvant (ml)	DPPH(ml)
Solution 1	0,1	2,9	1
Solution 2	0,2	2,8	1
Solution 3	0,3	2,7	1
Solution 4	0,4	2,6	1
Solution 5	0,5	2,5	1
Solution 6	0,6	2,4	1

- ✓ La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc 517nm avec un Spectrophotomètre.

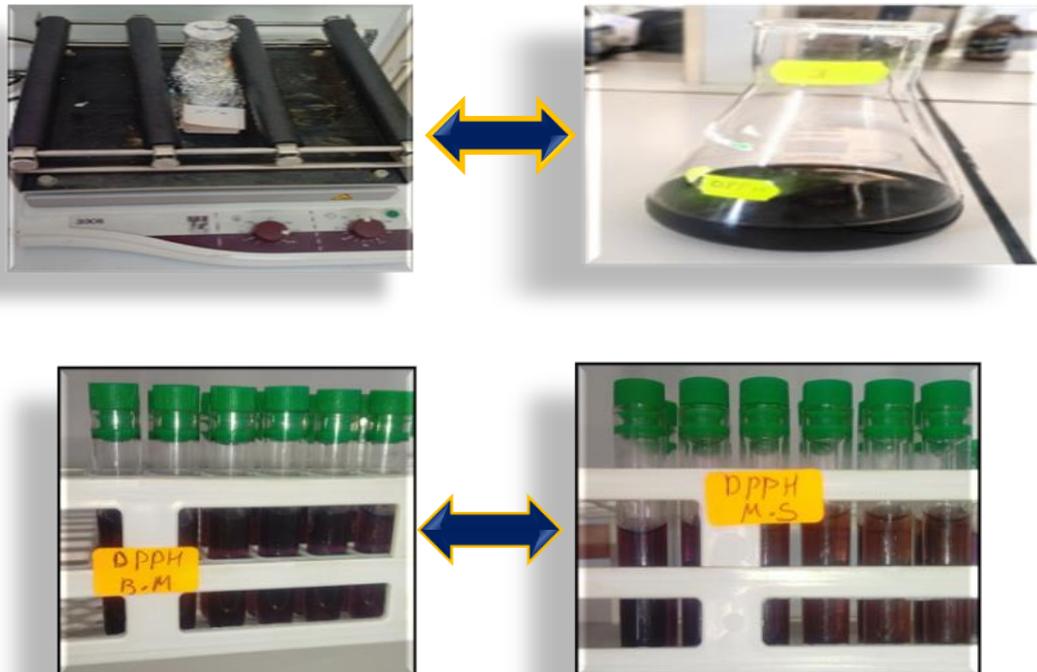


Figure 20 : préparation des différentes concentrations des DPPH (Photo personnelle, 2023).

I.2.3.1.2.3.2. Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique

Mode opératoire :

On pèse 24 mg de l'acide ascorbique qui sera diluée dans 100 ml du méthanol (solution mère). On prépare la solution mère de l'acide ascorbique, différentes concentrations des échantillons à tester sont préparées dans le méthanol comme le montre la figure suivante.

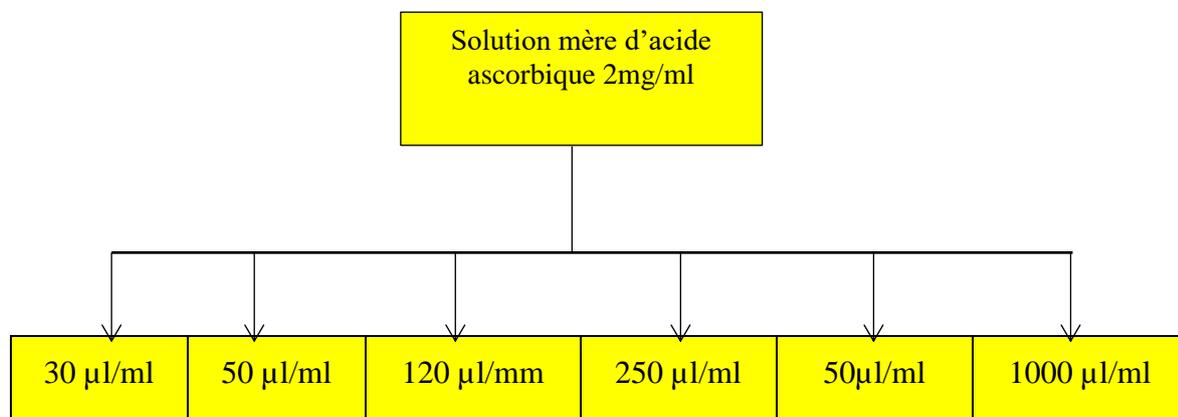


Figure 21 : dilution de la solution mère de l'acide ascorbique.

- ✓ On prend 50 µl de l'acide ascorbique de chaque concentration puis on ajoute 1950 µl de solution DPPH. Et chaque échantillon avec son blanc spécifique, dans le blanc on remplace le DPPH par le méthanol.
- ✓ L'échantillon: (50µl de l'acide ascorbique +1950µl a DPPH).
- ✓ Le blanc: 50µl de l'acide ascorbique+1950µl de Méthanol.

Les mélanges ont été conservés pendant 1heur à l'obscurité à température ambiante, et les absorbances sont mesurées à $\lambda=517$ nm avec un Spectrophotomètre (Haddouchi et al., 2014).



Figure 22 : préparation des différentes dilutions de l'acide ascorbique (Photo personnelle, 2023).

I.2.3.1.2.4. Évaluation de l'activité antibactérienne :

Les tests d'évaluation de l'activité antibactérienne sont réalisés au niveau du laboratoire de biologie du Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf-Mila.

Le principe de ce procédé repose sur la perfusion de la culture bactérienne sur un milieu de gélose nutritive, en présence de disques imbibés d'extraits végétaux. Si ces extraits ont une activité antibactérienne, on observera une zone d'inhibition autour du disque dont le diamètre est proportionnel à l'activité bactériostatique de l'extrait sur la souche testée.

I.2.3.1.2.4.1. Souches bactériennes testées

Les souches bactériennes que nous leur avons amenés du professeur Amari.S et Benserradj.O.

Pour ce test on a utilisé les souches bactériennes mentionné dans le tableau ci-dessous.

Tableau 4 : Les bactéries testées.

Bactéries	Gram	Code
<i>Bacillus spizizenii</i>	Positif	ATCC 6633
<i>Escherichia coli</i>	Négatif	ATCC 25922
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Négatif	ATCC 27853
<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif	ATCC 06538

I.2.3.1.2.4.2. Préparation des milieux

Selon **Bauer et al., (1966)**, La préparation des milieux s'effectue par les méthodes Suivantes :

➤ Préparation de milieu Mueller Hinton (MH) :

Le milieu MH est préparé pour le but du repiquage des souches bactériennes afin d'évaluation leur activité antibactérienne. Pour la préparation de la gélose Mueller Hinton, dans un erlenmeyer on introduit 38g de MH avec 1000ml d'eau distillée, le mélange obtenu semait sous agitation continue à une température élevé sur une plaque chauffante jusqu'à le bouillage, le milieu sera divisée dans des flacons en verre (Figure 23).

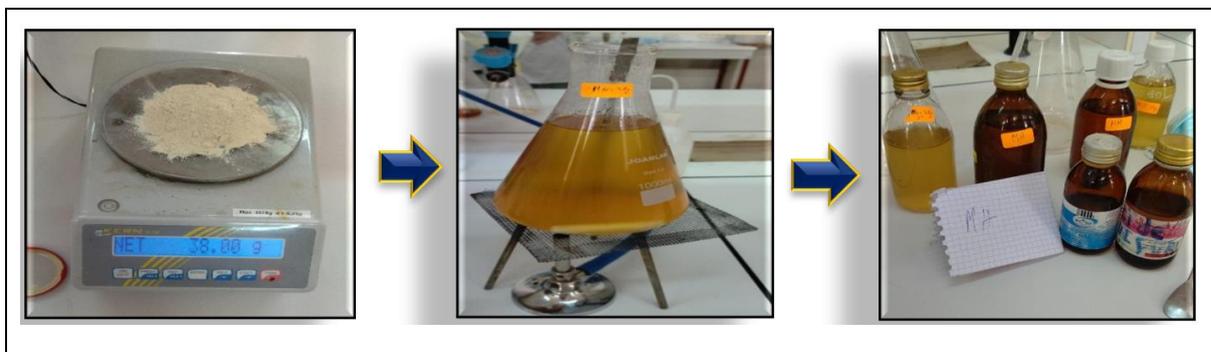


Figure 23 : Préparation de milieu Mueller Hinton (MH) (Photo personnelle, 2023).

➤ **Préparation du Bouillon Nutritif (BN) :**

Le bouillon nutritif est utilisé pour la vérification de la vitalité des bactéries et la réactivation et l'entretien des souches bactériennes. Par l'ajoute de 3,25g de BN à 250mL d'eau distillé sous agitation pendant quelques minutes jusqu'à dissolution complète, la solution sera divisée dans des tubes en verre à vesse (Figure24).

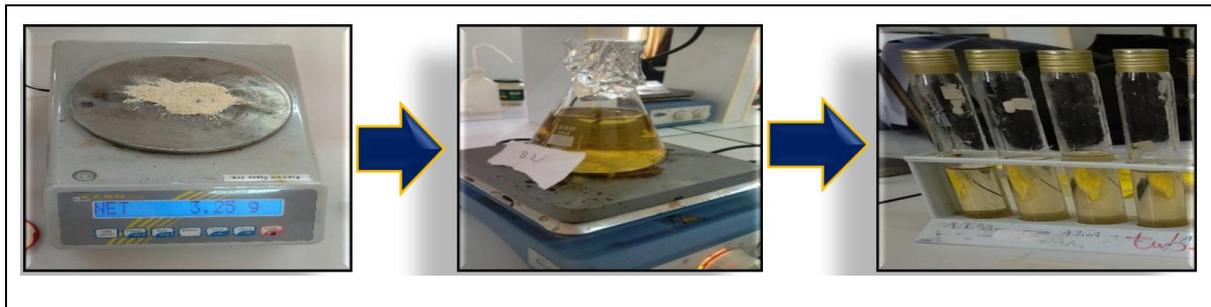


Figure 24 : Préparation du Bouillon Nutritif (BN) (Photo personnelle, 2023).

➤ **Préparation de l'eau physiologique :**

L'eau physiologique est préparée pour l'ensemencement des souches. Elle est réalisée par solubilisation de 0.9g de NaCl dans 100ml d'eau distillée avec agitation pendant quelques minutes et divisée dans des tubes en verre à vesse (Bauer et al., 1966) (Figure 25).

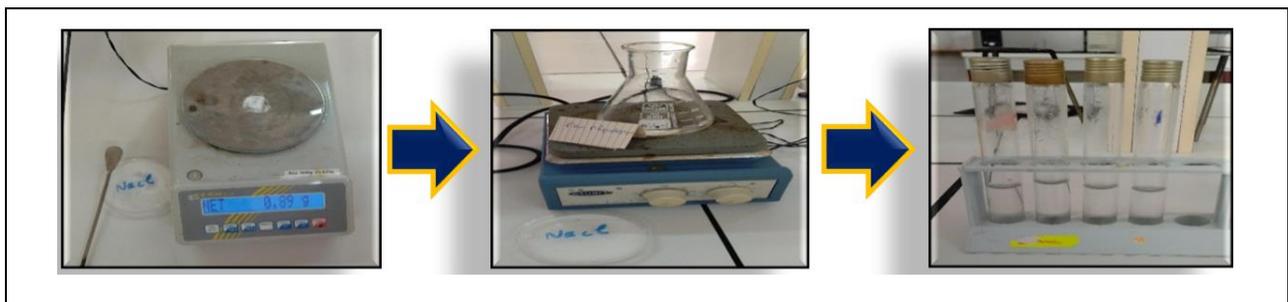


Figure 25 : Préparation de l'eau physiologique (Photo personnelle, 2023).

➤ **Préparation des disques d'aromatogramme :**

Une feuille de papier Wattman N°3 est coupée en disques de 6mm de diamètre. Ensuite ils sont mis dans un tube en verre à vesse, et stérilisés à l'autoclave et conservés jusqu'à l'utilisation (Figure 26).

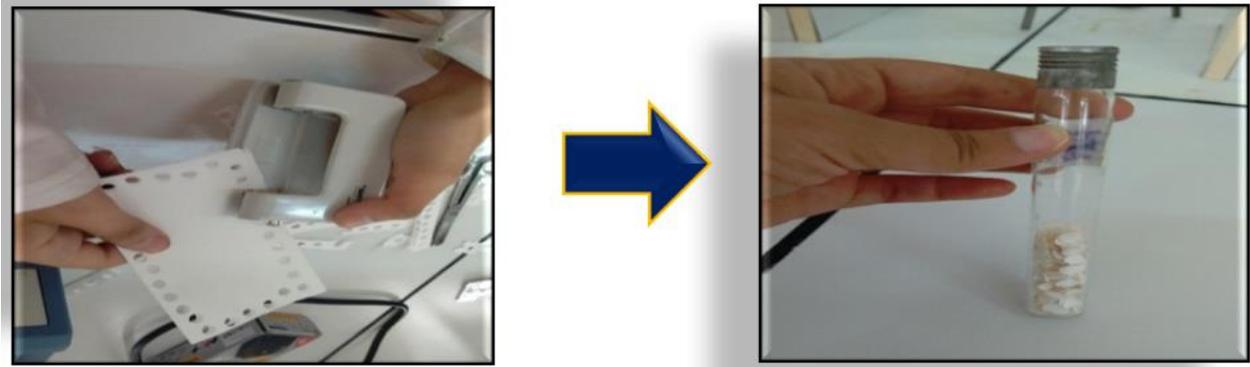


Figure 26 : Préparation des disques d'aromatogramme (Photo personnelle, 2023).

➤ **Stérilisation du matériel :**

Le milieu de culture MH, l'eau physiologie, BN, les tubes à vis, les disques préparés, (les embouts et enrobés dans du papier aluminium) sont stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 4 heure (Figure 27).

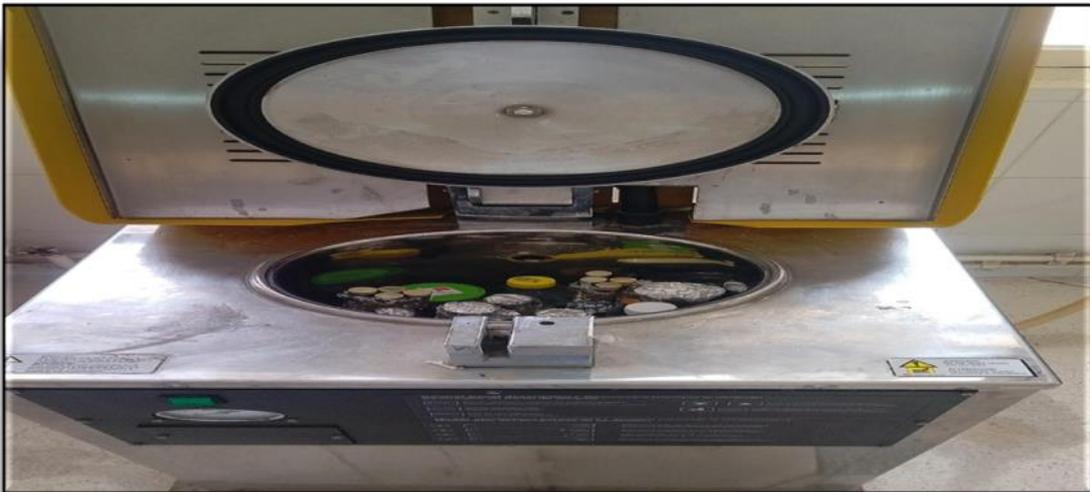


Figure 27 : Stérilisation du matériel (Photo personnelle, 2023).

➤ **Réactivation des souches bactériennes :**

Les souches bactériennes sont réactivées dans un Bouillon Nutritif et incubées à 37°C pendant 24h (Figure 28)

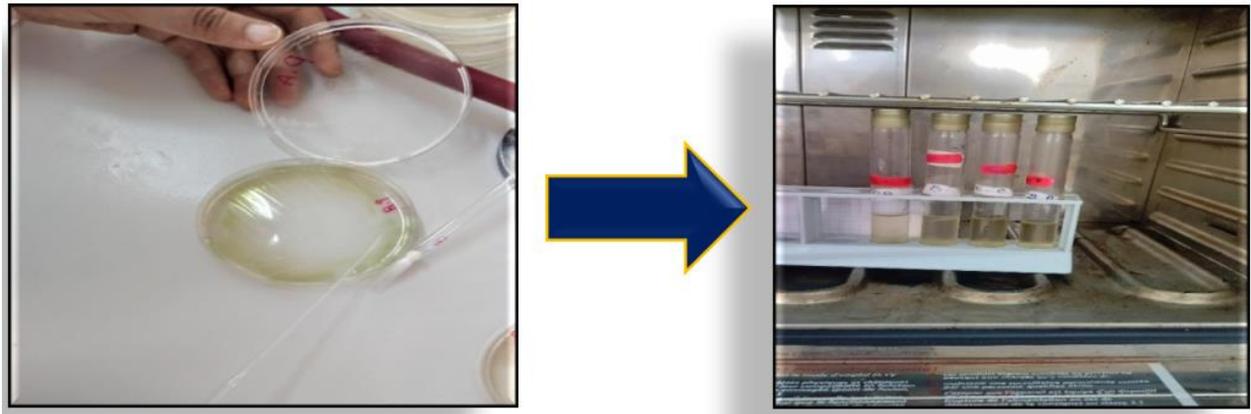


Figure 28 : Réactivation des souches bactériennes (Photo personnelle, 2023).

➤ **Repiquage des souches bactériennes :**

Pour obtenir une culture jeune et des colonies isolées de différentes souches, nous repiquons les cellules bactériennes dans la gélose nutritive en boîte de Pétri à l'aide d'un écouvillon, puis nous les incubons dans un étuve à 37 ° C pendant 24 heures (Figure 29).

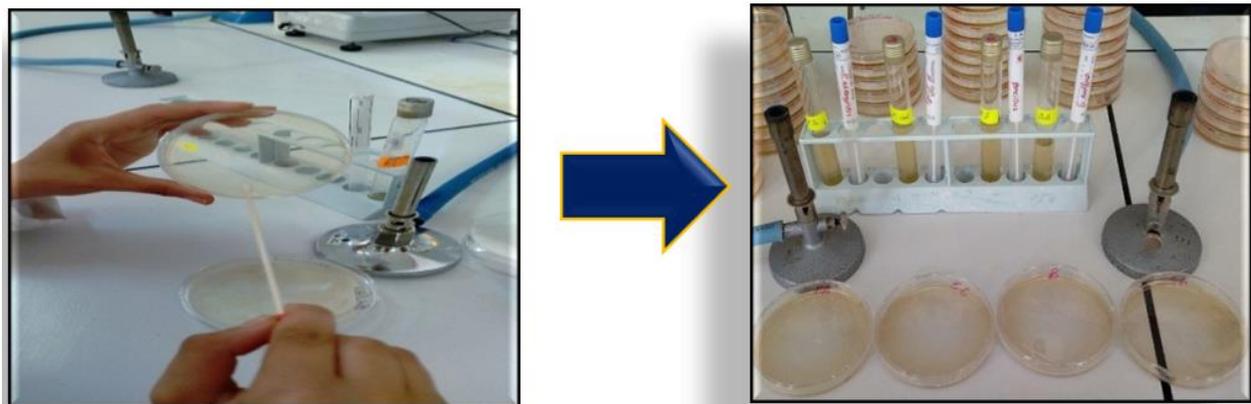


Figure 29 : Repiquage des souches bactériennes (Photo personnelle, 2023).

➤ **La dilution d'extraits :**

Les concentrations des extraits de *Bunium mauritanicum* L. et *Malva silvestris* L sont réalisées pour l'analyse selon les méthodes suivantes :

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

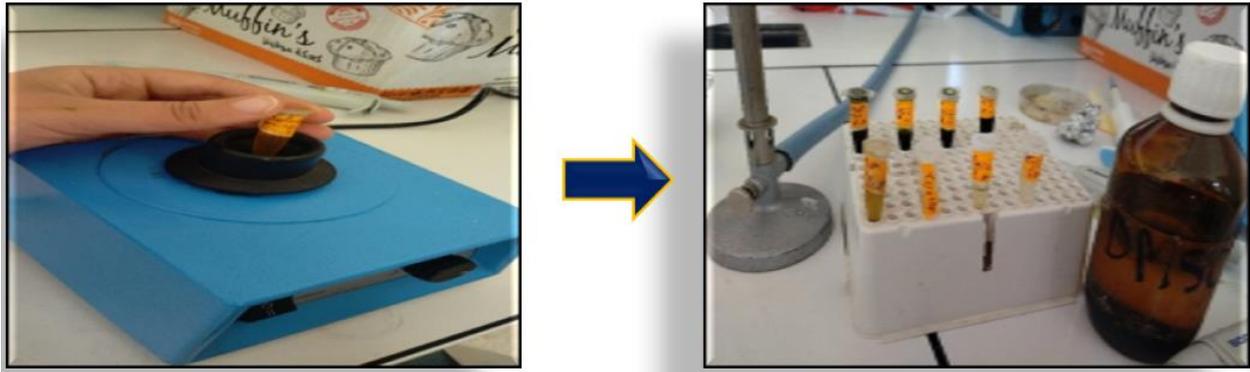


Figure 30 : Différentes concentrations des extraits (Photo personnelle, 2023).

➤ Préparation de l'inoculum bactérien :

- ✓ A l'aide d'une pipette pasteur, on prélève les colonies bactériennes isolées à tester et on les met dans un tube contenant 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%, puis on mélange à l'aide d'un vortex.
- ✓ Nous avons fait la lecture de la suspension bactérienne à une densité optique de (0.08 à 0.10), à la longueur d'onde 625nm.
- ✓ L'ensemencement doit se faire au moins en quelques minutes qui suivent la Préparation de l'inoculum (Younsi et *al.*, 2010) (Figure 31).

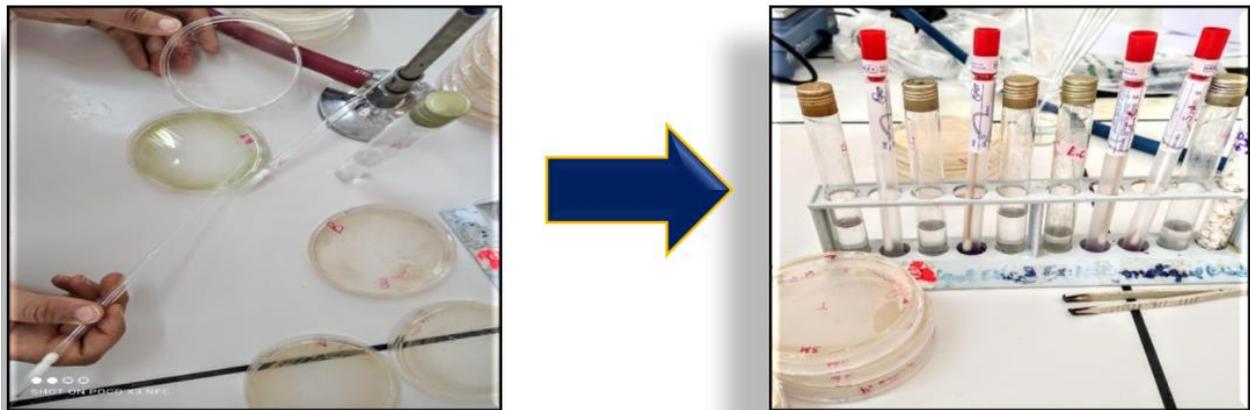


Figure 31 : Préparation de l'inoculum bactérien (Photo personnelle, 2023).

➤ 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.

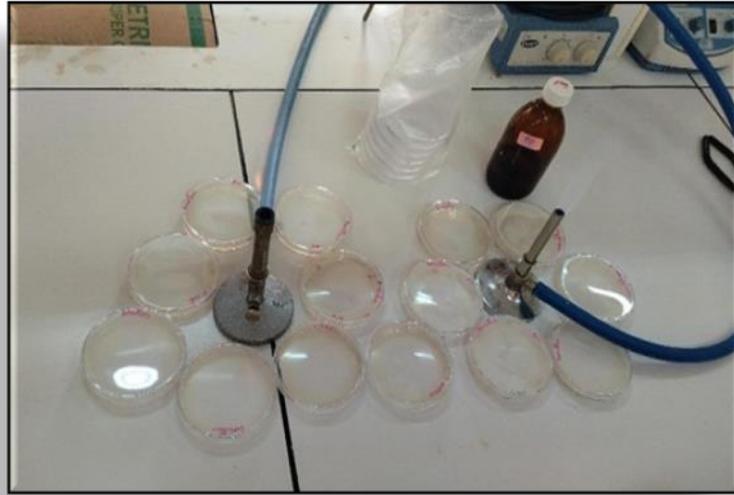


Figure 32 : Coulage de milieux de culture MH (Photo personnelle, 2023).

➤ **Ensemencement bactérienne :**

- ✓ Tout d'abord, trempez un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne. Essayez toute la surface de gélose sèche avec un écouvillon de haut en bas.
- ✓ Après avoir terminé la préparation et l'identification des boîtes de pétri, nous commençons à ensemencer les bactéries sur le milieu de culture stérile à l'aide d'un écouvillon
- ✓ Répéter l'opération trois fois en tournant la boîte de Pétrie de 60° à chaque fois.



Figure 33 : Ensemencement bactérienne (Photo personnelle, 2023).

➤ **Dépôt des disques et l'injection des extraits :**

- Après avoir stérilisé les disques de papier Whatman de 6 mm, nous prenons le disque avec une pince stérile dans un bec benzène à et le plaçons doucement sur la surface de la gélose MH ensemencées par Les souches testées (Figure).
- On a ajouté 10µl de chaque concentration des extraits méthanoliques (SM, C1, C2, C3) et le DMSO (T-) sur les disques à l'aide d'une micro pipette (Figure 34).

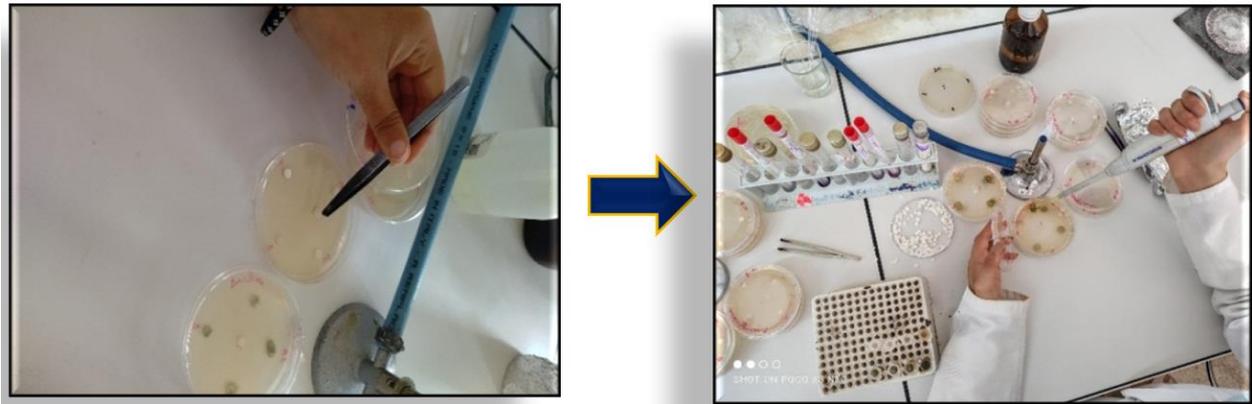


Figure 34 : Mettre des disques (A) et l'injection des extraits (B) (Photo personnelle, 2023).

- Dans une autre boîte de pétri, nous mettons deux disques, le premier disque d'antibiotique (Gentamicine) pour contrôle positif et l'autre de DMSO pour contrôle négatif.



Figure 35 : mettre des disques d'antibiotiques (Gentamicine) et DMSO (Photo personnelle, 2023).

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

➤ **Lecture :**

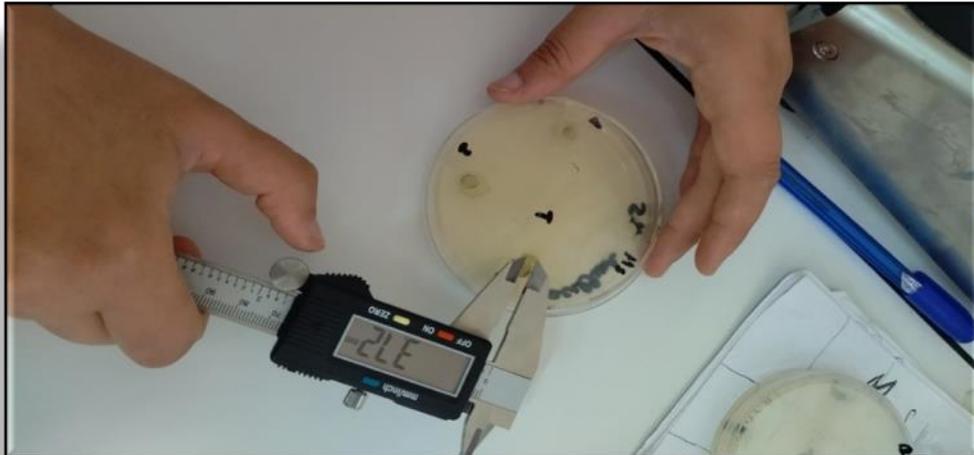


Figure 36 : Lecture des résultats (Photo personnelle, 2023).

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 transparente autour des extraits indique l'absence de croissance bactérienne. Plus le diamètre de cette zone est important, plus la souche est sensible.

I.2.3.1.2.5. Activité antifongique

Afin de tester l'activité antifongique et la sensibilité des microorganismes aux extraits de *Malva sylvestrie* L. et de *Bunium mauritanicum* L. nous utilisons les champignons mentionnés dans le tableau (5).

Tableau 5 : Les champignons testés.

les champignons	Code
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	ATCC 0392
<i>Aspergillus flavus</i>	Isolation
<i>Aspergillus niger</i>	Isolation

Nous avons utilisé la méthode de diffusion en milieu solide (Belhattab et al., 2004) et en précisant les diamètres des zones inhibitrices, (Derbré et al., 2013). Ce test est effectué selon les étapes suivantes :

➤ **Préparation du milieu de culture :**

Sabouraud Glucose Agar est un milieu partiellement complété, utilisé pour l'isolement et la culture de champignons, Il peut être préparé en plaçant 10 g de peptone, 20 g de glucose et 20 g d'Agar dans 1000 ml d'eau distillée et le mélange obtenu sous agitation continue à haute température est infusé sur une plaque chauffante jusqu'à ébullition, et le milieu sera divisé dans des flacons en verre (Desoubeaux et al., 2014).



Figure 37 : Préparation du milieu Sabouraud (Photo personnelle, 2023).

➤ **Protocole :**

Après avoir stérilisé tout le matériel on met dans un tube stérile un volume de bouillon nutritif et on ajoute une colonie de (*A. niger*, *A. brasiliensis*, *A. flavus*) puis on l'incube dans l'étuve à température 25C° pendant 48h, après l'incubation on met le milieu savoraud liquide dans la boîte pétri jusqu'à le volume 20 ml en ajoutant une goutte de solution (bouillon + champignons) par une micropipette stérile et on agite bien. Après qu'il devient sous forme d'un gel on l'incube à 25C° pendant 7 jours. On met dans un tube à essai 10 ml de l'eau physiologique stérile et à l'aide d'une pipette pasteur on ajoute une colonie de champignons dans le tube en ajustant la suspension microbienne (Pfaller et al., 1988). On écoule le milieu savoraud liquide dans une boîte pétri stérile et on le laisse jusqu' il devient sous forme d'un gel, à l'aide d'un écouvillon On fait l'écouvillonnage de champignons à l'abri de toute contamination puit à la surface du milieu de culture on ajoute 10 µl de chaque concentration de l'extrait sur les disques d'wattman et 10µl de DMSO (T-), après on ferme la de boîte pétri et on l'incube dans l'étuve à 25C° pendant 7 jours. Dans une autre boîte de pétri, nous mettons 3 disques pour les

antibiotiques comme contrôle positif (1. Mycozan, 2. Fongenal, 3. Verten) et un disque de DMSO pour contrôle négatif.

La lecture du résultat se fait en mesurant la zone d'inhibition de chaque puits par une règle graduée (**Iqbal, et al., 2017**).

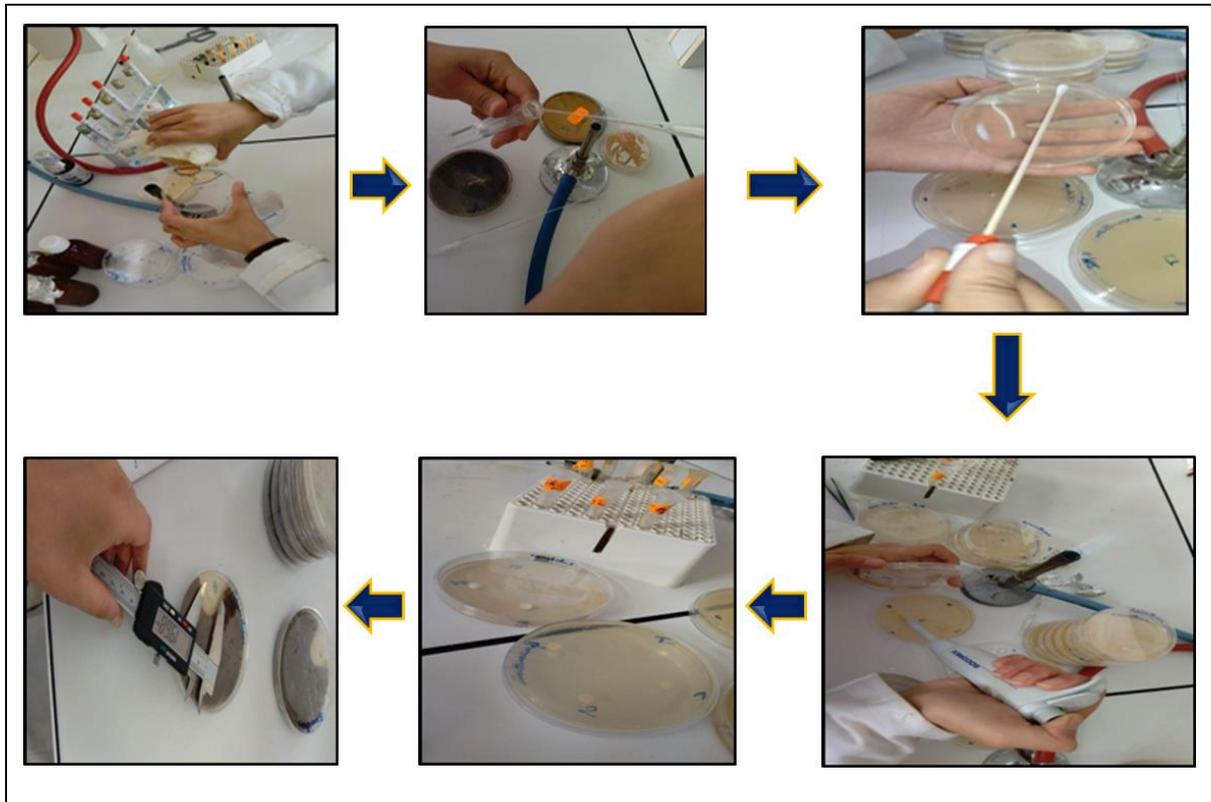


Figure 38 : Les différentes étapes de l'activité antifongiques (**Photo personnelle, 2023**).

II. Résultats et discussion

II.1. Résultats

II.1.1. Rendement d'extraction

Les résultats du rendement d'extraction de nos extraits hydro-méthanoliques obtenus après évaporation par rapport au matériel végétal sec sont présentés dans le tableau (6).

Tableau 6 : Résultats du rendement d'extraction des feuilles de *Malva silvestris* L. et tubercules de *Bunium mauritanicum* L.

Organe	Résultats
<i>Bunium mauritanicum</i> L.	6,59%
<i>Malva silvestris</i> L.	17,80%

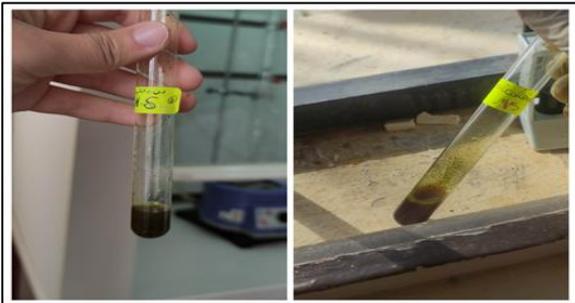
➤ Discussion :

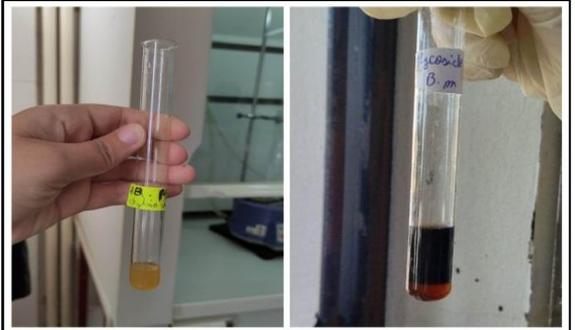
Dans nos travaux, nous avons utilisé du méthanol avec de l'eau distillée comme solvant (70%,30%) d'extraction pour les plantes *Bunium mauritanicum* L. et *Malva silvestris* L. Le rendement est de 6,59% pour l'extrait de *Bunium mauritanicum* L. et de 17,80% pour l'extrait de *Malva silvestris* L., Selon **Adepo et al., (2010)** les rendements d'extraits des plantes sèches sont relativement supérieurs à ceux des plantes fraîches.

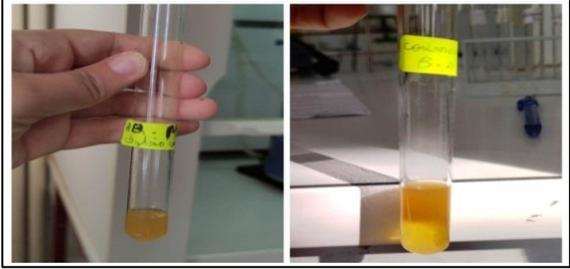
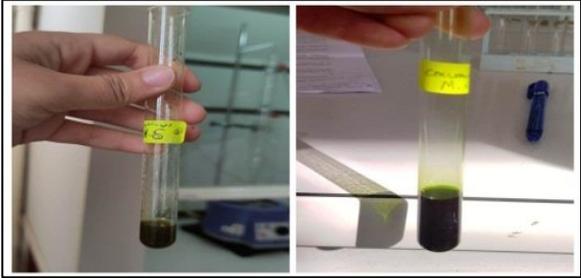
II.1.2. Screening phytochimique

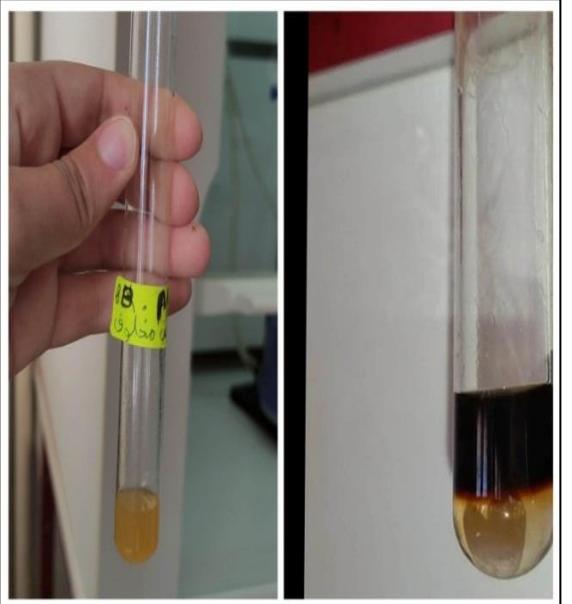
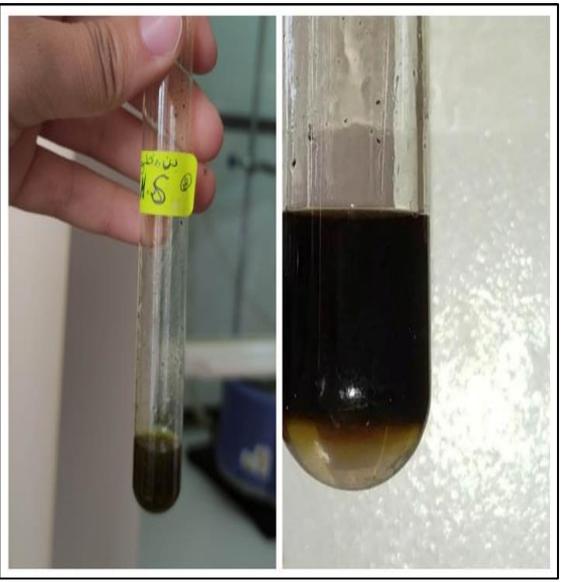
La réalisation d'analyse phytochimique pour but de détecter les composés biologiques actifs présents dans les tubercules de la plante *Bunium mauritanicum* L. et les feuilles de *Malva silvestris* L. Les résultats de ces essais sont présentés dans le tableau (7).

Tableau 7 : Résultats des tests phytochimiques.

Tests	Plantes	Résultats	Coloration	Les Photos
Test des tanins	B.m	+++	Couleur bleu-vert.	
	M.s	+++	Couleur vert foncée.	
Test des alcaloïdes	B.m	+++	Couleur jaune foncé.	
	M.s	++	Couleur marron.	
Test de	B.m	++	Couleur rouge marronne de la couche d'interface.	

saponosides	M.s	-	Aucun changement de couleur ne s'est produit.	
Test de flavonoïdes	B.m	-	Aucun changement de couleur ne s'est produit.	
	M.s	-	Aucun changement de couleur ne s'est produit.	
Test des glycosides cardiaques	B.m	+++	Couche rougeâtre foncée de couleur brun à l'interface de l'anneau stéroïde.	
	M.s	+	Couche rougeâtre foncée de couleur brun à l'interface de l'anneau stéroïde.	

Test des coumarines	B.m	+++	Formation de deux couches.	
	M.s	-	Aucun changement.	
Test d'amidon	B.m	-	Aucun changement de couleur ne s'est produit.	
	M.s	-	Aucun changement de couleur ne s'est produit.	
Test des mucilages	B.m	+	Apparition d'un précipité floconneux.	
	M.s	+++	Apparition d'un précipité floconneux.	

Test des acides aminés	B.m	+++	Apparition d'une couleur violette.	
	M.s	+++	Apparition d'une couleur violette.	
Les stérols et les tri-terpènes	B.m	+++	Formation d'un anneau rouge-brunâtre à la zone de contact des deux liquides et la coloration verte de la couche surnageant	
	M.s	+++	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 stérois et de triterpènes.	
--	--	--	--	--

(+++): Test Très positif.

(+): Test faiblement positif.

(++): Test positif.

(-): Test négatif.

B.m : *Bunium mauritanicum* L.

M.s : *Malva sylvestre* L.

➤ Discussion :

Nous avons effectué des tests chimiques sur les feuilles de *Malva sylvestre* L. et les tubercules de *Bunium mauritanicum* L. pour détecter le contenu de ces plantes en métabolites secondaires.

Les résultats recueillis pour la plante *Bunium mauritanicum* L. dans le tableau (7) indiquent la présence des alcaloïdes, des saponosides, des tanins, des coumarines, des stérois et tri-terpènes et l'absence des flavonoïdes. Alors que les travaux effectués par **Karouche et al., (2020)** sur les tubercules de *Bunium mauritanicum* L. ont montré la présence de tous les composés mentionnés précédemment en plus des flavonoïdes.

Quant aux feuilles de *Malva sylvestre* L. Les résultats révèlent l'existence des glycosides, des mucilages, des acides aminés, des stérois et tri terpènes et l'absence des flavonoïdes et des coumarines. **Gasparetto et al., (2012)** rapportent que les feuilles de la mauve de la même variété renferment tous les composés mentionnés précédemment en plus des flavonoïdes et les coumarines. **Mohajer et al., (2016)** ont également trouvé des flavonoïdes et des coumarines.

II.1.3. Analyse quantitative

II.1.3.1. Résultats du dosage des polyphénols

Les résultats de la teneur en polyphénols totaux des deux extraits testés sont rapportés sur la figure (39).

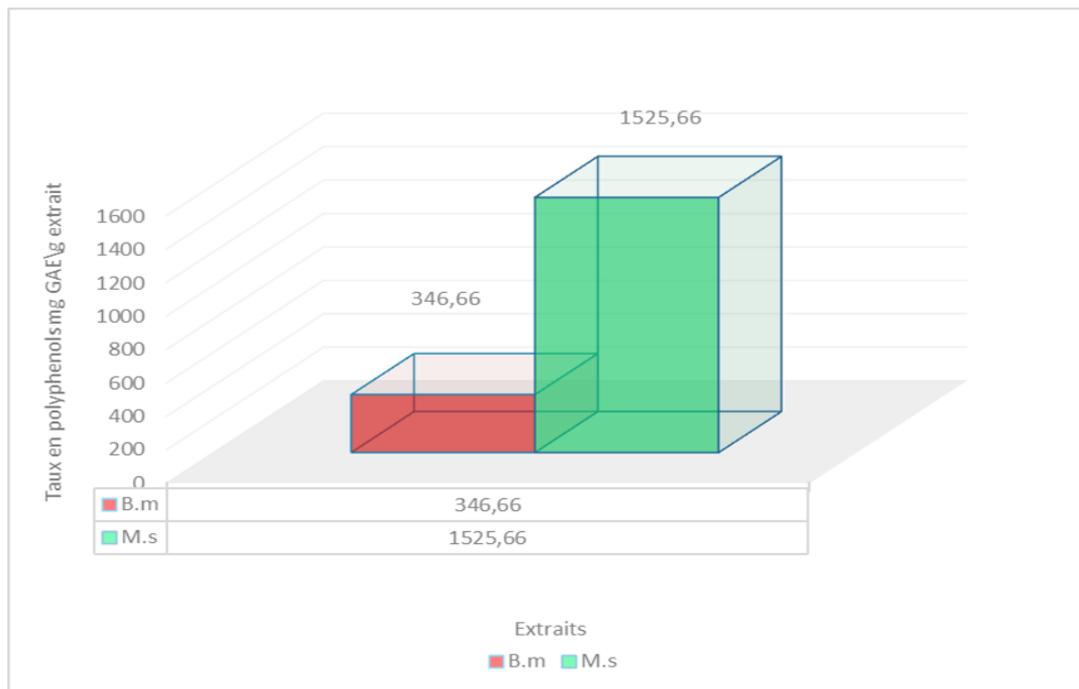


Figure 39 : Teneurs en polyphénols de l'extrait hydro-méthanoïque de la plante *Bunium mauritanicum* L. (B.m) et *Malva sylvestre* L. (M.s).

Les résultats obtenus indiquent que les teneurs en polyphénols totaux les plus élevées sont enregistrées pour l'extrait des feuilles de *Malva sylvestre* L. dont les moyennes achèvent 1525,66 mgAGE/g d'extrait, nos résultats ne s'accordent pas avec ceux de **Oluldyerou et al., (2018)** qui a trouvé 556,33 μ g/ml. Et **Beghdad et al., (2013)** qui a trouvé 24,123 mgGAE/g. Concernant les tubercules de *Bunium mauritanicum* L. la teneur en ces composés de 346,66 mgGAE/g d'extrait, ces valeurs sont supérieures à ceux de **Karouche et al., (2022)** qui ont enregistré 123,804 μ gGAE/g d'extrait méthanolique pour la même plante.

II.1.3.2. Résultats du dosage des flavonoïdes

Les résultats de la teneur en flavonoïdes des différents extraits sont mentionnés sur la figure (40).

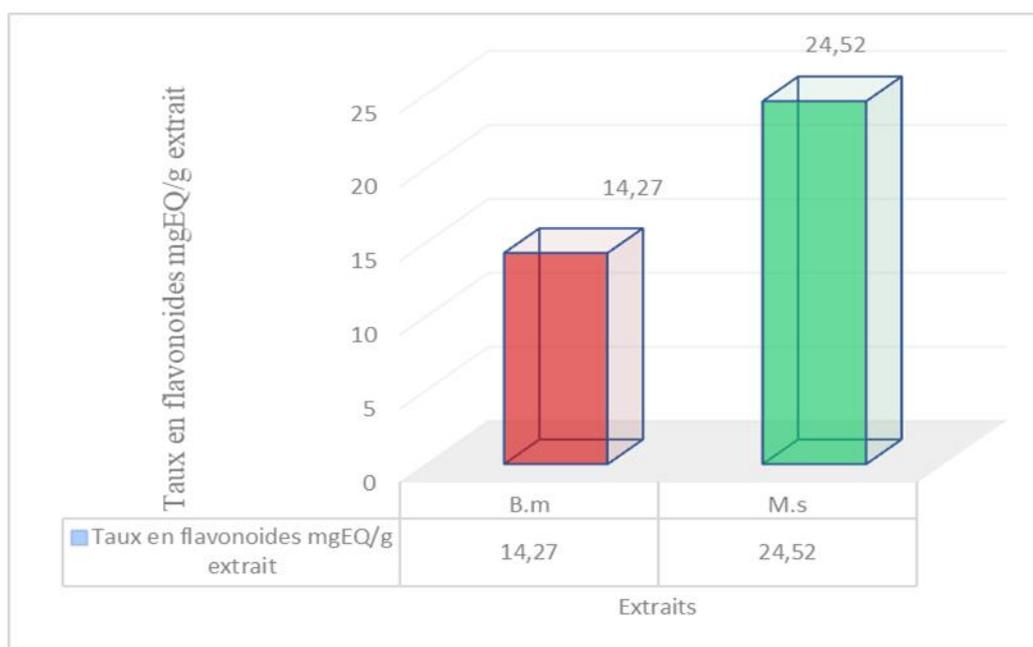


Figure 40 : Teneurs en flavonoïdes de l'extrait hydro-méthanoïque de la plante *Bunium mauritanicum* L. (B.m) et *Malva sylvestre* L. (M.s).

Les résultats obtenus indiquent que les teneurs en flavonoïdes les plus élevées sont enregistrées pour l'extrait des feuilles de *Malva sylvestre* L. dont les moyennes achèvent 24.52 mgEQ/g d'extrait, nos résultats ne s'accordent pas avec ceux de **Oludyerou et al., (2018)** qui a trouvé 894,33 μ g/ml. et **Terninko et al., (2017)** trouvé 96,12mg/100g. Concernant les tubercules de *Bunium mauritanicum* L. la teneur en ces composés est de 14,27 mgEQ/g d'extrait, ces valeurs sont supérieures à ceux de **Karouche et al., (2022)** qui ont enregistré 76,79 μ g/ml pour la même plante.

Cette différence en teneurs de ces composés bioactifs entre les deux plantes et même entre nos résultats et les résultats des autres chercheurs est peut-être liée aux caractéristiques physiologiques et à l'origine géographique de chaque espèce. Aussi elle est peut-être due à la variabilité qualitative des composés phénoliques des extraits végétaux et aux conditions expérimentales.

II.1.4. Activités biologiques

II.1.4.1. Evaluation de l'activité antioxydante

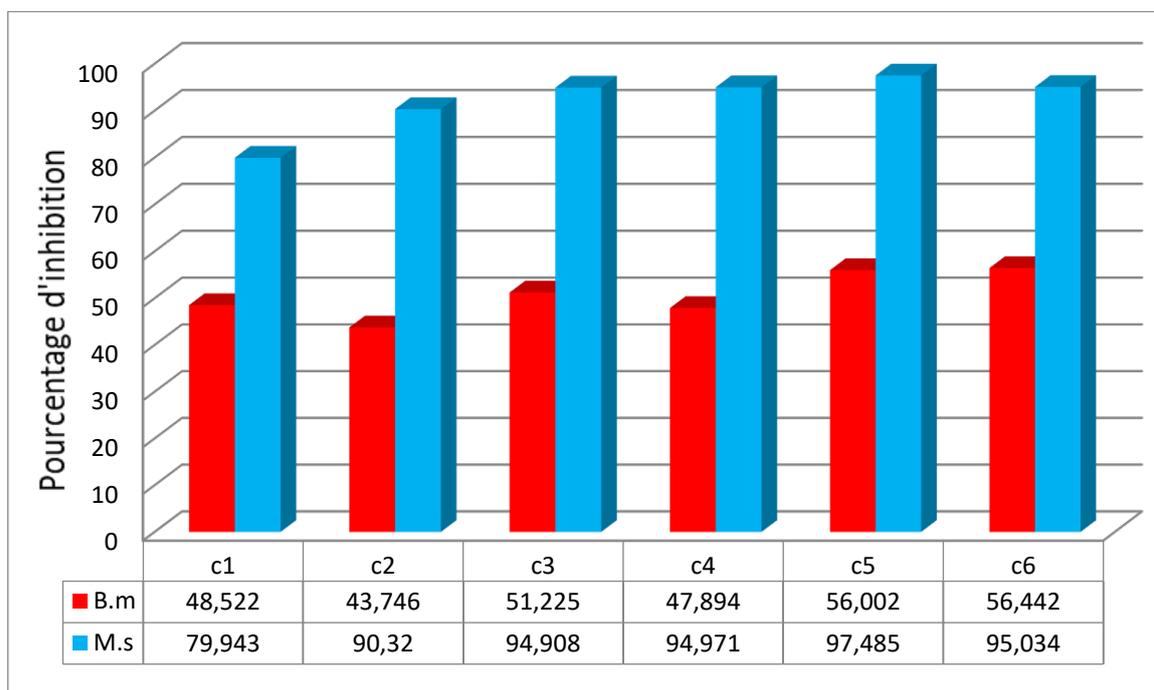


Figure 41 : Pourcentages d'inhibition du radical DPPH par les extraits de la plante *Bunium mauritanicum* L. (B.m) et *Malva sylvestre* L. (M.s).

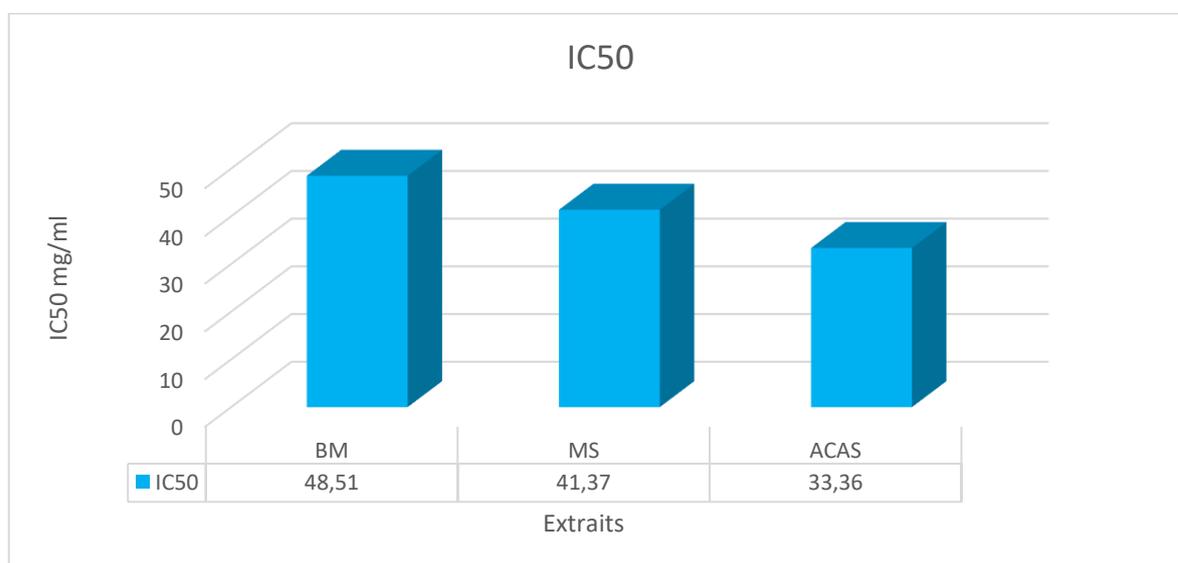


Figure 42 : IC50 de l'acide ascorbique et des extraits hydro-méthanoliques de *Bunium mauritanicum* L. (B.m) et *Malva sylvestre* L. (M.s).

D'après les résultats mentionnés sur la figure (41) on remarque que le pourcentage d'inhibition du radical libre de l'extrait *Malva sylvestre* L. a une valeur élevée de (97,485%-79,943%), ce qui est bien supérieur aux valeurs obtenues pour la plante *Bunium mauritanicum* L. où les pourcentages d'inhibition des radicaux libres vont de (56,442%-43,746%).

Si on compare le pouvoir antioxydant en fonction de l'IC50, on constate que l'extrait de *Malva sylvestre* L. est plus antioxydant que l'extrait de *Bunium mauritanicum* L. avec un IC50 = 41,37mg/ml, valeur proche à celle de l'Acide ascorbique (témoin positif) qui a donné une valeur de 33,36mg/ml. **Ouldyerou et al., (2018)** rapportent que le taux d'inhibition des radicaux libres de l'extrait méthanolique de *Malva sylvestre* L. atteint (30%_ 100%) et il est de 9% à 35% pour l'extrait aqueux **DellaGreca et al., (2009)** et 37,38% à 74,52% **Sarmiento et al., (2022)**. Alors que le taux d'inhibition de l'extrait méthanolique de *Bunium mauritanicum* L. est de 30% à 34% **Adoui et al., (2022)**.

II.1.4.2. 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 (8) et les figures (43,44 et 45).

Tableau 8 : Diamètres de la zone d'inhibition de l'extrait des tubercules de *Bunium mauritanicum* L., des feuilles de *Malva sylvestres* L., de la Gentamicine (T+) et du DMSO (T-) avec des différentes dilutions.

Extraits	Bactéries	Concentrations mg /ml	Diamètre de zone d'inhibition (mm)	
<i>Bunium mauritanicum</i> L.	<i>B. spizizenii</i>	SM	8,35	
		C1	6	
		C2	6	
		C3	6	
	<i>E.coli</i>	SM	10,86	
		C1	7,90	
		C2	7,86	
		C3	7,76	
			SM	7,93

	<i>P.aeruginosa</i>	C1	7,08
		C2	7,37
		C3	6,54
	<i>S.aureus</i>	SM	13,64
		C1	11,84
		C2	9,09
		C3	6
<i>Malva sylvestres</i> L.	<i>B. spizizenii</i>	SM	10 ,94
		C1	8,22
		C2	7,50
		C3	7,13
	<i>E .coli</i>	SM	9,48
		C1	9,06
		C2	10,07
		C3	8,98
	<i>P.aeruginosa</i>	SM	10,35
		C1	11,89
		C2	10,07
		C3	8,86
<i>S .aureus</i>	SM	6,96	
	C1	9,90	
	C2	10,37	
	C3	6,48	

Gentamicine (T+)	<i>B. spizizenii</i>	/	6
	<i>E. coli</i>	/	32
	<i>P. aeruginosa</i>	/	32,95
	<i>S. aureus</i>	/	6
DMSO (T-)	<i>B. spizizenii</i>	/	6
	<i>E. coli</i>	/	6
	<i>P. aeruginosa</i>	/	6
	<i>S. aureus</i>	/	6

Selon **ponce et al., (2003)** et **Moreira et al., (2005)**, le renseignement 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.

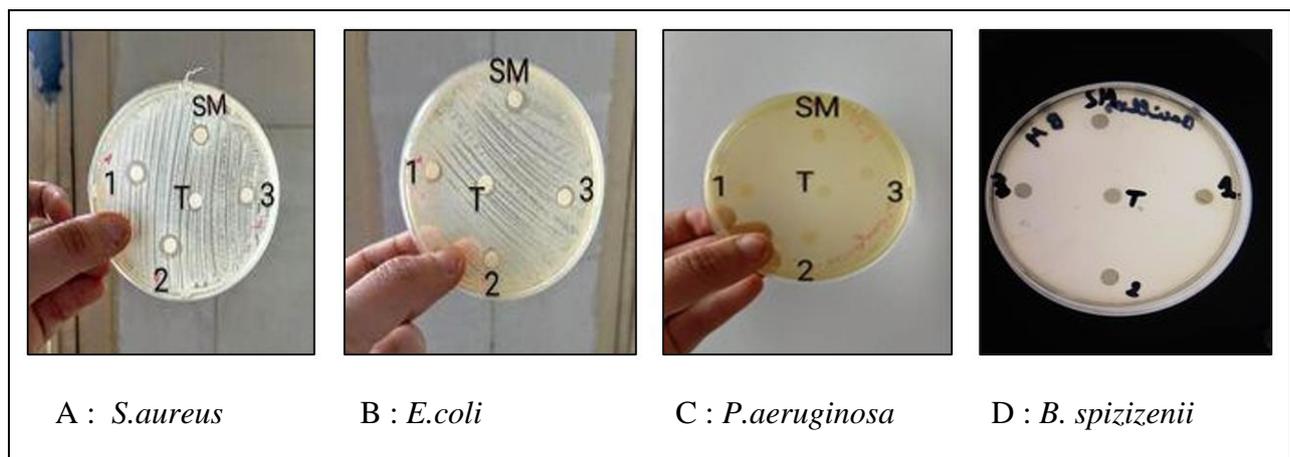


Figure 43 : Zones d'inhibition de différentes souches bactériennes traitées par différentes concentrations d'extrait de *Bunium mauritanicum* L.

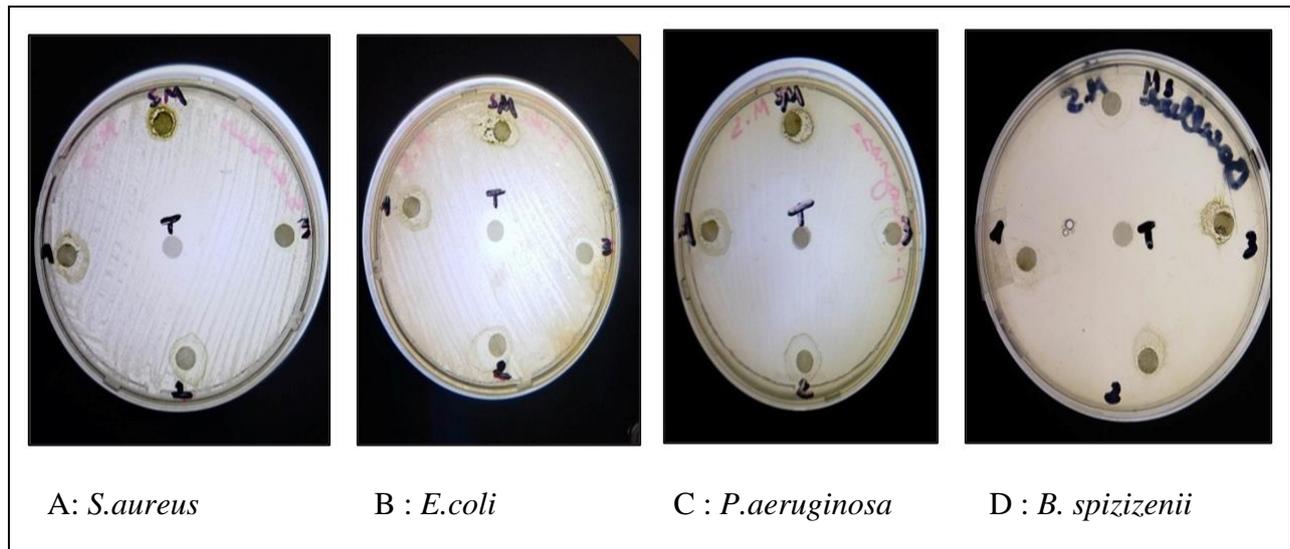


Figure 44 : Zones d’inhibition de différentes souches bactériennes traitées par différentes concentrations d’extrait de *Malva sylvestres* L.



Figure 45 : Aspect des zones d’inhibition de Gentamicine vis-à-vis les souches bactériennes.

➤ **Discussion :**

Les résultats obtenus au cours de cette étude montrent que la Gentamicine exerce un effet inhibiteur sur la croissance des souches bactériennes *P.aeruginosa* et *E.coli* dont le diamètre d’inhibition atteint (32,95 et 32) mm respectivement. Tandis que les autres souches montrent une résistance totale vis-à-vis ce dernier (résultats -). Pour le DMSO les zones d’inhibitions sont nulles pour toutes les souches testées.

Concernant nos extraits, on constate que *S.aureus* est la souche la plus sensible à l’extrait de *Bunium mauritanicum* L. avec les concentrations SM, C1 et C2 dont les valeurs du diamètre d’inhibition atteints (13,64, 11,84 et 9.09) mm respectivement. *E.coli* montre aussi une sensibilité au même extrait avec la concentration SM dont le diamètre d’inhibition est de 10.86 mm. Le même extrait n’exerce aucun effet inhibiteur sur les autres souches testées. **Adoui et al.,**

(2022) mentionnent que l'extrait *Bunium mauritanicum* L. exerce une activité inhibitrice sur les souches *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*.

Pour l'extrait de *Malva sylvestres* L., la souche la plus sensible est *P.aeruginosa* dont les diamètres d'inhibition sont de (11.89, 10.35 et 10.07) mm avec les concentrations C1, SM et C2 respectivement. Pour le même extrait les souches; *B. spizizenii*, *E.coli* et *S.aureus* marquent des zones d'inhibitions de (10.94, 10.07 et 10.37) mm avec les concentrations SM et C2 respectivement. D'après **Batiha et al., (2022)** les souches *E.coli* et *P.aerogenosa* sont moins sensibles à l'extrait éthanolique M.s, par contre la souche *S.aureus* montre une sensibilité au même extrait. D'après **Sharifi-Rad et al., (2020)** les souches *E.coli* et *S.aureus* sont sensibles à l'extrait éthanolique de *Malva sylvestres* L.

II.1.4.3. Les résultats de l'activité antifongique

Les résultats de l'activité antifongique des extraits étudiés sont résumés dans les figures (46,47 et 48).

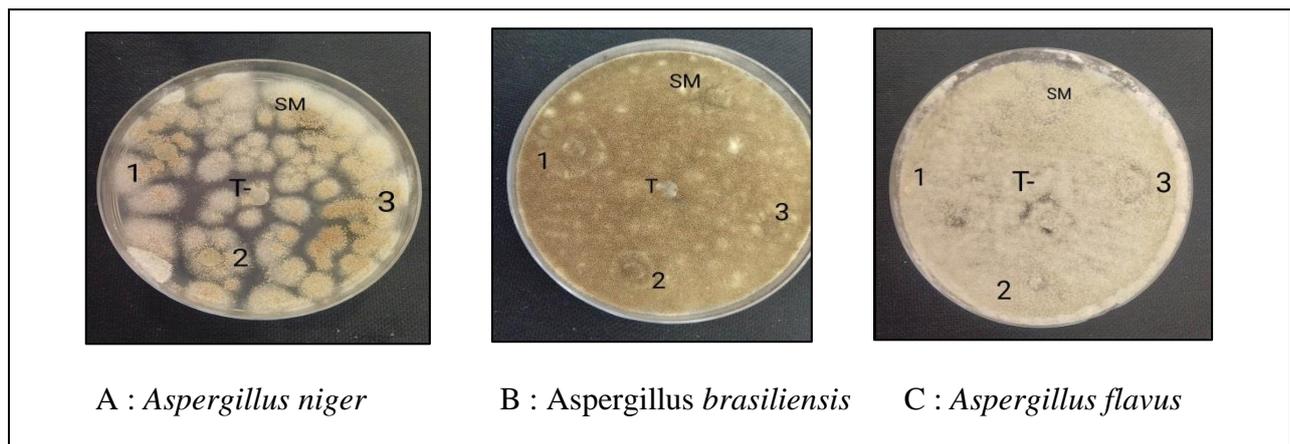


Figure 46 : Activité antifongique des différentes concentrations d'extrait de *Bunium mauritanicum* L. sur les trois souches fongiques testées.

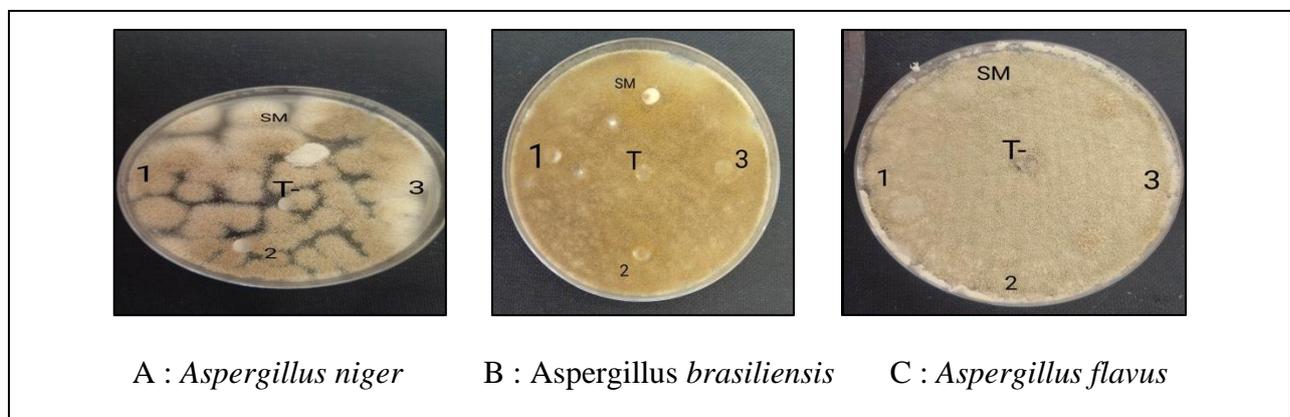


Figure 47 : Activité antifongique des différentes concentrations d'extrait de *Malva sylvestres* L. sur les trois souches fongiques testées.

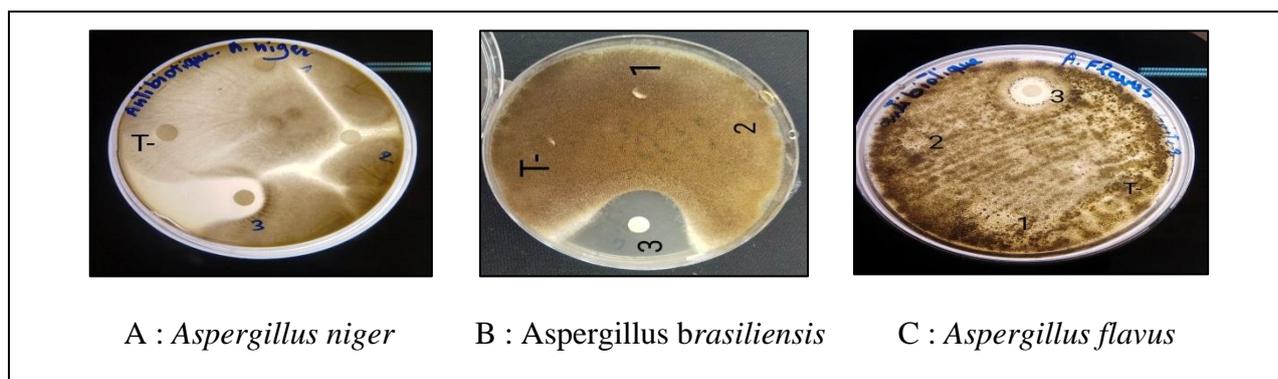


Figure 48 : Activité antibiotique des 1. Mycozan, 2. Fongenal et 3. Verten sur les trois souches fongiques testées.

Pour ce test, les trois souches fongiques testées n'ont montré aucune sensibilité aux deux extraits *Bunium mauritanicum* L. et *Malva sylvestrie* L. et même aux antifongiques Mycozan et Fongenal. Alors que l'antifongique Verten a exercé une activité inhibitrice sur les trois souches dont les diamètres sont de (22,99) mm pour la souche *A. brasiliensis*, de (14,75) mm pour *A. niger* et (14,45) mm pour la souche *A. flavus*.

Les résultats obtenus par **khan et al., (2013)** indiquent également l'absence de toute activité antifongique de l'extrait de *Bunium mauritanicum* L. Selon les résultats obtenus par **Razavi et al., (2011)**. L'extrait de la plante *Malva sylvestrie* L. exerce une activité antifongique modeste. D'après **Sharifi-Rad et al., (2020)** la souche *A. niger* sont sensibles à l'extrait méthanolique de *Malva sylvestres* L.

Conclusion

L'objectif de notre travail est de mener une étude phytochimique de l'extrait de *Malva sylvestres* L. et de *Bunium mauritanicum* L. afin de détecter des composants biologiquement actifs et antimicrobiens, ainsi qu'une activité antioxydant, sans oublier d'évaluer le rendement de l'extrait.

Les résultats de l'extraction à l'aide de méthanol et d'eau distillée montrent que le rendement de la plante *Bunium mauritanicum* L. est de (6,59%) alors que la plante de *Malva sylvestres* L. achève (17,80%).

Le Screening phytochimique d'extraits hydro- méthanoliques des deux plantes, nous avons révélé la présence de composants biologiquement actifs tels que les alcaloïdes, les saponosides, les tanins, les stérols et tri- terpènes, les glycosides cardiaques, les mucilages, les acides aminés.

L'analyse quantitative montre que la teneur en polyphénols totaux et en flavonoides de l'extrait *Malva sylvestres* L. demeure plus importante par rapport à celle de la plante *Bunium mauritanicum* L.

Si on compare le pouvoir antioxydant en fonction de l'IC50, on constate que l'extrait de *Malva sylvestre* L. est plus antioxydant que l'extrait de *Bunium mauritanicum* L.

L'activité antibactérienne des extraits est évaluée sur quatre souches bactériennes (*S.aureus*, *E.coli*, *P.aeruginosa*, *B. spizizenii*). D'après nos résultats, la souche *S.aureus* est la plus sensible à l'extrait de *Bunium mauritanicum* L. suivie par *E.coli* puis *P.aeruginosa* et enfin *B. spizizenii*.

Quant à l'extrait de *Malva sylvestre* L., le plus grand effet est enregistré pour la souche *P.aeruginosa* suivie par *E.coli* puis *S.aureus* et enfin *B. spizizenii*. En comparaison avec les résultats des antibiotiques, nous trouvons que les souches bactériennes (*E.coli*, *P.aerogenosa*) montrent une très grande sensibilité à l'antibiotique gentamycine par rapport aux extraits hydro-méthanoïque, Quant aux souches bactériennes (*S.aureus* et *B. spizizenii*) elles ne sont pas sensibles à l'antibiotique gentamycine, au contraire, avec l'extrait (M.s) elles montrent une sensibilité modérée.

Concernant l'activité antifongique, les deux extraits ne montrent aucune capacité inhibitrice de toutes les souches fongiques testées.

À la fin. On conclut que ce travail constitue une modeste contribution à la valorisation des deux plantes, *Bunium mauritanicum* L. et *Malva sylvestre* L. qui se caractérisent par leur richesse en métabolites secondaires douées d'activités biologiques; antioxydante et antimicrobiennes qui demandent d'être exploitées. De ce fait, et comme perspectives on propose :

Des travaux complémentaires sont alors nécessaires pour isoler et identifier les substances

bioactives responsables des activités testées.

- Déterminer de nouvelles substances bioactives naturelles pourront répondre aux différents problèmes de la santé et d'être un alternatif des médicaments synthétiques.
- Développer des médicaments antiradicalaires à base de plantes, doués d'activités biologiques.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

- **Abayomi, S (2010).** Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique, p. 22.
- **Adepo, Y P., Seka, A., Biego, H G., Chatigre, K O., Kati, C S (2010).** Etude de l'évolution des paramètres physico-chimiques de 2 plantes *Euphorbia hirta* et *Secamone afzelii* en fonction des quatre saisons de l'année, de l'extraction aqueuse et évaluation du pouvoir lactogène. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, Volume79, pp 12-24.
- **Adoui, N., Bendif, H., Benabdallah, A., Souilah, N., Daoud, N., Miara, M.D (2022).** Ethnomedicinal uses, phytochemistry and biologicalact talghouda (*bunium fontanesii* batt. And related synonyms) : à review. Journal of EcoAgriTourism. Vol. 18. P. 76-97.
- **Ahmed, S., Siddiqui, MUA., Hasan, MM (2017).** Globally used antiurolithiatic plants of family Apiaceae. World Journal of Pharmaceutical Research; 6(7) : 358-364.

B

- **Bahorun, T (1996).** Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source D'approvisionnement potentielle. Food and agricultural resarchcouncil, Réduit, Mauritius. 83 94 p.
- **Bahorun, T (1997).** Substances Naturelles actives. La flore Mauricienne .une source D'approvisionnement potentielle Food and Agricultural Research council Mauritiias, 83-94.
- **Baker, S. E (2006).** *Aspergillus niger* genomics: past, present and into the future. Med. Mycol. 44, S17–S21.
- **Barros, L., CarvalhoA. M., Ferreira, I. C. F. R (2010).** Leaves, flowers, immature fruits and leafy flowered stems of *Malva sylvestris*: A comparative study of the nutraceutical potential and composition. Food and Chemical Toxicology 48(6), pp. 1466–1472.
- **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 Schmiedebergs Arch. Pharmacol.
- **Bauer, A. W, Kirby W. M, Sheris J. C. an Turck M (1966).** Antibiotic susceptibility Testing by a standardized single disc method."AM. J. Clin. Pathol Vol 45.P493-496.

- **Beghdad, M., Benammar, C., Bensalah, F., Sabri, F. Z., Belarbi, M., Chemat, F (2014).** Antioxidant activity, phenolic and flavonoid content in leaves, flowers, stems and seeds of mallow (*Malva sylvestris* L.) from North Western of Algeria. *African Journal of Biotechnology*, 13(3), 486–491.
- **Belhattab, R., Larous, L., Kalantzakis, G., Boskou, D., Exarchou, V (2004).** Antifungal Properties of *Origanum glandulosum* Desf. Extracts. *Food, Agriculture & Environment* Vol.2 (1), pp. 69-73.
- **Beloued, A (2001).** *Médicinal plants in Algeria*. University publications Office, Algiers, ISBN : 9961.0.0304.4, pp : 277.
- **Ben Abdallah, F., Lagha, R., & Gaber, A (2020).** Propriétés d’inhibition et d’éradication du Biofilm des huiles essentielles de plantes médicinales contre les isolats de *Staphylococcus aureus* Résistants à la méthicilline Clinical. *Produits pharmaceutiques*, 13 (11), 369.
- **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. *Journal of Stax* N°31. P. 38-44.
- **Benkhalifa, A., Toumi, M (2019).** Talghouda, une ancienne source alimentaire bien évoquée dans les soins traditionnels en Algérie. *Laboratoire d’Ethnobotanique et substances Naturelles Ecole de Normale Supérieure, El-branimi, Vieux Kouba. Alger.* 37-39.
- **Benmehdi, H (2000).** Valorisation de certaines plantes médicinales à activité Hypoglycémiantes comme la coloquinte. Mémoire de Magistère en chimie Organique appliquée. Département de chimie faculté des sciences Université de Tlemcen.
- **Benzahi, K (2001).** Contribution à l’étude des flavonoïdes dans la plante *Cynodactylon L* (chindent). Thèse de Magister en chimie. Université d’Ouargla, Ouargla, 15-17 p.
- **Blayo, B (2022).** Les huiles végétales, les colophanes et les terpènes. in *L’ACTUALITE CHIMIQUE*, N° 11-12, p. 27-30.
- **Borges-Walmsley, M.L., Chen, D., Shu, X., Walmsley, A.R (2002).** The pathobiology of *Paracoccidioides brasiliensis*. *Trends Microbiol.*;10 .p. 80-87.
- **Botineau, M (2010).** *Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs*. Tec & doc. P, 11-20.
- **Botineau, M (2010).** *Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs*. Ed. Tec & Doc, **Lavoisier**, Paris. P, 1021-1043.

C

- **Chaouch, N (2001)** Étude des alcaloïdes dans la coloquinte *Colocynthis vulgaris* (L) Schrad (cucurbitacées) Région de Oued N'sa (Wilaya de Ouargla). Mémoire de magister. Université D'Ouargla, Ouargla (Algérie).
- **Çoban, T., Çitoğlu, G. S., Sever, B., and Işcan, M (2003)**. Antioxidant activities of plants used in traditional medicine in Turkey. *Pharmaceutical Biology*. 41, p. 608-613.
- **Collin, S., Crouzet, J (2011)**. Polyphénols et procédés. Edition Lavoisier TEC & DOC, p 5, 13, 16, 235.
- **Couplan, F (2009)**. Le regal vegetal: plantes sauvages comestibles Ed:Sang de la Terre). InFlores Maeva. *Malva sylvestris* L. et autres mauves de France. Pharmacie. France. Université de Nantes, 2011. P 221.

D

- **Daels Rakotoarison, D (1990)**. Extraits phénolique d'aubergine, de cola et d'églantier .Thèse de doctorat. Univ de Lille .France .
- **DeLendvai, B., Zelles, T., Rozsa, B., Vizi ES (2002)**: Vinca alkaloid exchanges Morphological dynamics of dentric neocortical Layer 2/3 pyramidal cells. *Brain Research Bulletin*, 59 (4): 257-260.
- **DellaGreca, M., Cutillo, F., Abrosca, B.D., Fiorentino, A., Pacifico, S., Zarrelli, A (2009)**. Antioxidant and radical scavenging properties of *Malva sylvestris*. *Nat. Prod. Commun.* 4, P, 893–896.
- **Derbré, S., Licznar-Fajardo, P., Sfeir, J., (2013)**. Intérêt des huiles essentielles dans Les angines à *Streptococcus pyogenes*. *Actualités pharmaceutiques* n° 530 ; 46-50.
- **Desoubeaux, G., Baily, É., Chandénier, J (2014)**. Diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis: updates and recommendations *Med Mal Infect* Volume 44, P. 89-138
- **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.
- **DVipul. P., KGirish. J., GNaresh. M., PNarayan. R (2012)**. *Carbohydrate Polymers* 92, p. 1685– 1699.

E

- **Eddouks, M., Ouahidi, M.L., Farid, O., Moufid, A., Khalidi, A., Lemhadri, A (2007).** The use of medicinal plants in the treatment of diabetes in Morocco. *Phytotherapie.*, 5. P, 194-203.
- **Edmond Ghanem, M., Han, R.-M., Classen, B., Quetin-Leclerq, J., Mahy, G., Ruan, C.-J., Qin, P., Pérez-Alfocea, F., Lutts, S (2010).** Mucilage and polysaccharides in the halophyte plant species *Kosteletzkya virginica*: localization and composition in relation to salt stress. *J PlantPhysiol.* 167(5), p. 382-392.
- **Elharas, K., Daagare, A., Mesfiou, A., Ouhssine, M (2013).** Activité antibactérienne de l'huile essentielle des inflorescences de *Laurus Nobilis* et *Lavandula Angustifolia*. *Afrique Science* 09(2). P. 134-141.

F

- **Frank, D.W (2012).** *Pseudomonas aeruginosa, Biology, Genetics, and Host-Pathogen Interactions.* F. E-books (ed.). Lausanne, Switzerland : Frontiers in Microbiology.

J

- **Jara, A., Rodriguez, Y., Cornejo, J., Cazar, ME., Jiménez-Mejías P, Vargas P (2015).** Taxonomy of the tribe Apieae (Apiaceae) revis-ited as revealed by molecular phylogenies and morphological characters. *Phytotaxa.* 212 :57–79.
- **Jiménez-Mejías, P., Vargas, P (2015).** Taxonomy of the tribe Apieae (Apiaceae) revis-ited as revealed by molecular phylogenies and morphological characters. *Phytotaxa.* 212: 57–79.

G

- **Gaber El-Saber. B., Stephano Tambo Tene. S., Oluwafemi Teibo, J., Shaheen, H M., Oluwatoba, O S., Ayandeyi Teibo, T k., Al-Kuraishy, H M., Al-Garbee, A., Alexiou, A., Papadakis, M (2022).** “The phytochemical profiling, pharmacological activities, and safety of *malva sylvestris* : à review.” *Naunyn-Schmiedeberg’s archives of pharmacology* vol. 396, (3)421-440.
- **Ganzler, K., Salgó, A (1987).** Microwave-Extraction -a New Method Superseding Traditional Soxhlet Extraction. *Zeitschrift für Leb. Und Forsch.* 184 (4), 274-276.

- **Gasparetto, J. C., Martins, C. A. F., Hayashi, S. S., Otuky, M. F., Pontarolo, R (2012).** Ethnobotanical and scientific aspects of *Malva sylvestris* L.: a millennial herbal medicine. *J. Pharm. Pharmacol.* 64, 172- 189.
- **Gasparetto, J. C., Martins, C. A. F., Hayashi, S. S., Otuky, M. F., Pontarolo, R (2012).** Ethnobotanical and scientific aspects of *Malva sylvestris* L.: a millennial herbal medicine. *J. Pharm. Pharmacol.* 64, 172-189.
- **Ghedira, k (2005).** “Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique,” *Phytothérapie.* 3, p. 162–169.
- **Ghedira, K., Goetz, P (2016).** *Malva sylvestris* L. (Malvaceae) : Mauve. Article in *Phytothérapie.* P. 14.
- **Giuffrè , A. M., Louadj, L., Poiana M., Macario, A (2012).** Composition en sterols des huiles extraites d’olives de cultivars de la province de Reggio Calabria (Sud d’Italie). *Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse,* 89, p. 177-183.
- **Götz, F (2002).** Staphylococcus and biofilms. *Molecular Microbiology;*43(6) :1367-78.
- **Gutierrez, M., Astudillo, L (2013).** Antioxidant activity and total phenolics of plants used in traditional medicine in Ecuador, in The 17th International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry, Sciforum Electronic Conference Series, b001,p. 1-6.

H

- **HAddouchi, F., Chaouche, T.M., Ksouri, R., Medini, F., Sekkal, F.Z., Benmansour, A (2014).** Antioxidant activity profiling by spectrophotometric methods of aqueous methanolic extracts of *Helichrysum stoechas* subsp. *Rupestre* and *Phagnalon saxatile* subsp. *Saxatile*. *Chin. J. Nat. Med.*12, 415–422.
- **Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007).** Le stress oxydant. *Revue Médicale de Liège,* 62, 628 – 638.
- **Hallmann, J., Quadt-Hallmann, A., Mahaffee, WF (1997).** Bacterial endophytes in agricultural crops. *Canadian Journal of Microbiology,* 43:895-914.
- **Hamel, T., Sadou, N., Seridi, R., Boukhdir, S., Boulemtafes, A (2018).** Pratique traditionnelle d’utilisation des plantes médicinales dans la population de la péninsule de l’Edough (nord-est algérien). *Ethnopharmacologia* 59. P, 65-71.
- **Harborne, J.B (1973)** *Phytochemical Methods.* Chapman and Hall Ltd., London, 49-188.

- **Harborne, J.B (1998)** Textbook of Phytochemical Methods. A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis. 5th Edition, Chapman and Hall Ltd, London, 21-72.
- **Hedayati, MT., Pasqualotto, AC., Warn, PA., Bowyer, P., Denning, DW (2007).** *Aspergillus flavus* : human pathogen, allergen and mycotoxin producer. Microbiology 153 :1677–1692.
- **Heller, R., Esnault, R., Lance, C (2004).** Physiologie végétale 1. Nutrition. Dunod, Paris, 1998 pour la cime présentation, p. 288-305 _ (Sciences Sup).
- **Hopkins, W.G., Evrard, C., M (2003).** Physiologie végétale. Publié par De Boeck Université. P, 532.
- **Huang, H., Zhang, B., Hartenstein, P.A., Chen, J.N., and Lin, S (2005).** *Thymelaea hirsuta* (L.) end. Thymelaeaceae. A guide to medecinal plant in northafrica .publié par ilucn international malaga, spain.

I

- **Iqbal, Z., Gul, S., Ul Haq, I., Munawar, A., Ahmad, A., Amin (2017).** F.Antibacterial and Antifungal activity of *Mentha longifolia* Mirkalan village of Nizampur region Nowshehra district of KPK, Pakistan. Journal of Entomology and Zoology Studies. 5(6) : 318-321.
- **IsChira K., Suh J.-H., Saucier C., Teissèdre P.-L. (2008).** Les polyphé'nols du raisin. Phytothérapie, 6, p. 75–82.

K

- **Karouche, S., Benbott, A., Henouda, S (2022).** Contenu phenolique et activités biologiques des feuilles de l'espèce *Bunium mauritanicum*. Revue des Bioressources Vol 12. P. 13 – 22.
- **Karumi, Y., Onyeyili, P.A ., Ougb uaja, V.O (2004).** Identification of active Principales of balsamina (Balsam apple) leaf extract. J. Med. Scien. 4 : 179-182.
- **Khan, I., Ahmad, H., Ali, N., Ahmad, B., Tanoli, H (2013).** Screening of *Bunium bulbocastanum* for antibacterial, antifungal, phytotoxic and haemagglutination activities. Pak. J. Pharm. Sci., 26(4) : 787-791.
- **Koleva, II., Van Beek, TA., Linssen, JPH, de Groot, A., Evstatieva, LN (2002).** Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. Phytochem Anal. 13 :8-17.

- **Kolhe, S., Kasar, T., Dhole, S.N., and Upadhye, M (2014).** Extraction of Mucilage and its Comparative Evaluation as a Binder. *American Journal of Advanced Drug Delivery*, Ajadd [2][3], p. 330-343.
- **Krief, S (2003).** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, surveillance sanitaire et observations de l'alimentation de chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en ouganda activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. P. 343.

L

- **Lebouazid, A., Meziani, RA (2021).** Etude des activités antioxydante et antiinflammatoire de l'espèce *Bunium mauritanicum*. Mémoire De MASTER. UNIVERSITE LARBI BEN MHIDI OUM EL BOUAGHI. P. 7.
- **Limonier, N., (2018).** La Phytothérapie de demain : les plantes médicinales au cœur de la Pharmacie, Faculté de pharmacie de Marseille, P. 30.
- **Llopis, L (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

- **M.D. Luque De Castro et F. Priego-Capote (2010).** Soxhlet extraction : Past and present panacea. *Journal of Chromatography A*. Vol 1217, P, 2267-2746.
- **Macheix, J.-J., Fleuriet, A., Jay-Allemand, C (2005).** Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique; PPUR Presses Polytechniques: Lausanne, Switzerland.
- **Macheix, JJ (1996).** Les composés phénoliques des végétaux: quelles perspectives à la fin du XXème siècle?, *Acta Botanica Gallica*, 143:6, 473-479.
- **Makvana, L. R. Krilov (2015).** *Escherichia Coli* Infections, *Pediatr. Rev.* 36 167-70.
- **Malecky, M (2007).** Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins. Thèse de Doctorat de L'institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement. Agro. Paris, Tech. P, 35-37.
- **Manallah, I (2012).** Caractérisation morphométriques des caprins dans la région de Sétif. Magister : spécialité production animal. Université Ferhat Abbas, p 43-59.

- **Manallah, A (2012).** Activités antioxydante et anticoagulante des polyphenols de la pulpe d'olive *Olea europaea* L. mémoire de Magister : Biochimie Appliquée. Université Ferhat Abbas - Sétif, p. 23.
- **Martini, M.C (2011).** Introduction à la dermatopharmacie et à la cosmétologie. Ed. Lavoisier. p.358.
- **McMullen, TP., Vilchèze, C., McElhaney, RN., Bittman, R (1995).** Differential Scanning Calorimetric Study of the Effect of Sterol Side Chain Length and Structure on Dipalmitoylphosphatidylcholine Thermotropic Phase Behavior *Biophysical Journal*, 69, p. 169-176.
- **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., Taha, R.M., Ramli, R.B., Mohajer, M (2016).** Phytochemical constituents and radical scavenging properties of *Borago officinalis* and *Malva sylvestris*. *Ind. Crops Prod*, 94, P. 673–681.
- **Mohamad NA, Jusoh NA, Htike ZZ, Win SL. (2014).** Bacteria identification from microscopic morphology: A survey. *International Journal on Soft Computing, Artificial Intelligence and Applications*. 3 : 2319-1015.
- **Mohamad, N. A., Jusoh, N. A., Zaw Htike, Z., Win, S (2014).** Bacteria Identification From Microscopic Morphology : A Survey. *International Journal on Soft Computing, Artificial Intelligence and Applications*, 3(2), p. 1–12.
- **Morand S., Lajaunie C., (2018).** Biodiversité et santé, ISTE Group, Apr 1, Biodiversity , P. 288.
- **Mouellet, W (2005) :** Fuir Brazzaville-sud otage des milices, Paris, Le Harmattan.
- **Mpondo, ME., Yinyang, J., Dibong, SD (2015).** Valorisation des plantes médicinales à coumarines des marchés de Douala Est (Cameroun). *J. Appl. Biosci.*, 85:7804– 7823.

O

- **Ojeil, A., El Darra, N., El Hajj, Y., Mouncef, P. B., Rizk T. J., Maroun, R. G (2010).** “Identification et Caractérisation de Composés Phénoliques Extraits Du Raisin Château KSARA,” *Lebanese Science Journal*, Vol. 11, p. 117-131.

- **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.
- **Ouldierou, k., Righi S., Meddah B., Tir touil A., Bouhadi D. Hariri A (2018).** Etude phytochimique et Activité antioxydante de quelques plantes antidiabétiques au niveau de la wilaya de mascara. *Journal of Advanced Research in Science and Technology* 5,670-679.

P

- **Pfaller, M.A., Burmeister, L., Bartlett, M.S., Rinaldi, M.G (1988).** Multicenter Evaluation of Four Methods of Yeast Inoculum Preparation. *Journal of Clinical Microbiology*, 26, 1437-1441.
- **Powers, S., Jackson, M (2008).** Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol Rev* ; 88: 1243-76.
- **Pyrzynska, K., Biesaga M (2009).** Analysis of phenolic acids and flavonoids in honey. *Trends in Analytical Chemistry*. 28: 893-902.

R

- **Rabie, S., Berkani, A (2014).** Contribution à l'étude des propriétés émulsifiantes du mucilage extrait à partir des graines de « *Trigonella foenum-graecum* ». Mémoire de Master professionnelle : pharmacie industrielle. Blida : Université Saad DAHLAB-Blida1 Faculté des sciences De Technologie Département de Génie de procédés, p. 11.
- **Raven, P.H., Evert, R.F., Eichhorn, S.E., Bouharmont, J (2007).** *Biologie végétal.* Ed. De Boeck Université, P.968.
- **Razavi, SM., Zarrini, G., Molavi, G., Ghasemi, G (2011).** Bioactivity of *Malva sylvestris* L., a medicinal plant from iran. *Iran J Basic Med Sci* 14:574–579.
- **Ripert, C (2013).** *Mycologie médicale.* Lavoisier, Paris. P. 690.
- **Ripert, C (2013).** *Mycologie médicale.* Lavoisier, Paris. P. 690.
- **Robbins, R., J (2003).** *Phenolic Acids in Foods: An Overview of Analytical Methodology.* *Agric. Food Chem*, 51, p. 2866–2887.
- **Radice, M., Scalvenzi, L., Cossio, N.S (2016).** *Ilex guayusa: A systematic review of its Traditional Uses, Chemical Constituents, Biological and Biotrade Opportunities.* In *Proceedings of the MOL2NET'16, Conference on Molecular,*

Biomedical & Computational Sciences and Engineering, 2nd ed; MDPI: Basel, Switzerland, Section M; p. 38-68.

- **Rufatto, L., Santos, D., Marinho, F., Henriques, J., Roesch Ely, M., Moura, S (2017).** Chemical composition and pharmacological activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, Vol 7(7) ,p. 591–598.

S

- **Sarmiento, GM., Gutiérrez, YI., Delgado, R., Burbano, Z., Soledispa, PA., Jaramillo, ND., Vargas, LA (2022).** Phytochemical composition and antioxidant capacity of the aqueous extracts of *Malva sylvestris* L. and *Malva pseudolavatera* Webb & Berthel. *J Pharm Pharmacogn Res* 10(3): 551–561.
- **Sayed-Ahmad, B., Talou, T., Saad, Z., Hijazi, A., Merah, O (2017).** The Apiaceae : Ethnomedicinal family as source for industrial uses. *Ind. Crops Prod.*, 109, 661–671.
- **Schofield, P., Mbugua, D.M., pell, A.N (2001).** Analysis of condensed tannins : A review. *Animal feed science and technology*. Vol. (91), p. 21-40.
- **Sharifi-Rad, J., Melamine, G., Hernández-Álvarez, AJ., Taheri, Y., Shaheen, S., Kregiel, D., Martins, N (2020).** *Malva* species: Insights on its chemical composition towards pharmacological applications. *Phytother Res* 34(3). P, 546- 567.
- **Sokatch, J (2012).** *The Biology of Pseudomonas* (London:Academic).
- **Spichiger, R.E., Savolainen, U.V., Figeat, M., Jean Monod, D.B (2004).** *Botanique systématique des plantes à fleurs : une approche phylogénétique Nouvelles des angiosperms des régions tempérés et tropicales*. 3me édition Ed. Presse polytechnique et universitaire ramande. Paris. 104p.
- **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.
- **Spiridon, I., Bodirlau, R., Teaca, C.A (2011).** Total phenolic content and antioxidant activity of plants used in traditional Romanian herbal medicine. *Cent.Eur J Biol*, 6, 388-396.

T

- **Terninko, I. I., Nemyatykh, O. D., Sakipova, Z. B., Kuldyrkaeva, E. V., Onishchenko, U. E (2017).** Phytochemical and pharmacological vectors from *Malva sylvestris* L. for application in dermatological practice. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 50(12), 805-809.
- **Traber, MG., Stevens, JF., Vitamins, C. E (2011).** Beneficial effects from a mechanistic perspective. *Free Radic Biol Med*, 2011, 51(5): 1000–1013.
- **Turnbull, PCB (1996).** Bacillus. In : Baron S, editor. *Medical Microbiology*. 4th ed. Galveston (TX) : University of Texas Medical Branch at Galveston ; Chapter 15. PMID : 21413260.

U

- **UpM. D (2010).** Luque De Castro et al. Soxhlet extraction : Past and present panacea J. *Chromatogr. A*.

W

- **Waksmundzka, M., Hajnos, J (2010).** *Sherma, High Performance Liquid Chromatography in Phytochemical Analysis*, Taylor & Francis, Boca Raton.

Y

- **Younsi, Y., Meledjem S., Naidja, K (2010).** Extraction et évaluation expérimentale in vitro de l'activité antibactérienne des extraits de quelques plantes médicinales. Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme des Etudes supérieures en Biologie. Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Université de Jijel, P29.

Z

- **Zillich, OV., Schweiggert-Weisz, U., Eisner, P., Kerscher, M (2015).** Polyphenols as active ingredients for cosmetic products. *International Journal of Cosmetic Science*, 37(5), p. 455-464.

Annexes

Annexes

1. Appareillage :



soxhlet



Rota Vapeur



Agitateur



Bain Mari



Spectrophotomètre



Etuve



Plaque chauffante



Vortex



Balance Précision



Balance



Autoclave



Pied à Coulisse



Broyeur électrique

2. Verreries, matériel en plastique et produits chimiques :

Verreries et matériels en plastique	Produits chimiques	Milieu de culture
- Becher	- Ethanol (C ₂ H ₆ O)	- La gélose Mueller Hinton (MH)
- Burette graduée	- L'eau distillée	- La gélose Bouillon nutritif (BN)
- Erlenmeyer	- Acide chlorhydrique (HCl)	-La gélose Sabouraud
- Embouts	- Chloroforme (CHCl ₃)	
- Entonnoir	- Chlorure de ferrique (FeCl ₃)	
- Eprouvette	- Acide sulfurique (H ₂ SO ₄)	
- Fioles	- Folin Ciocalteu	
- Flacons en verre ambré	- Acide ascorbique (C ₆ H ₈ O ₆)	
- Micro pipette	- Trichlorure d'aluminium (AlCl ₃)	
- Pipettes graduée	- Carbonate de sodium (Na ₂ CO ₃)	
- Tube	- Diméthylesulfoxyde (DMSO)	
- Tube à vis	- Di-Phenyl-Pieryl-Hydrazyl (DPPH)	
- Tube à essais	- Iode (I ₂)	
- Porte tube à essais	- Iodure de potassium (KI)	
- Boîtes de pétrie	- Méthanol (CH ₃ OH)	
- Entonnoir	- Hydroxyde de potassium (KOH)	
- Pipette pasteur	- Magnésium (Mg)	
- Ballon	- Alcool absolu (C ₂ H ₅ OH)	
- Pipette	- Ninhydrine (C ₉ H ₆ O ₄)	
- Verre a montre	- Ether de pétrole (C ₆ H ₁₄)	
- Tubes	- Anhydride acétique (C ₄ H ₆ O ₃)	
- Eppendorfs		
- Pince		

- Papier wattman - Papier filtre - Papier film - Papier aluminium - 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.