



N° d'ordre :

N° de série :

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي  
Université Echahid Hamma Lakhdar ELOUED  
كلية علوم الطبيعة والحياة  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية  
Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Toxicologie

### THEME

**Contribution à la caractérisation biologique des extraits des  
feuilles de *Crocus sativus* issus de la région d'El-Oued**

Présenté par :

M<sup>elle</sup>kertiou khansa

M<sup>elle</sup>kertiou khoula

Devant le jury composé de :

Présidente : MEHELLOU Zineb

M.A.A,

Université El-Oued.

Examinatrice : HOUMRI Nawel

M.A.A,

Université El-Oued.

Promoteur : TLILI Mohammed Laid

M.C.B,

Université El-Oued.

Année universitaire: 2020/2021



# Remerciement

Je tiens tout d'abord à remercier DIEU le tout puissant et miséricordieux de m'avoir donné la force, le courage, la volonté et l'amour du savoir et surtout la patience d'accomplir ce modeste travail.

Un grand merci à notre encadreur **Mr. Tili Mohammed Laid** pour avoir dirigé ce travail, pour son sérieux et ses efforts pour nous avoir aidés conseillé orienté. Nous lui exprimons notre profond respect et nos chaleureux remerciements.

Nous tenons particulièrement à remercier **Mde. MEHELOU Zineb** et **Mde. HOUMRI Nawel** d'avoir accepté de juger ce travail.

Mes remerciements vont également à l'ensemble des techniciens et ingénieurs au niveau des laboratoires de département de biologie pour leur aide et encouragements et Surtout **Kaddour Abdul-Bcet et Omar Khanoufa**.

Un grand merci à Mr **Suède Abdel Qader** (propriétaire de la safranière de Hassi Khalifa ) et Mr Bouchenak khelladi Abdelghani, pour nous avoir mis à notre disposition le safran et pour leur générosité.

Nous tenons à remercier vivement tous les enseignants de la faculté des Sciences de la nature et de la vie qui ont contribué à notre formation.

Enfin je remercie gracieusement toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, en particulier l'enseignant **Fatima Alia** et **Narimene Bouafiane**.

A decorative border of pink roses and petals surrounds the text. On the left side, there are several large, detailed pink roses with green leaves and water droplets. On the right side, a vertical line of pink petals descends from the top. At the bottom, more pink petals are scattered across the width of the page.

## *Dédicace*

Je remercie tout d'abord ALLAH Le Tout Puissant de m'avoir donné la force, la patience et la volonté pour mener à bien ce modeste travail.

J'ai le grand honneur de dédier ce fruit de mes années d'études universitaires:

*A* mes chers parents.

*A* mes frères et sœurs.

*A*mes toutes famille.

*A* toutes mes collègues et surtout mes meilleurs amis.



*Khaoula*

The page is decorated with several pink roses of various sizes, some with water droplets on their petals. A trail of pink rose petals curves around the right side of the page. The text is centered in a black, elegant script font.

## *Dédicace*

*À* l'aide de Dieu tout puissant, Nous avons pu réaliser ce modeste travail que je dédie:

*Aux* êtres les plus chers qui ont sacrifiés leurs vies pour mon bonheur, qui ont été toujours à mes côtés, dans la joie comme la tristesse, mes parents que j'aime énormément, pour leur soutien durant toute ma vie, que Dieu les protège.

*À* mes frères.

*À* mes sœur.

*A* tous mes familles.

*À* tous mes amis.

*A* mon fiancé.



*Khansa*

# SOMMAIRE

Remerciement

Dédicace

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction

## Partie 1 : Etude bibliographique

### Chapitre I . Généralité sur *Crocus sativus*

1.. Présentation de la plante étudiée ( <i>Crocus sativus</i> ).....	03
2.. Caractère botanique .....	04
3. distribution géographique .....	06
4. Culture du safran .....	06
5. Récolte et rendement du safran.....	07
6. compositions chimiques .....	08
7. L'usage du safran.....	08

### Chapitre II . métabolites secondaires

1. Classification des métabolites secondaires.....	11
1.1. Les composés phénoliques.....	11
1.2. Principales classes des composés phénoliques.....	12
1.2.1.acides phénoliques.....	12
1.2.2. flavonoïdes.....	12
1.2.3. tanins.....	13
1.2.4. alcaloïdes .....	14
1.2.5.terpénoïdes.....	15
1.2.6 saponosides.....	16
1.2.7. Anthraquinones.....	16

## Partie 2 :Etude expérimental

### Chapitre I. Matériel et méthodes

I. Matériel .....	18
I. 1. Matériel biologique.....	18
I.1.1. Matériel végétal .....	18

I.1.2. bactéries.....	18
I.2. Matériel non biologique.....	19
II. Méthodes.....	20
II.1. Préparation des extraits .....	21
II.2. Tests phytochimiques .....	22
II.3. Dosage des composés phénoliques.....	23
II-3.1. Polyphénols totaux .....	23
II-3.2. Flavonoïdes .....	24
II.4. Evaluation de l'activité antioxydant.....	25
II.4.1. Test de piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-picrylhydrazyl).....	26
II.4.2. Réduction du fer par la méthode FRAP ( <i>Ferric reducing antioxidant power</i> ).....	27
II.5. Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	28
II.6. Analyse statistique.....	29

## **Chapitre II. Résultats et discussions**

1. Rendement d'extractions.....	30
2. Tests phytochimique .....	31
3. Dosage des composés phénoliques .....	33
3.1. teneur en polyphénols totaux.....	33
3.2. teneur des Flavonoïdes .....	35
4. Evaluation l'activité antioxydant .....	37
4-1. Test de piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-picrylhydrazyl).....	37
4.2. Réduction du fer (FRAP: <i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i> ) .....	39
5. Evaluation Activité antimicrobienne .....	40
Conclusion.....	42
Références bibliographiques .....	44
Résumé	

## Liste des figures

<b>Figure 1 :</b> <i>Crocus sativus</i> (Sullivan , 2011).....	4
<b>Figure 2 :</b> La morphologie de <i>Crocus Sativus</i> (Benayacheet al.,2013).....	5
<b>Figure 3:</b> principales nations productrices de safran ( Benayacheet al. ,2013).....	6
<b>Figure 4 :</b> Structure de base des composés phénoliques (Gervaise, 2004).....	13
<b>Figure 5 :</b> structure chimique des flavonoïdes (Belloum, 2007).....	14
<b>Figure 6 :</b> Structure générale de tanins hydrolysables( Makkar, 2003).....	15
<b>Figure 7 :</b> Structure générale de tanins condensés (Makkar , 2003).....	15
<b>Figure 8 :</b> Structures chimiques de alcaloïdes (Bruneton, 2009).....	16
<b>Figure 9 :</b> Structure chimiques de terpénoïdes (Hopkins, 2003).....	17
<b>Figure 10 :</b> Structure chimiques de Anthraquinones (Bertille, 2011).....	18
<b>Figure 11 :</b> les feuilles de <i>Crocus sativus</i> .....	19
<b>Figure 12 :</b> Schéma résumant le protocole utilisé.....	21
<b>Figure 13:</b> Protocole du dosage des polyphénols totaux.....	25
<b>Figure 14 :</b> Protocole du dosage des flavonoïdes.....	26
<b>Figure 15 :</b> Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH• entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (Fettah, 2019).....	27
<b>Figure 16:</b> Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP.....	29
<b>Figure 17 :</b> Courbe d'étalonnage d'acides gallique pour le dosage des phénols totaux.....	34
<b>Figure 18 :</b> La teneur des polyphénols totaux en mg E AG/mg d'extrait feuille de <i>Crocussativus</i> .....	35
<b>Figure 19 :</b> Courbe d'étalonnage de la quercitine pour le dosage des flavonoïdes totaux.....	36
<b>Figure 20 :</b> La teneur des flavonoïdes totaux en mg E Q/mg d'extrait feuille de <i>Crocus sativus</i> .....	37
<b>Figure 21:</b> Résultats de concentrations inhibitrices 50 % de DPPH.....	38
<b>Figure 22:</b> Résultats de concentrations absorbance 0.5 par le système FRAP. ....	40

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Liste des matériels non biologiques utilisé pendant .....	20
<b>Tableau 2 :</b> Rendement des extraites.....	31
<b>Tableau 3:</b> Résultats des tests phytochimique des feuilles de Crocus sativus dans deux méthode extraits macération et ultrason.....	32
<b>Tableau 4:</b> Effet d'extrait éthanolique d'Crocus sativus sur la souche bactérienne (zone d'inhibition en mm).....	42

## Liste des abréviations

**Abs** : Absorbance

**AlCl<sub>3</sub>** : Trichlorure d'aluminium.

**DMSO**: Diméthyle sulfoxyde..

**DPPH**:2,2-diphényl-1-picryl hydrazyl.

**FRAP** :Ferric reducing antioxydant power

**IC<sub>50</sub>** :Concentration inhibitrice à 50 %.

**A<sub>50</sub>** :Absorbance à 50 %.

**FeCl<sub>3</sub>** :Trichlorure de fer.

**I%** : Pourcentage d'inhibition

**TCA**: Acide trichloroacétique

**Mg EAG/ g E** : Milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait.

**Mg EQ/ g E** : Milligramme d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait.

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** : Carbonate de Sodium

**Min** : Minute

**nm** :Nanomètre

**Gen10**: Gentamicine 10 mg

**C°** : Degré Celsius.

# **Introduction**

---

## ***Introduction***

---

Depuis la plus haute antiquité, l'humanité a toujours utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de soulager, guérir toutes sortes de pathologies. Ces plantes ont l'aptitude de synthétiser de nombreux composés appelés métabolites secondaires, elles constituent donc un immense réservoir de composés d'une grande diversité chimique, possédant un large éventail d'activités biologiques. Ainsi, l'évaluation de ces activités demeure une tâche très intéressante qui peut faire l'intérêt de nombreuses études (**Jaccot et Campillo, 2003**).

La flore algérienne, avec ses différentes espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, reste très peu explorée tant sur le plan phytochimique que sur le plan pharmacologique (**Merzoug, 2009**). L'abondance en principes actifs confère à la plante des propriétés pharmacologiques remarquables, ce qui pourrait justifier ses multiples indications thérapeutiques et pour lesquelles elle est utilisée en tradi-thérapie (**Konkon et al., 2006**).

L'activité antioxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications, la plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydants augmente la multiplication mitochondriale de radicaux (**Girodon et al., 2010**). Les plantes produisent également des composés organiques ayant une activité antimicrobienne. Ces composés présentent un intérêt parce que la résistance aux antibiotiques est devenue un problème de santé publique dans le monde entier notamment en termes de maladies d'origine alimentaire et les infections nosocomiales (**Anderson et al., 2001**).

Dans ce contexte, ce travail est consacré à une étude phytochimique et à l'évaluation de l'activité antioxydant et l'activité antibactérienne des feuille la plante *Crocus sativus* récoltée de la région de Hassi Khalifa Willaya de El-oued.

*Crocus sativus* connu sous le nom de safran, appartenant à la famille des Iridacées, c'est une plante vivace largement cultivé dans différentes parties du monde, en particulier en Iran et Younan(**Esmaeili et al., 2010**).

Le safran ou "or rouge", est le produit alimentaire le plus cher au monde puisque vendue entre 30 et 40 euros de gramme(**Melnyk et al., 2010**). Le nom du safran est dérivé du mot arabe de zaafran signifiant « être jaune ». L'Iran est le principal producteur de safran sur le marché mondial, mais sa qualité n'est pas aussi bonne que celle du safran d'un autre fournisseur principal(**Caballero-Ortega et al., 2007**).

## *Introduction*

---

Notre travail a été divisé en trois parties : La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique qui regroupe deux chapitres dont le premier concerne généralité sur la plante étudiée et le deuxième chapitre est consacré aux métabolites secondaires. La deuxième partie décrit le matériel et les méthodes utilisées dans ce travail et les résultats obtenus et leur discussion qui porte sur :

- ✓ Les tests phytochimiques de feuille de la plante.
- ✓ Dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes.
- ✓ Évaluation de l'activité antioxydant par le piégeage du radical libre DPPH et Réduction du fer FRAP.
- ✓ Evaluation de l'activité antibactérienne.

Enfin, nous présenterons conclusion résumera l'ensemble du travail réalisé.

**Partie I :**

**Etude**

**bibliographique**

# Chapitre I .

---

## Généralité sur *Crocus* *sativus*

La phytothérapie correspond à des traitements ou la prévention des pathologies ou plusieurs symptômes par l'usage des plantes, elle fait partie des médecines parallèles ou des médecines douces (**Moulay, 2012**).

Les plantes médicinales sont des plantes utilisées pour ses propriétés thérapeutiques. Elles renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soigner ou soulager des maladies. Certaines plantes contenant toute une gamme de matières efficaces, peuvent avoir des actions très différentes suivant leur mode de préparation (**Baba, 2010**).

Certaines plantes sont inoffensives, mais d'autres, sont toxiques et ne sont utilisées que sous des formes bien Contrôlées, exclusivement commercialisées en pharmacie. L'emploi inconsidéré de plantes cueillies la nature peut aboutir à des intoxications graves, voir mortelles (**Azalenko, 2005**).

### **1. Présentation de la plante étudiée (*Crocus sativus*)**

"*Crocus Sativus*" est connu sous le nom de "safran" qui est dérivé de l'arabe "Zaeferân" dont la racine exprime une notion essentielle, la couleur jaune. Aussi, vient du Grec "krokus" qui veut dire "filament", par allusion aux stigmates de la plante. Le terme "sativus", quant à lui, signifie "cultivé", car le *Crocus sativus*, par sa reproduction végétative, ne peut se multiplier sans la main de l'homme. C'est une petite plante herbacée appartient à la famille des "Iridacées" et au genre "Crocus" (**Jan et al., 2014**).

Originaire des régions de Perse qui constituent aujourd'hui l'Iran, le safran est cultivé depuis des millénaires. Des recherches récentes font reculer ses origines à plus de 3000 ans avant notre ère dans la région de Santorin en Crête (**Ferrence et al., 2004**). Il traverse plusieurs sociétés, continents et civilisations (**Algrech, 2001**).

Classé dans la famille des épices, le safran découle de la culture de *Crocus sativus* qui est une variété de crocus domestique originaire du moyen orient. La fleur possède trois stigmates qui, avec le style sont séchés et utilisés en cuisine comme assaisonnement et agent colorant. C'est une épice rare et chère, Le crocus prospère sur des sols semi-arides ou arides, mais peut également être cultivé dans des environnements plus rigoureux (**Wink, 2010**).

Le safran est un géophyte herbacé pérenne dans la famille Iridacée, il se propage par voie végétative par corne, sa reproduction ne peut se multiplier sans la main de

l'homme (Lilia *et al.*, 2017). Le safran qui est tiré de la fleur de *Crocus sativus* par déshydratation de ses trois stigmates rouges, présente la précieuse épice qui suit le cours de l'or (Bouden et Kadri, 2019).

Le safran est connu comme l'épice la plus chère et la plus attrayante au monde lui a valu son surnom d'or rouge, pour les caractéristiques exceptionnelles de ces stigmates sec particulièrement le pouvoir colorant, la saveur et l'arôme (Figure 01 ) (Zakaria *et al.*, 2017).



**Figure 01 :** *Crocus sativus*(Sullivan, 2011).

## **2. Caractère botanique**

*Crocus sativus* est une herbacée vivace appartenant à la famille Iridaceae, la ligne de Liliaceae et du vaste genre *Crocus* qui comprend plus de 80 espèces de plantes bulbeuses de petites tailles. *Crocus sativus* est la seule espèce de *Crocus* produisant le safran (Pitsikas, 2016). La classification taxonomique de la série *C. sativus* est la suivante (Srivastava, 2010).

**Royaume :** plantae

**Division :** Spermatophyte

**Sous-division :** Angiosperme

**Classe :** Monocotylédone

**Sous-classe :** Liliidae

**Ordre :** Liliales

**Famille :** Iridaceae

**Genre :** *Crocus*

**Espèce :** *Crocus sativus*

Le *Crocus sativus* est une plante triploïde stérile appartenant à la famille des Iridacées (monocotylédones), herbacée, pérenne et vivace à floraison automnale inconnue à l'état sauvage (Rubio-Moraga *et al.*, 2009). C'est une plante à bulbe mesurant au plus 25 cm. La plante

comporte dix feuilles très étroites, dressées, creusées en gouttière, et qui apparaissent lors de la floraison ou après celle-ci .La tige des fleurs se lève d'une ampoule et est longue, tube blanc et mince ; La fleur elle-même étant grande et d'une belle Couleur violette. Feuilles radicales, linéaires, vert foncé ci-dessus, vert pâle Ci-dessous, enfermés dans une gaine membraneuse, restant parfois Frais presque tout l'hiver (Bhargava et al., 2011). La fleur est composée de 6 pétales, de 3 étamines jaunes et d'un pistil se divisant en 3 longs stigmates de couleur rouge vif brillant et velouté de 3 à 4 cm. Les stigmates ont un aspect brillant à l'ouverture de la fleur, fins à la base et plus larges à l'extrémité, très odorants et constituent le safran du commerce une fois desséchés. Le safran se développe à partir de ses bulbes. Le bulbe, aussi appelé corne, sont de petits globules bruns d'environ 4,5 centimètres de diamètre enveloppés dans une natte dense de fibres parallèles. Les cornes, qui ne survivent qu'une saison, doivent être divisés manuellement et cassés, puis replantés. Ils fourniront ainsi jusqu'à dix caïeux, qui produiront de nouvelles plantes. Le safran a un pollen stérile, et la fleur du *Crocus sativus* ne produit pas de graines viables ; sa multiplication végétative est propagée par les cornes, la plante étant dépendante de l'homme pour sa reproduction. On compte d'une à trois fleurs par bulbe et de deux à trois bulbes par plante (Figure 02 ) (Winterhalter et Straubinger, 2000).

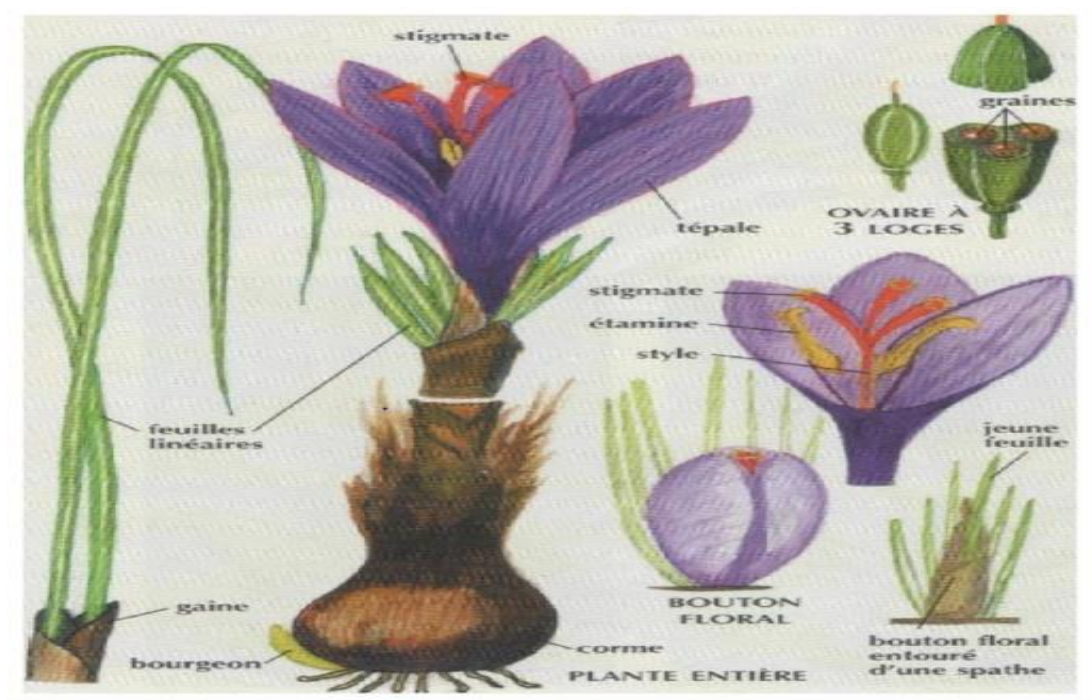
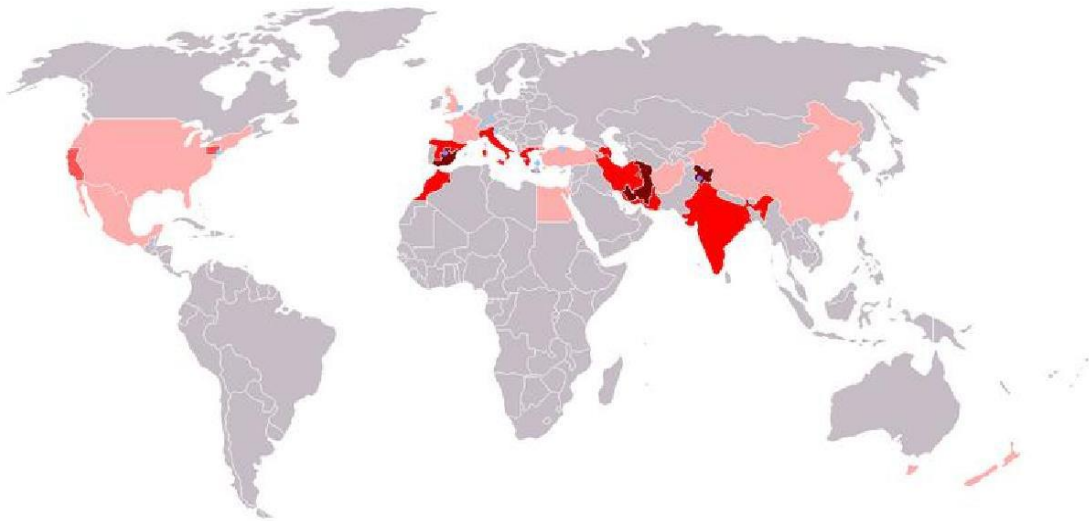


Figure 02: La morphologie de *Crocus Sativus* (Benayache et al., 2013).

### 3. Distribution Géographique

Les principales régions de culture sont : l'Iran (province du Khorasan), la Grèce (Macédoine), le Maroc (ville de Talouine) l'Espagne (Albacete, Alicante, La Mancha, Murcia), l'Inde (dans les massifs montagneux du Cachemire). Ces pays sont les premiers exportateurs mondiaux de safran. A plus petite échelle, on retrouve la France (Gâtinais, Quercy), le canton du Valais en Suisse, l'Italie, la région de Safran niolu en Turquie, l'Azerbaïdjan, la province de Baloutchistan au Pakistan, la Chine, le Japon et la Pennsylvanie aux Etats-Unis (**Figure 03**) (**Benayacheet al., 2013**).



**Figure 03:** principales nations productrices de safran (**Benayacheet al.,2013**).

### 4.Culture du safran

Le *Crocus sativus* possède une végétation inversée, c'est-à-dire que les feuilles de safran sortent de terre en septembre et la plante fleurit en octobre, puis se dessèche en mai de l'année suivante. C'est donc en automne, quand tous les autres végétaux s'endorment pour l'hiver, que le safran fleurit. Il entre en dormance au printemps et son feuillage disparaît complètement quand éclatent les bourgeons de la plupart des plantes. Le safran est une plante de jours courts, pouvant supporter des conditions climatiques très sévères, adaptée aux régions à hiver froid et été chaud et sec ; il peut résister à des températures inférieures à -10 °C ou supérieures à +40 °C durant plusieurs jours (**Chahine, 2014**).

Le safran pousse idéalement s'il est exposé directement à la lumière du Soleil, et s'accommode mal à l'ombre (**Deo, 2003**). Il préfère les sols argilo-calcaires friables, lâches, à basse densité, bien arrosés et drainés, ainsi qu'une forte teneur en matière

organique. Cependant, comme n'importe quel crocus de jardin, il s'accommode aussi des sols légèrement acides, supportant sans difficulté jusqu'à un pH de 6 (**Lachaud, 2012**). On utilise traditionnellement des parterres sur élevés pour favoriser un bon drainage. D'un point de vue historique, les sols étaient enrichis par l'application de près de 20 à 30 tonnes d'engrais organiques par hectare de terres. Après une période de dormance durant l'été, les cornes envoient leurs feuilles étroites et commencent à bourgeonner dès le début de l'automne. Mais c'est seulement au milieu de celui-ci que la plante commence à fleurir. La moisson des fleurs doit être très rapide : après leur floraison à l'aube, les fleurs fanent rapidement durant la journée). En outre, le safran fleurit dans une étroite fenêtre d'une à deux semaines (**Willard, 2001**). Il faut approximativement 150 fleurs pour obtenir 1g de safran sec. Pour produire 12 g de safran séché (72 g avant séchage), il faut près de 1kg de fleurs. En moyenne, une fleur fraîchement coupée fournit 0,03g de safran frais, ou 0,007g de safran sec (**Deo, 2003**).

La plantation a lieu de juillet à début septembre, les plantations tardives produisant moins de fleurs. Les cornes étant enterrés entre sept et quinze centimètres de profondeur. La profondeur et l'espacement, en corrélation avec le climat, sont deux facteurs critiques ayant un impact sur le rendement des plantes. Ainsi, les cornes plantées les plus profondément fournissent un safran de plus haute qualité, bien qu'ils produisent moins de bourgeons et de cornes fils. Sachant cela, les producteurs italiens ont déduit qu'une profondeur de quinze centimètres et un espacement de deux à trois centimètres entre les cornes favorisent le rendement en stigmates, tandis que les profondeurs de huit à dix centimètres optimisent la production de fleurs et de cornes (**Willard, 2001**). Les cornes du *Crocus sativus* ne survivent qu'une saison. Leur période d'activité se situe de septembre à mai pour ensuite entrer en dormance durant tout l'été. Chaque bulbe mère ne fleurit qu'une fois et engendre, avant de se dessécher, plusieurs petits bulbes ou bulbilles qui produiront de nouvelles plantes. Ils vont puiser leurs ressources dans le bulbe mère qui finira par mourir. Les nouveaux bulbes seront au nombre de 2 à 10; ils doivent être divisés manuellement, puis replantés. Ils grossissent tout au long de l'automne et ensuite vient la période de dormance (**Chahine, 2014**).

### **5.Récolte et rendement du safran**

Ce sont les stigmates orange vif de la fleur qui constituent le safran. Il faut environ 120 000 fleurs pour obtenir 1 kg de safran sec. La récolte étant entièrement manuelle, on comprendra que c'est la plus chère de toutes les épices. En début de floraison, en septembre ou

octobre, les fleurs sont coupées puis les stigmates sont prélevés et mis à sécher dans un local aéré. Ils sont ensuite conservés dans un bocal hermétique. Le rendement moyen d'un hectare de safran dépend des conditions du milieu et de l'âge de la safranière et peut atteindre plus de 10 kg/ha. La durée de stockage du safran est longue si les conditions de conservation sont optimales. La qualité du safran peut être maintenue durant plus de 3 ans. Comme c'est une épice hygroscopique, elle doit être conservée dans un endroit sec, à l'abri de la lumière et de l'air. L'utilisation des conteneurs en verre colorés ou opaques, fermés hermétiquement et placés dans un endroit sec constitue une bonne méthode de préservation de la qualité du safran (**Chahine, 2014**).

## **6. Compositions Chimiques**

Le safran contient par excès de 150 composés volatiles aromatiques (terpènes, alcools terpènes, esters...). Il possède également des composés actifs non volatiles : caroténoïdes, flavonoïdes (Quercitine et kaempferol), Zéanxanthine, Lycopène, Bêta carotènes et Polysaccharides. Parmi les caroténoïdes qui sont des composés non volatiles, il existe 3 métabolites secondaires : crocin et leurs dérivés, picrocrocin et le safranal (**Liakopoulou-Kyriakides et AKyriakidis, 2002**).

**Crocins (C<sub>44</sub>H<sub>64</sub>O<sub>24</sub>)**: sont des esters glucosyliques de la crocétine, solubles dans l'eau et sont responsables de la couleur jaune-orangée de l'épice.

**Picrocrocin (C<sub>16</sub>H<sub>26</sub>O<sub>7</sub>)**: c'est un glycoside et précurseur du safranal, responsable de la saveur et le goût amère de l'épice.

**Safranal (C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>O)**: c'est un composant principal de l'huile essentielle distillée, aldéhyde monoterpénique, responsable de l'odeur et l'arôme (**Kanakis, 2004 ; Srivastava et al., 2010**).

## **7. L'usage du safran**

### **7.1. En thérapeutique**

Depuis l'Antiquité, des vertus thérapeutiques ont été attribuées au safran : sédatif nerveux, stomachique, antispasmodique, diaphorétique, emménagogue, stimulant, antioxydant, anti-carcinogène, antidote, antidépresseur, anxiolytique, aphrodisiaque, analgésique, anti-ischémique et effet anti-inflammatoire, utilisent également dans certains traitement contre les affections sanguines, l'insomnie, la paralysie, les maladies cardiaques, les flatulences, les indigestions et maux d'estomac, la dysménorrhée, l'aménorrhée et divers désordres oculaires (**Rahimi, 2015**).

### 7.2. Anti-cancer et activité anti-tumorale

Les extraits de safran ont un effet anti tumoral *in vivo* et *in vitro*, contre plusieurs types de cancer dont : le cancer colorectal, le cancer hépatocellulaire et le cancer de la prostate. Dans les extraits de safran, les caroténoïdes sont les principes actifs. Les mécanismes anticancéreux du safran ne sont pas encore bien élucidés mais plusieurs activités ont été proposés dont : la promotion de l'apoptose, la réduction de la prolifération et de la synthèse d'ADN des cellules tumorales, la diminution de l'inflammation, la réduction du stress oxydatif et l'augmentation des enzymes antioxydants. Les extraits de safran s'avèrent non toxiques sur les cellules saines, mais sélectivement cytotoxiques pour les cellules cancéreuses. De plus, le safran possède une activité anti-mutagénique. La crocine, dérivée du safran dispose d'un effet inhibiteur puissant sur la formation des colonies cellulaires tumorales. Il a été démontré que le traitement par l'extrait de *Crocus sativus* prolonge significativement, jusqu'à presque trois fois, la durée de vie des souris traitées par la cisplatine (Chahine, 2014).

### 7.3. Anti-inflammatoire et analgésique

Le safran a longtemps fait partie des remèdes traditionnelles pour son action en tant qu'anti-inflammatoire et analgésique, il a soigné les otites, les douleurs anales, la goutte, les gonflements, les douleurs dentaires (Hosseinzadehet al., 2013). Les effets suppressifs du safran sont partiellement dus aux propriétés anti-inflammatoires de la crocine, du fait de son action d'inhibition de plusieurs cytokines et d'enzymes inflammatoires (Bathaeet al., 2013).

### 7.4. Anti Alzheimer

Le principal constituant caroténoïde, le trans-crocine-4, le digentibiosylester de la crocétine, a inhibé la fibrillogénèse A-beta formé par l'oxydation des fibrilles de bêta-peptide amyloïdes dans la maladie d'Alzheimer. L'extrait de *Crocus* à l'eau : méthanol (50 :50, v / v) Les stigmates de *sativus* ont inhibé la fibrillogénèse A-beta dans une concentration et une durée de vie constante à des concentrations inférieures à celles d'une autre diméthylcrocétine constitutive (Rahimi, 2015).

### 7.5. Pression sanguine

Les extraits aqueux et éthanol des pétales de *C. sativus* ont réduit la pression sanguine de manière dose-dépendante (Fatehiet al., 2003).

### 7.6. Effets sur le flux sanguin oculaire et la fonction rétinienne

Les analogues de la crocine isolés de *Crocus sativus* ont été révélés pour augmenter le flux sanguin par vasodilatation à la rétine et à la choroïde, facilitant également la récupération de la fonction rétinienne, empêchant ainsi la rétinopathie ischémique et la dégénérescence maculaire liée à l'âge qui entraîne une cécité (Bhargava, 2011).

**7.7.Effet sur le comportement d'apprentissage et la potentialisation à long terme**

L'extrait de safran et ses deux ingrédients principaux, la crocine et la crocétine ont permis d'améliorer la mémoire et les compétences d'apprentissage dans les troubles de l'apprentissage liés à l'éthanol chez les souris et les rats. L'administration orale de safran peut être utile dans le traitement de troubles neurodégénératifs et de troubles de la mémoire associés (**Rahimi, 2015**).

**7.8.Autres Utilisation****1. Safran Comme Teinture**

Les colorants et les vêtements colorés (pigment principal de safran sont l'a-crocin, un caroténoïde hydrosoluble). Le safran a été utilisé comme tache histologique, c'est-à-dire en tant que colorant pour le tissu conjonctif (**Srivastava et al., 2010**).

**2. Safran Comme Parfum**

Un composé agréablement odoriférant, safranal, se développe pendant le processus de séchage, probablement par une dissociation enzymatique ou thermique du composé amer, picrocrocin (**Srivastava et al., 2010**).

**3. Safran En Nourriture**

Il remplit les fonctions d'une épice, en ajoutant son arôme faible, délicat, sa saveur agréable et sa magnifique couleur jaune pour améliorer la palatabilité (**Srivastava et al., 2010**).

**4. Côté Cuisine**

Le safran est de plus en plus présent dans les cuisines. Il parfume avec subtilité viandes et poissons, légumes, riz et pâtes, rehausse la saveur des desserts et apporte une couleur exceptionnelle, jaune or, aux plats. Le safran ne révèle jamais ses saveurs instantanément : il a besoin d'infuser une demi-heure minimum pour développer ses arômes. L'infusion de safran dans un liquide acide (citron), du lait, de la crème fraîche, ou une sauce chaude, permet d'introduire l'épice dans un plat en fin de cuisson et de lui éviter ainsi la dégradation due à un long mijotage. Le safran ne supporte ni la friture, ni l'ébullition prolongée. L'acidité optimise son goût, les corps gras le fixent. Le safran peut être mélangé avec d'autres arômes et épices (thym, ail, anis, cannelle, gingembre), il va alors agir comme exhausteur de goût (**Chahine, 2014**).

# **Chapitre II .**

---

## **Généralité sur les métabolites secondaires**

Les métabolites secondaires, ils sont des substances qui produites par les plantes en tant que produits chimiques de défense (**Kabera et al., 2014 ; Kumar et al., 2014**). Ils sont considérés comme des sources uniques pour les additifs alimentaires des produits pharmaceutiques, des saveurs et d'autres valeurs industrielles (**Tiwari et Rana, 2015**). Leur absence ne cause pas de mauvais effets aux plantes. Ils comprennent les alcaloïdes, les phénoliques, les stéroïdes, les huiles essentielles, les lignines, les résines et les tanins, etc (**Kumar et al., 2014**).

Les métabolites secondaires sont des composés dérivés bio synthétiquement des métabolites primaires. Ils ne sont pas nécessaires à la croissance et au développement normal des plantes, et de plus, ne sont pas réalisés par des voies métaboliques communes. Dans le règne végétal, ils sont limités à l'occurrence et peuvent être limités à un genre, espèce ou famille de groupe taxonomique particulier. Les métabolites secondaires sont accumulés par les cellules végétales dans des quantités plus petites que les métabolites primaires. Ces métabolites secondaires sont synthétisés dans des cellules spécialisées à des stades de développement particuliers rendant l'extraction et la purification difficiles (**Kumar et al., 2014**).

## **1. Classification Des Métabolites Secondaires**

### **1.1. Composés Phénoliques**

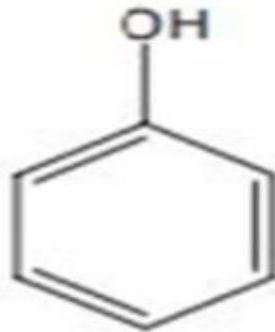
Les composés phénoliques constituent une des principales classes de métabolites secondaires (**Tapas et al., 2008**). Ils sont caractérisés par le fait d'avoir au moins un cycle aromatique avec un ou plusieurs groupes hydroxyle attachés directement à un cycle benzène. Ce sont des dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque, présents sous forme d'esters et de glycosides (**Sandhar et al., 2011**).

Les phénoliques constituent Plus de 8000 structures ont été signalées et elles sont largement dispersées dans tout le règne végétal ; et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogénèse, la germination des graines et la maturation des fruits. Ils sont des molécules biologiquement actives, ils sont largement utilisés en thérapeutique comme vasoconstricteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et antimicrobiens (**Djemai, 2008**).

## 1.2. Principales classes des composés phénolique

### 1.2.1. Acides Phénoliques

Les acides phénoliques sont des métabolites végétaux secondaires aromatiques largement répartis dans tout le règne végétal (**Saxena *et al.*, 2012**). Ils peuvent être divisés en deux groupes principaux, les acides hydrox benzoïques et hydrox cinnamiques, dérivés des molécules non phénoliques de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique, respectivement (**Heleno *et al.*, 2015**). Les acides benzoïques ont sept atomes de carbone (C6-C1) et sont les acides phénoliques les plus simples trouvés dans la nature. Les acides cinnamiques ont neuf atomes de carbone (C6-C3) (**Abdelrazag, 2013**). Les acides hydrox cinnamiques sont plus fréquents que les acides hydrox benzoïques et se composent principalement d'acides p- coumariques, caféins, feruliques et sinapiques ( **Figure 04**).



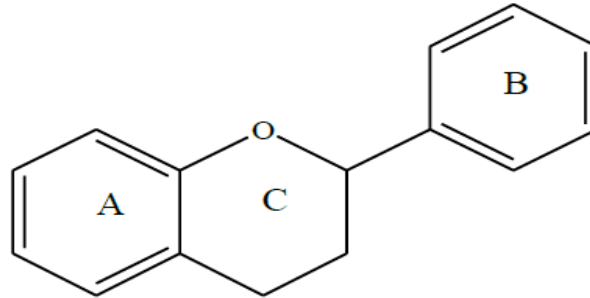
**Figure 04:** Structure de base des composés phénoliques (**Gervaise, 2004**).

### 1.2.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes (du latin flavus, jaune) sont des substances généralement colorées répondues chez les végétaux ; on les trouve dissoutes dans la vacuole à l'état d'hétérosides ou comme constituants de plastes particuliers, les chromoplastes (**Guignard, 2000**). Ces métabolites secondaires, sont reconnus comme les pigments qui colorent la plupart des fleurs, des fruits et des graines (**Ferreya *et al.*, 2012**).

En ce qui concerne la structure des flavonoïdes sont principalement formés un squelette à 15 atomes de carbone (C6-C3-C6), correspondant à la structure du diphenylpropane et des atomes de C15 composés de deux cycles aromatiques reliés par un cycle pyrane hétérocyclique :C6 (A et B) et

d'un cycle hétérocyclique (C) contenant un atome d'oxygène (**Figure 05**) (Collin, et Crouzet, 2011 ; Saxena *et al.*, 2012).



**Figure 05:** structure chimique des flavonoïdes (Belloum, 2007).

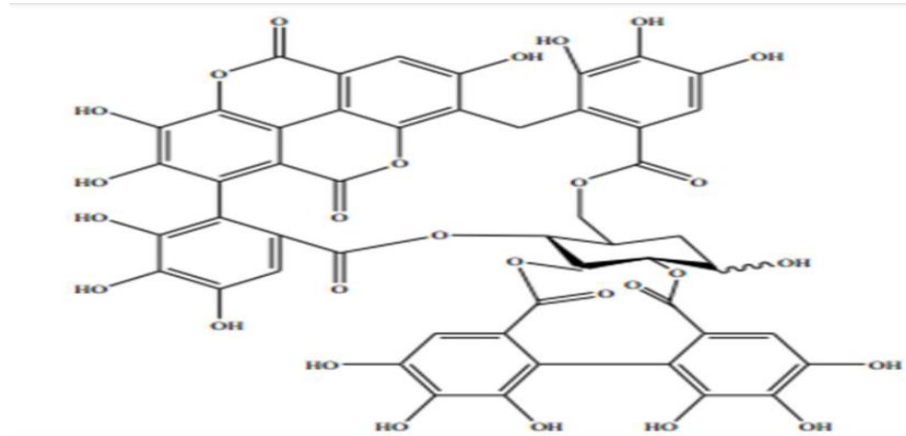
### 1.2. 3. tanins

Les tanins sont généralement définis comme des substances poly phénoliques solubles dans l'eau (20-35 ° C) et ont une capacité liée à des protéines qui forment des complexes insolubles ou solubles de tannin-protéine. En conséquence, des tanins capables de complexer avec des polysaccharides (cellulose, hémicelluloses et pectine) et des acides nucléiques, des stéroïdes, des alcaloïdes et des saponines (Hassanpour *et al.*, 2011).

On distingue habituellement, chez les végétaux supérieurs, deux groupes de tanins différents par leur structure aussi bien que par origine biogénique.

#### 1. Tanins hydrolysables

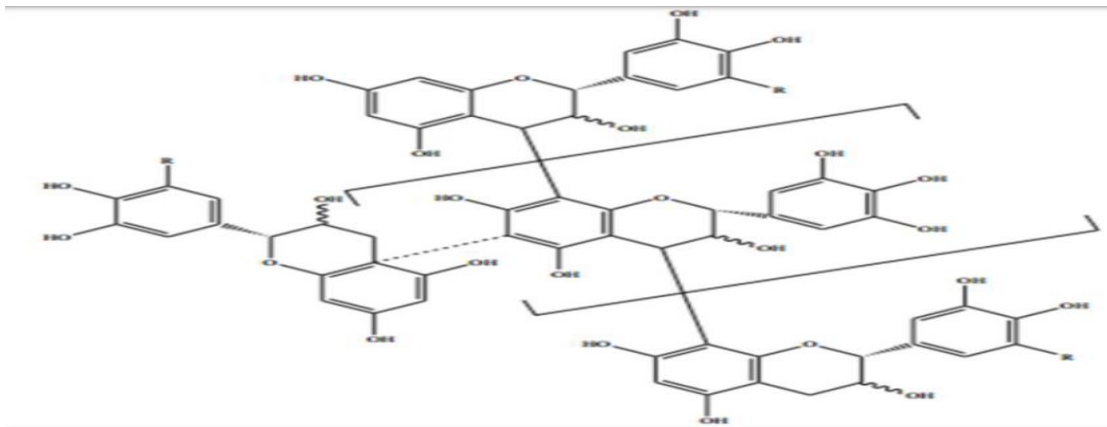
Les tanins hydrolysables (gallotannins et ellagitannins) sont des molécules qui contiennent un carbohydate, généralement du D-glucose, comme noyau central (Hassanpour *et al.*, 2011). Ils peuvent être dégradés par hydrolyse chimique (alcaline ou acide) ou enzymatique. Ils libèrent alors une partie non phénolique (souvent du glucose ou de l'acide quinique) et une partie phénolique qui peut être soit de l'acide gallique (cas des gallotannins) soit un dimère de ce même acide, l'acide ellagique (cas des tannins ellagiques ou ellagitannins) (**Figure 06**) (Macheix *et al.*, 2005).



**Figure 06:** Structure générale de tanins hydrolysables (Makkar, 2003).

## 2. Tanins condensés

Les tanins condensés : appelés aussi pro anthocyanidine, sont largement répandus dans l'alimentation humaine. Ces tanins sont des oligomères ou polymères de flavan-3-ols qui ont la propriété de libérer des anthocyanes en milieu acide à chaud par rupture de la liaison inter monomérique (**Figure 07**) (Sour, 2016).

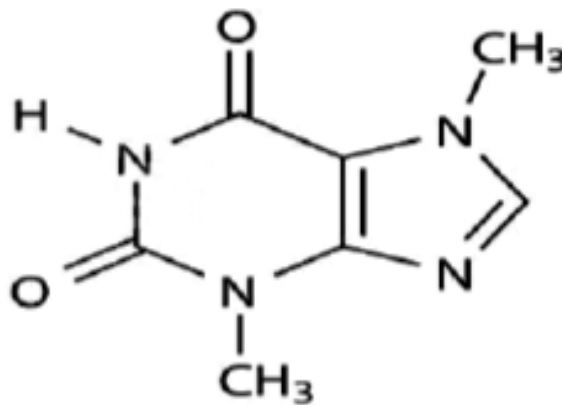


**Figure 07:** Structure générale de tanins condensés (Makkar, 2003).

### 1.2.4. Alcaloïdes

Les alcaloïdes constituent une classe importante de composés structurés diversifiés qui ont l'atome d'azote dans le noyau hétérocyclique et qui sont dérivés des acides aminés. Le terme « alcaloïdes » a été inventé par le chimiste allemand Carl F. W. Meissner en 1819 et le mot est dérivé du nom arabe al-kaly qui est lié à la plante dont la soude a été isolée en premier. Environ 10-15% des plantes

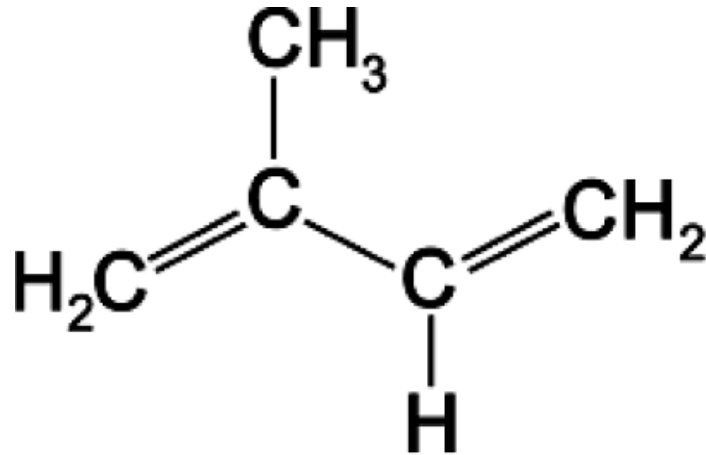
vasculaires synthétisent des alcaloïdes. Les familles qui ont une tendance marquée à synthétiser des alcaloïdes se rencontrent aussi bien chez les monocotylédones que chez les dicotylédones. Le plus souvent, les alcaloïdes se trouvent dans les plantes sous la forme de sels d'acides organiques solubles dans l'eau. Les alcaloïdes ont profondément influencé l'histoire humaine en raison de leur large éventail d'effets physiologiques sur les animaux et de propriétés pharmacologiques telles que les antibiotiques, les anticancéreux et leur exploitation potentielle comme stupéfiants, poisons et stimulants. Jusqu'à ce jour, environ 12 000 alcaloïdes sont isolés de différents genres de règnes végétaux (**Figure 08**) (**Kaur et Arora, 2015**).



**Figure 08** : Structures chimiques de alcaloïdes (**Bruneton, 2009**).

### 1.2. 5. Terpénoïdes

Les terpénoïdes composés d'unités «isoprénoïdes» constituent l'un des plus importants groupes de produits naturels, représentant plus de 40 000 composés individuels, et plusieurs nouveaux composés sont découverts chaque année. La plupart des terpénoïdes sont d'origine végétale ; Cependant, ils sont également synthétisés par d'autres organismes, tels que des bactéries et des levures, dans le cadre du métabolisme primaire ou secondaire (**Thoppil et Bishayee, 2011**). Les terpènes sont subdivisés, selon le nombre d'entités isoprène qui sont incorporés dans leurs structures, en monoterpènes (C<sub>10</sub>), sesquiterpènes (C<sub>15</sub>), diterpènes (C<sub>20</sub>), sesterpènes (C<sub>25</sub>), triterpènes (C<sub>30</sub>) (**Figure 09**) (**Kabouche, 2005**).



**Figure 09** : Structure chimiques diterpénoïdes (**Hopkins, 2003**).

### 1.2.6. Saponosides

Les saponosides ou saponines (du mot latin *sapo* est signifié savon), ont reçu leur nom du fait qu'elles produisent une mousse semblable à celle du savon (**Hart *et al.*, 2008**). Ces sont des glycosides terpéniques, ayant un poids moléculaires élevé. Elles se composent d'une fraction aglycone hydrophobe (un noyau stéroïdique ou triterpénique) liée à une chaîne mono ou polysaccharidique hydrophile (**Wallace, 2004**).

Les saponosides ont des propriétés physicochimiques (émulsification, solubilisation,) et biologiques (antioxydant, antimicrobien, hémolytique,...), elles ont utilisés dans l'industrie pharmaceutique, cosmétique et dans la nourriture (**Justin *et al.*, 2014**).

### 1.2.7. Anthraquinones

Les anthraquinones sont des principes assez fréquents chez les Rubiaceae. Elles appartiennent à la famille des anthracénosides et existent dans les plantes à l'état de génine libre ou sous forme d'hétéroside. Ces composés sont constitués de trois cycles accolés, dont un des cycles est le plus souvent oxydé (**Figure 10**). Les cycles benzéniques peuvent porter une ou plusieurs fonctions hydroxyles, carboxyles, méthyles, méthoxyles, hydroxyméthyles et former des O-hétérosides avec différents sucres **Figure 10**(**Bertille,2011**).

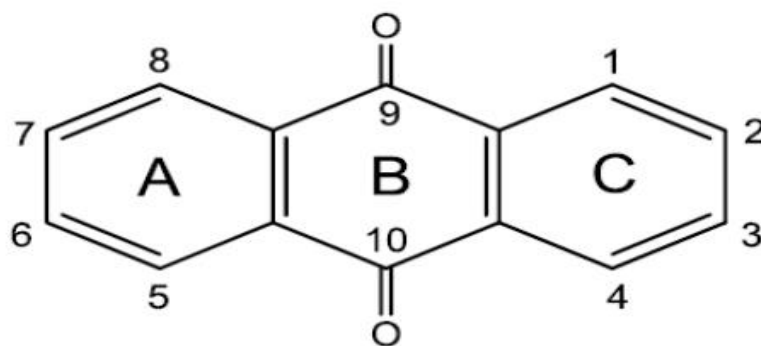


Figure 10 : Structure chimiques de Anthraquinones (Bertille, 2011).

**Partie II:**

**Etude**

**Expérimentale**

# Chapitre I.

---

## Matériel et Méthode

## I. Matériel

### I. 1. Matériel biologique

#### I.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé au cours de notre étude, est les feuilles de *Crocus sativus* (**Figure11**) Les feuilles sont récoltées au Décembre 2020 à partir la région d'Hassi Khalifa, Wilaya El-oued(sud-est d'Algérie). Les feuilles ont été séchées à l'air libre et à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 36 jours, puis broyées à l'aide d'un broyeur électrique et conservées à sec dans des boîtes en verre, à température ambiante et à l'abri de la lumière.



**Figure11** : les feuilles de *Crocus sativus*

#### I.1.2. Bactéries

##### 1. Staphylococcus aureus (ATCC 6538)

Ce sont des cocci Gram positif appartenant à la famille des Micrococcaceæ avec un diamètre de 0.5 à 1.5  $\mu\text{m}$ , de forme non sporulée qui tendent à se grouper en paires et en petites chaînes et habituellement non capsulée ou possédant des capsules limitées. Elles sont anaérobies facultatives. Staphylococcus aureus représente l'agent commun des infections postopératoires de blessures, endocardite aigue et intoxication alimentaire (**Dworkin et Falkow,2006**).

##### 2. Pseudomonas aeruginosa (ATCC 9027)

Ce sont des bacilles Gram négatif, de forme non sporulée, elles sont aérobies et mobiles grâce à la présence de 1 à 2 flagelles. Ces bactéries synthétisent deux principaux types de pigments pyocyanine : bleue phénazine, pyoverdine: jaune vert. Il s'agit de bactéries résistantes à plusieurs antibiotiques(**Percival et al.,2004** ).

### 3. *Bacillus subtilis* (ATCC 6633)

Ce sont Gram négatif, largement présente dans la nature, elle fait également partie de la flore intestinale microbienne, et peut être utilisé sans aucun problème dans les laboratoires d'analyse (Danja, 2016).

### I.2. Matériel non biologique

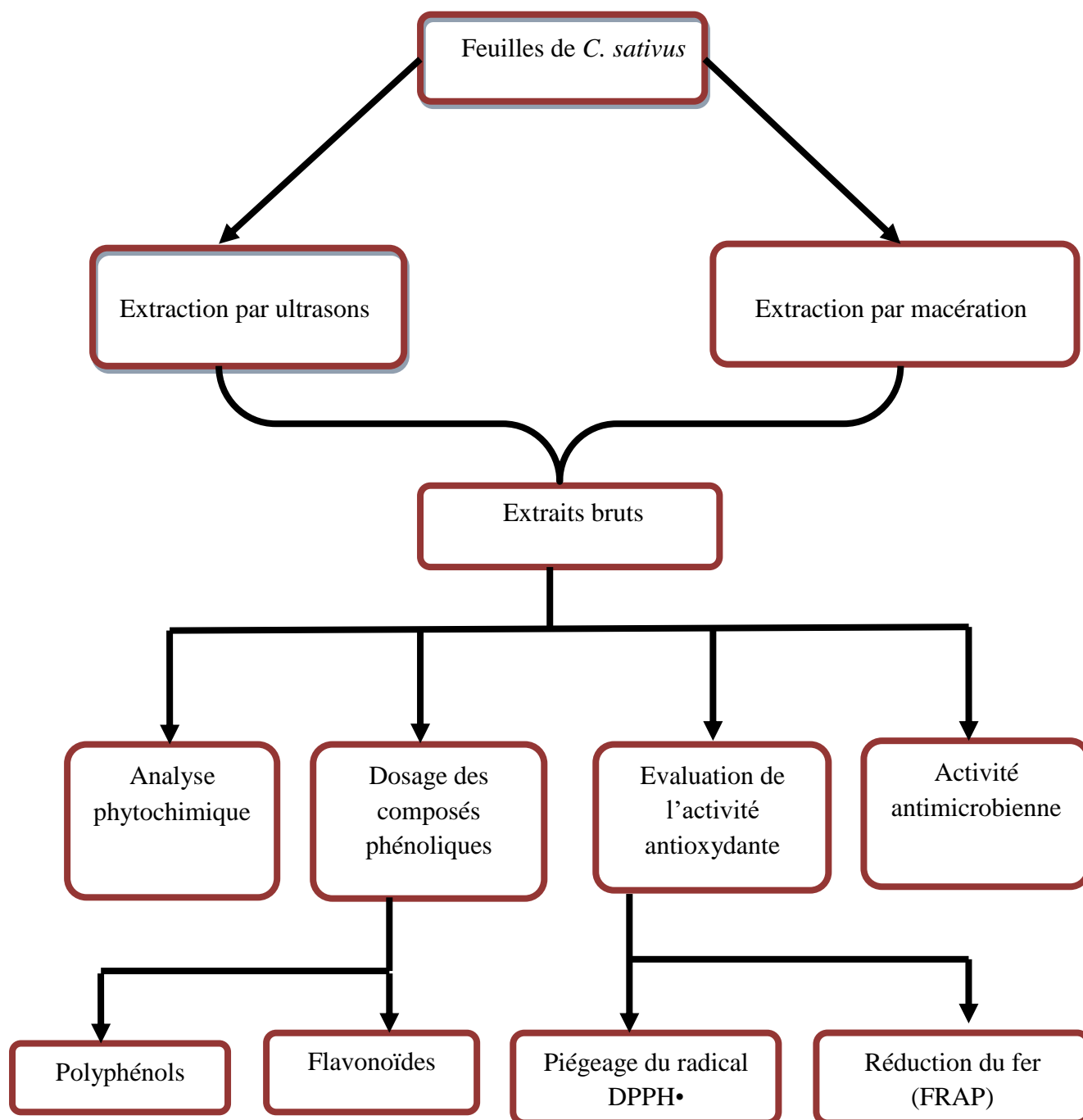
Les matériels non biologiques utilisé durant cette étude sont résumés dans le **tableau 1**.

**Tableau1:** Liste des matériels non biologiques utilisé pendant de travail.

Réactifs et produits chimiques	Appareils
Acide Ascorbique (Vitamine C)	
Acide Sulfurique	
AlCl <sub>3</sub> 2%	
Chloroforme	
Copeaux De Magnésium	
DMSO	
DPPH	
Ethanol	
FeCl <sub>3</sub> 1%	Agitateur magnétique
FeCl <sub>3</sub> 2%	Autoclave
Ferricyanide De Potassium	Bain Marie
Gélose Mueller-Hinton	Etuve
HCL	Spectrophotomètre
L'eau Physiologique	
Méthanol	
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> 7.5 %	
NH <sub>4</sub> OH	
Réactif De Folin-Ciocalteu	
Réactifs De Mayer	
TCA	
Tampon phosphate pH 6,6	

## II. Méthodes

Notre étude expérimentale a été réalisée au sein du laboratoire "n°12 toxicologie", Au Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Université de El-oued. Nous avons suivi les étapes mentionnées dans la **Figure 13**.



**Figure12** : Schéma résumant le protocole utilisé

## II.1. Préparation des extraits

### 1. Extraction par Macération

La macération (extraction solide-liquide) est une opération qui consiste à laisser séjourner la matière végétale (broyat) dans l'éthanol aqueux pour extraire les principes actifs (composés phénoliques et flavonoïdes). Cette méthode d'extraction a été effectuée selon le protocole décrit par (Vuorela, 2005).

Les feuilles séchées (1,5 g) sont soumises à une extraction par macérations successives utilisant (45 ml) de solution hydro-alcoolique (éthanol-eau : 8/2). Les Feuilles sont macérées pendant 24 heures à la température ambiante du laboratoire et à l'abri de la lumière et répétée trois fois. Après chaque macération l'ensemble est filtré sur du papier filtre. Les filtrats sont évaporés grâce à dans Etuve pour obtenir des extraits secs.

### 2. Extraction par ultrasons

L'extraction par sonication est une méthode simple, efficace et peu couteuse, car il est facile de la réaliser dans des équipements de laboratoire communs (bains à ultrasons). L'échantillon broyé est mélangé avec le solvant approprié dans un récipient et placé dans un bain à ultrasons, où la température de travail et le temps d'extraction sont réglés (D'Alessandro *et al.*, 2014).

Les feuilles séchées (1 g) ont placé dans un erlenmeyer de 100 ml avec 2 ml d'eau distillée et 8 ml éthanol, sous agitation et placé dans un bain thermostaté à 30°C pendant 15 min et répétée trois fois. Filtré sur du papier filtre. Les filtrats sont évaporés grâce à dans Etuve pour obtenir des extraits secs.

### 3. Rendement des extraits secs

Calcul du rendement des extraits : Le rendement en pourcentage de la plante en extrait sec a été calculé par la formule :

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

- R(%) : rendement en pourcentage.
- M : masse en gramme de l'extrait sec obtenu après évaporation du solvant d'extraction.
- M<sub>0</sub> : masse en gramme du matériel végétale sèche initiale.

## **II.2. Tests phytochimiques**

Nos études ont porté sur la recherche des principaux groupes chimiques (polyphénols, alcaloïdes, tanins, flavonoïdes, anthraquinones, terpénoïdes, saponines) par des réactions en tubes. Afin de mettre en évidence la présence ou l'absence de certains composés appartenant aux familles chimiques des métabolites secondaires, nous avons réalisé des tests phytochimiques spécifiques fondés sur des réactions de coloration, de turbidité ou de précipitations, par des réactions en tubes (**Halla, 2016**).

### **1. Polyphénols**

Dans un tube à essai, introduire 0,5 ml d'extrait à analyser et ajouter quelques gouttes solution aqueuse de FeCl<sub>3</sub> à 2 %. La présence des polyphénols est indiquée par une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre (**Habibou et al., 2018**).

### **2. Flavonoïdes**

Dans un tube à essai, ajouter 0,5 ml d'extrait et ajouter 0,5 ml de l'acide chlorhydrique concentré (HCl) et quelques copeaux de magnésium. L'apparition d'une coloration rose, rouge ou jaune révèle la présence des flavonoïdes (**Najjaa et al., 2011**).

### **3. Alcaloïdes**

Dans un tube à essai, introduire 0,5 ml de l'extrait et ajouter quelques gouttes de HCl et ajouter 0,5 ml de réactif de Mayer dans l'apparition d'un précipité blanc ou brun respectivement révèle la présence des alcaloïdes (**Habibou et al., 2018**).

### **4. Tanins**

Dans un tube à essai, introduire 0,5 ml d'extrait et ajouter 0,25 ml d'une solution aqueuse de FeCl<sub>3</sub> à 1 %. La présence des tanins est indiquée par une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre (**Dohou et al., 2003**).

### **5. Anthraquinones**

Dans un tube à essai, ajouter 0,5 ml de l'extrait et ajouter 1 ml de NH<sub>4</sub>OH (10%) puis agiter. Une coloration violette indique la présence des anthraquinones (**Catier et Roux, 2007**).

## 6. Terpénoïdes

Dans un tube à essai, ajouter 0,5 ml de l'extrait et ajouter 0,4ml de chloroforme et 0,6 ml d'acide sulfurique. La formation d'un anneau marron-rouge à l'interphase indique la présence des terpénoïdes (**Bhat et al., 2005**).

## 7.Saponines

Dans un tube à essai, introduire 5 ml d'extrait et agité pendant 15 secondes puis laissé le mélange au repos pendant 15min. Une hauteur de mousse persistante supérieure à 1cm indique la présence des saponines (**Koffi,2009**).

## II.3.Dosage des composés phénoliques

Les analyses quantitatives des polyphénols totaux et des flavonoïdes des différents extraits sont déterminées à partir des équations de la régression linéaire des courbes d'étalonnage et exprimées en mg équivalent par g de la matière végétale sèche (**Abudunia, 2018**).

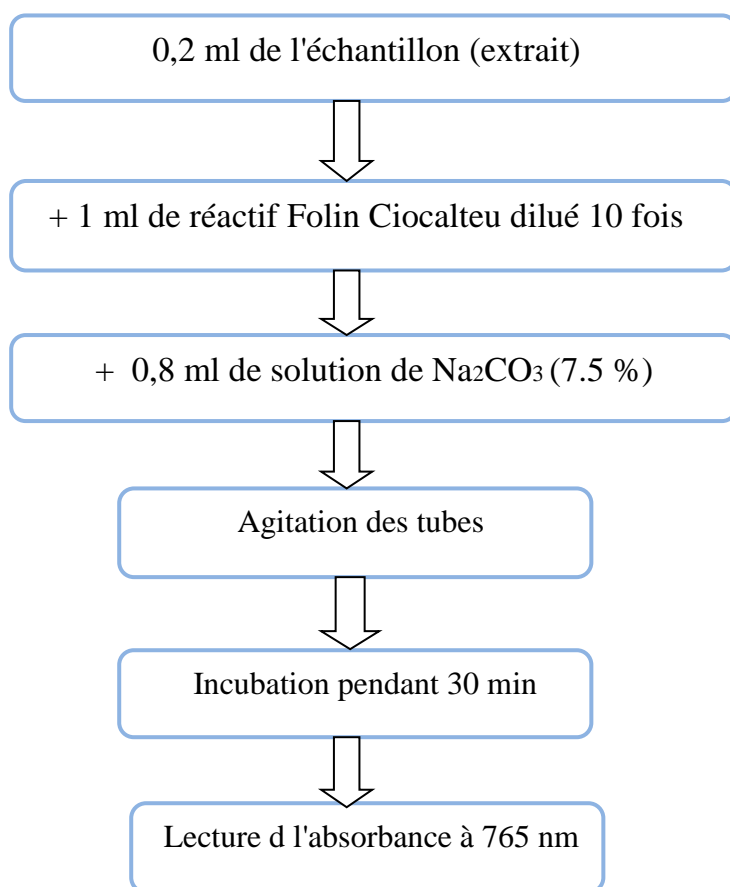
### 1. Dosage des polyphénols totaux

#### 1.1. Principe

Le réactif utilisé est le réactif de Folin-Ciocalteu, c'est un mélange de complexe des acides phosphotungstène ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et phosphomolybdène ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ) de couleur jaune. Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques par ceréactif, elle entraîne la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleu qui absorbe à 760 nm, le dosage de polyphénols est effectué par la comparaison de la D.O observé à celle obtenus par un étalon d'acide gallique de concentration connue(**Muanda, 2010**).

#### 1.2. Mode opératoire

Dans un tube à essai, introduire 0,2 ml d'extrait avec 0,8 ml d'une solution de carbonate de sodium ( $Na_2CO_3$ ) à 7.5% avec 1ml de réactif de Folin-Ciocalteu (1N) diluant. Les tubes sont agités puis ensuite incubés pendant 30 min à température ambiante .La lecture des densités optiques est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre contre un blanc à 765 nm. Les expériences sont répétées en 3 fois (**Figure14**).



**Figure13:** Protocole du dosage des polyphénols totaux

### 1.3. Expression des résultats

La quantification des polyphénols a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire  $y = a x + b$  réalisé par un standard étalon « acide gallique » à différentes concentrations et exprimée en microgrammes d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (mg EAG/mg d'extrait).

## 2. Dosages des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes des extraits a été déterminée en utilisant la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) (Yahiaoui *et al.*, 2018).

### 2.1. Principe

Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes et la soude forme un complexe de couleur rose absorbe dans le visible à 510 nm (Hireche *et al.*, 2013).

## 2.2. Mode opératoire

Le dosage des flavonoïdes et les étalons de quercétine a été réalisé selon la méthode de (Djeridane *et al.*, 2006), 0,5 ml de l'échantillon mélangé avec 0,5 ml  $AlCl_3$  à 2%, après incubation de 1h à température ambiante, l'absorbance de l'échantillon est mesurée à 420 nm par rapport au blanc préparé de réactif. Chaque analyse est répétée trois fois (Figure15).

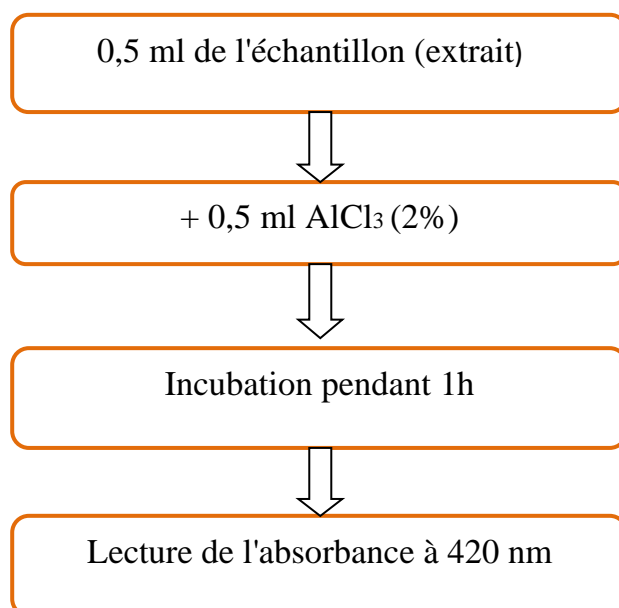


Figure14: Protocole du dosage des flavonoïdes

## 2.3. Expression des résultats

La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire  $y = a x + b$  réalisé par un standard étalon « la Quercétine » à différentes concentrations et exprimée en microgrammes d'équivalents de la Quercétine par milligramme d'extrait (mg EQ/mg d'extrait).

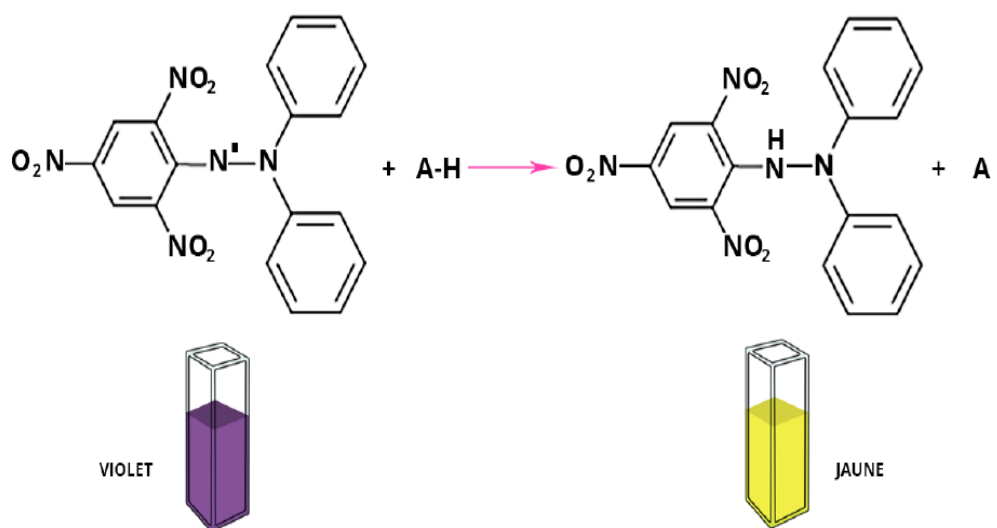
## II.4. Evaluation de l'activité antioxydant

Plusieurs méthodes sont disponibles pour évaluer, *in vitro*, l'activité antioxydant des huiles essentielles, des composés phénoliques, des aliments et des systèmes biologiques. La plupart de ces méthodes sont basées sur la coloration ou la décoloration d'un réactif dans un milieu réactionnel. La méthode du piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazil) est la plus simple à réaliser *in vitro* (Hammoudi *et al.*, 2012).

### II.4.1. Test de piégeage du radical libre DPPH (2,2 diphenyl-Picrylhydrazyl)

#### 1-Principe

Le DPPH (2,2 diphenyl-1-picryl hydrazyl) est un radical stable qui possède un électron célibataire sur l'atome d'azote, caractérisé par une couleur violette et un pic d'absorption spectral maximal à 517nm. En présence d'antioxydant l'électron célibataire devient apparié, ce qui conduit à la décoloration de DPPH du violet (forme radicalaire DPPH $\cdot$ ) au jaune (forme réduite DPPH-H) (**Figure16**) (**Malki, 2017**).



**Figure 15** : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH $\cdot$  entre l'espèce radicalaire DPPH $\cdot$  et un antioxydant (**Fettah, 2019**).

#### 2. Préparation de dilutions d'extrait

Des dilutions dans méthanol va préparer à partir de l'extrait brute (solution mère 20 mg/ml) pour différentes concentrations de 10mg/ml, 7,5 mg/ml, 5 mg/ml, 2,5 mg/ml, 1mg/ml, 0,5 mg/ml.

#### 3. Mode opératoire

L'activité de la réduction du radical DPPH a été mesurée selon le protocole suivant :

- ✓ Dans un Erlenmeyer Une solution mère de DPPH a été préparée par solubilisation de 2,4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol Ensuite, nous le mettons dans un agitateur magnétique. Pendant 30 minutes à vitesse moyenne.
- ✓ Dans tubes on ajoute 1950  $\mu$ l de la solution du DPPH $\cdot$  et on ajoute 50  $\mu$ l pour extrait à différentes concentrations.

- ✓ Les expériences sont répétées en 3 fois.
- ✓ Préparation du tube control : 50 µl du méthanol avec 1950 µl de la solution du DPPH.
- ✓ Incubation les tubes pendant 15 min à température ambiante et à l'obscurité.
- ✓ Mesure de l'absorbance à 517 nm au spectrophotomètre.

#### 4. Expression des résultats

Les résultats peuvent être exprimés en tant que l'activité anti-radicalaire où l'inhibition des radicaux libres en pourcentages (%) en utilisant la formule suivante:

$$\text{DPPH(\%)} = [ (\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}) / \text{Abs contrôle} ] \times 100$$

- **Abs contrôle** : absorbance en absence de l'inhibiteur (contrôle négative)
- **Abs échantillon** : absorbance en présence de l'inhibiteur (échantillon)

L'étude de la variation de l'activité anti radicalaire en fonction de la concentration des extraits, permet de déterminer la concentration qui correspond à 50% d'inhibition ( $IC_{50}$ ), une faible valeur de la  $IC_{50}$  correspondant à une grande efficacité de l'extrait. Le calcul des  $IC_{50}$  a été réalisé graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés ; pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées. La valeur de la  $IC_{50}$  est exprimée en mg/ml (3 répétitions pour chaque concentration) (Fettah, 2019).

#### II.4.2. Réduction du fer par la méthode FRAP (*Ferric reducing antioxidant power*)

##### 1-Principe

La méthode FRAP est basée sur la réaction de réduction de fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ) présent dans le complexe  $K_3Fe(CN)_6$  en fer ferreux ( $Fe^{2+}$ ) par un antioxydant, la réaction est révélée par le virement de la couleur jaune du fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ) à la couleur bleue - vert du fer ferreux ( $Fe^{2+}$ ). L'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotométrie à 700 nm (Figure 17) (Bakli *et al.*, 2018).

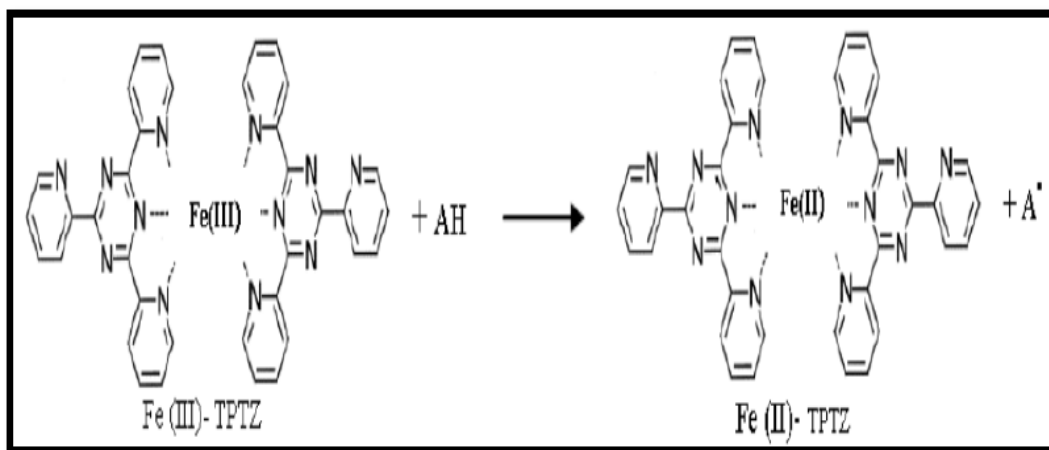


Figure16 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP (Bakli *et al.*, 2018).

## 2. Préparation de dilutions d'extrait

Des dilutions dans méthanol va préparer à partir de l'extrait brute (solution mère 60 mg/ml) pour différentes concentrations de 10mg/ml, 7,5 mg/ml, 5 mg/ml, 2,5 mg/ml, 1mg/ml, 0,5 mg/ml.

## 3. Mode opératoire

Nous avons suivi la technique de (Bakli *et al.*, 2018), qui consiste à prélever 0,250 ml des extraits à différentes concentrations et avec 0,625 ml d'une solution tampon phosphate à (pH 6,6) et 0,625 ml d'une solution de ferricyanure de potassium  $K_3Fe(CN)_6$  à 1%. Le tout est incubé à 50°C pendant 20 min, puis refroidi à la température ambiante. 0,625 ml d'acide trichloracétique sont ajoutés pour stopper la réaction. 0,625ml les mélangeur sont ajoutés à 0,625ml d'eau distillée et 0,125ml d'une solution de chlorure de fer ( $FeCl_3, 6H_2O$ ) à 1%. La lecture des absorbances se fait par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 700nm.

## II.5.Evaluation de l'activité antimicrobienne

Afin d'évaluer l'activité antimicrobienne d'extrait éthanol, nous avons utilisé la méthode de diffusion en milieu gélosé (méthodes des disques), dont le principe est la détermination de la sensibilité ou la résistance des souches microbiennes vis-à-vis des différents extraits (Boudjouref, 2011).

### II.5.1. Milieux de Culture

Le milieu de culture utilisé pour la réalisation des tests antimicrobiens est la gélose de Mueller Hinton pour l'étude de la sensibilité des bactéries.

**II.5.2. Revivification des souches bactériennes**

La revivification des souches est une étape nécessaire avant leur utilisation car leur activité biologique est nulle. Donc, elle a pour but l'obtention d'une culture jeune et pure. Elle consiste à ensemençer en stries la surface de la gélose nutritive préalablement coulée et solidifiée dans les boîtes de Pétri quelques colonies des souches conservées. Les boîtes de Pétri renfermant chacune une souche de bactérie sont incubées à 37°C pendant 24 h.

**II.5.3. préparation des dilutions**

A partir des cultures jeunes préparées, on prélève quelques colonies des bactéries dans 5 ml d'eau physiologique stérile. On agite ensuite les tubes au vortex pendant quelques secondes.

**II.5.4. Préparation des milieux de culture avec des suspensions bactériennes**

Cette étape consiste à liquéfier le milieu de culture Mueller-Hilton dans un bain marie, puis, on coule aseptiquement les milieux en surfusion dans des boîtes de Pétri à 4 mm par boîte. On laisse refroidir et solidifier sur la paillasse puis, on réalise l'ensemencement par écouvillonnage à l'aide d'un coton-tige stérile contenue des suspensions microbiennes et on verse en tournant la boîte (**Joly et Reynaud, 2003**).

**II.5.5. Procédure**

Les disques stériles sont imprégnés de différentes solutions d'extrait préalablement dissouts dans le diméthylsulfoxyde (DMSO). À l'aide d'une pince stérile les disques sont déposés à la surface. Après diffusion, les boîtes sont incubées pendant 24 heures à 37 °C. Après l'incubation l'effet d'extrait se traduit par l'apparition autour de disque d'une zone circulaire transparente (en mm). Plus le diamètre de cette zone est grand plus la souche est sensible.

**II.6. Analyse statistique**

Les données expérimentales obtenues du dosage et de l'évaluation des activités biologiques ont été exprimées par une moyenne et plus ou moins l'écart type a été déterminé en utilisant l'Excel 2007.

# **Chapitre II.**

---

## **Résultats et Discussion**

Ces derniers temps, l'évaluation des plantes médicinales pour leurs activités biologiques a augmenté considérablement en Algérie. Cela montre que les molécules isolées à partir des plantes médicinales sont certainement intéressantes pour être utilisées en thérapie alternative ou comme modèle pour la synthèse de nouvelles substances. Les plantes médicinales restent une source fiable des principes actifs connus pour leurs propriétés thérapeutiques (**Houghton, 2000**).

### 1. Rendements d'extractions

La préparation des extraits éthanoliques de la plante étudiée (*Crocus sativus*) a été réalisées en utilisant deux méthode (macération et ultrason). Les différents rendements obtenus, sont reportés dans le tableau 2.

**Tableau 2 :** Rendement des extraites

Méthodes d'extraction	Rendements (%)
macération	22
ultrason	20

Les extractions des différents composés les plus abondants dans notre plante nous ont permis de calculer le rendement des extraits, eau/méthanol. Les résultats obtenus pour les extraits montrent que le rendement le plus élevé a été obtenu dans l'extrait des feuilles par macération égal 22%.

D'après l'étude de **Marref, (2019)** le rendement d'extrait méthanolique des feuille de *Gladiolus segetum* de la même famille (Iridaceae) par macération égal 7,5 %, cette valeur est faible par rapport à notre résultats Cette différence explique par :La quantité de masse sèche de départ et probablement à la nature et la polarité des solvants utilisés pour l'extraction et la diffusion du solvant dans la poudre des plantes dans l'étape de macération (**Barroso et al., 2014**). et des propriétés chimiques des molécules à extraire (**Michel et al., 2012**).

En raison des conditions de stockage de plante, Degré de maturité, situation géographique (**De Santis et al., 2018**), Les conditions climatiques de la région, le temps d'extraction, le degré d'agitation Parce que de nombreux composés végétaux sont affectés par des facteurs externes tels que la lumière et la température (**Bouckouka, 2016**).

Activité physiologique de la plante pendant ses stades de croissance, après avoir augmenté la production ou transformé un composé chimique en un autre composé, car cela affecte le rendement (Ebrahimi *et al.*, 2008). En plus de l'exposition des plantes à divers stress, qui jouent un rôle dans le changement de la nature et de la qualité du composant produits en quantité et qualité (Hadj Hammou *et al.*, 2019).

## 2. Tests phytochimiques

Les tests phytochimique que nous avons réalisé, nous ont permis de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires dans notre plante (*Crocus sativus*). La détection de ces composés chimiques est basée sur des essais de solubilités des constituants, des réactions de précipitation, un changement de couleur spécifique. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 3.

**Tableau 3:** Résultats des tests phytochimique des feuilles de *Crocus sativus*.

Métabolites testés	Résultats macération	Résultats ultrason
polyphénols	+	+
Flavonoïdes	+	+
Tanins	+	+
Alcaloïdes	+	+
Anthraquinones	-	-
Terpénoïdes	+	+
Saponosides	-	-

(-) : absence(+) : présence

Les résultats des tests phytochimiques des extraits éthanoliques des feuilles *Crocus sativus* ont révélés la présence tanins, flavonoïdes, alcaloïdes, terpénoïdes et polyphénols. Ces résultats sont en accord avec les résultats de Kaššák, (2014) qui est montré la présence, flavonoïdes, tanins, terpénoïdes et polyphénols mais absences alcaloïdes et tanins.

De plus, l'analyse phytochimique faite par Marref, (2019) sur l'extrait méthanolique des feuilles de *Gladiolus segetum* de la même famille (Iridaceae) montre la présence des polyphénols, flavonoïdes, terpénoïdes et anthraquinones et absences alcaloïdes et tanins ces résultats ont montré une légère différence avec nos résultats.

Le criblage phytochimique réalisé par **Hoang et al.,(2020)** a montré que l'extrait méthanolique des feuilles *Iris sp* contient des polyphénols, flavonoïdes, stéroïdes, terpenoïdes et anthraquinones et absences alcaloïdes et tanins ces résultats diffèrent à nos résultats.

Cette différence dans tests phytochimiques s'explique par les méthodes d'extraction et leur séparation des tissus végétaux Et des produits naturels extraits de plantes(**Arnason et al., 2013**). L'absence de certains composés (alcaloïdes et tanins) dans la plante peut s'expliquer par la faible solubilité du solvant utilisé.

En parallèle, on note la présence de tanins, ce composé qui donne un goût amer à feuilles et les rendent impropres à la consommation pour les insectes ou le bétail (**Eberhard et al., 2005**). Les plantes peuvent produire des substances phénoliques (tannoïdes) en réponse à un stress environnemental, suscité par différents facteurs : déficience en éléments nutritifs, sécheresse, sur-chauffage (températures élevées) et l'intensité lumineuse (**Rira, 2006**).

La présence des alcaloïdes peut expliquer des activités biologiques diverses (**Milcent et Chau, 2003**). Ils ont joué à faibles doses le rôle d'anesthésique locaux, d'analgésique, d'antibiotiques, d'antiparasitaires, d'antipaludique, d'anti-tumoraux et d'amoebicides (**Chenni, 2010**).

La famille des Iridaceae avec de nombreux composés chimiques de métabolites secondaires tels que les flavonoïdes possèdent des propriétés pharmacologiques remarquables. Cela pourrait justifier ses multiples indications thérapeutiques et son utilisation en médecine traditionnelle.

Le potentiel d'une plante médicinale est attribué à l'action de ses constituants phytochimiques. Ils sont produits comme métabolites secondaires, en réponse au stress environnemental ou pour assurer un mécanisme de défense aux agressions provoquant des maladies chez les végétaux (**Mohammedi, 2013**). En effet les flavonoïdes jouent un rôle dans la coloration des végétaux ,aussi ils possèdent des rôles très importants dans les plantes dont elles protègent les plantes contre le stress hydrique et génère une tolérance des plantes aux métaux lourds présente dans les sols. Hors la plante, les flavonoïdes possèdent plusieurs effets pharmacologiques. Les flavonoïdes protègent les aliments d'origine végétale de l'oxydation, ce sont des antioxydants réputés pour leur action anti radriculaire (**Makhloufi, 2010**).

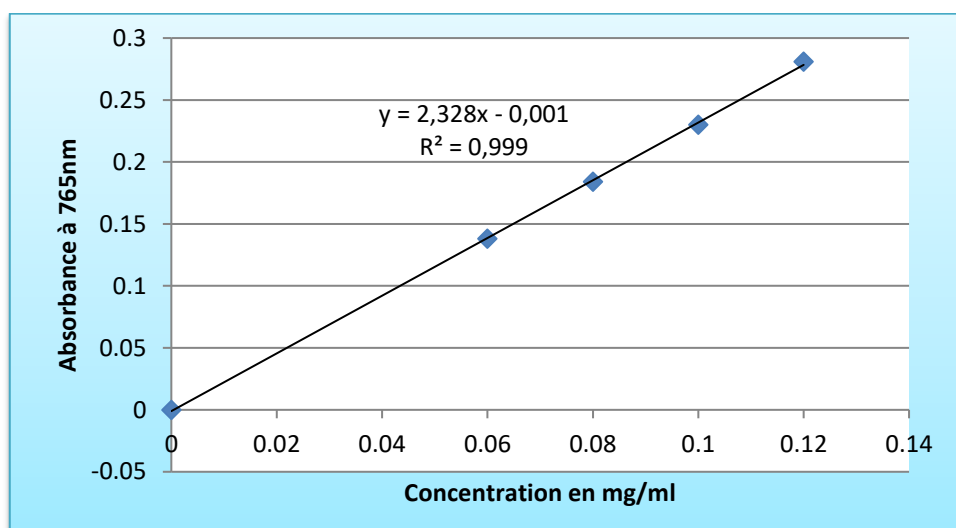
### 3. Dosage des composés phénoliques

#### 3.1. Teneur en polyphénols totaux

La quantification des polyphénols par la méthode de Folin-Ciocalteu a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire réalisée par un standard (acide gallique) à différentes concentrations à l'absorbance 765 nm, et exprimée en milligramme d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (mg EAG /mg d'extrait).

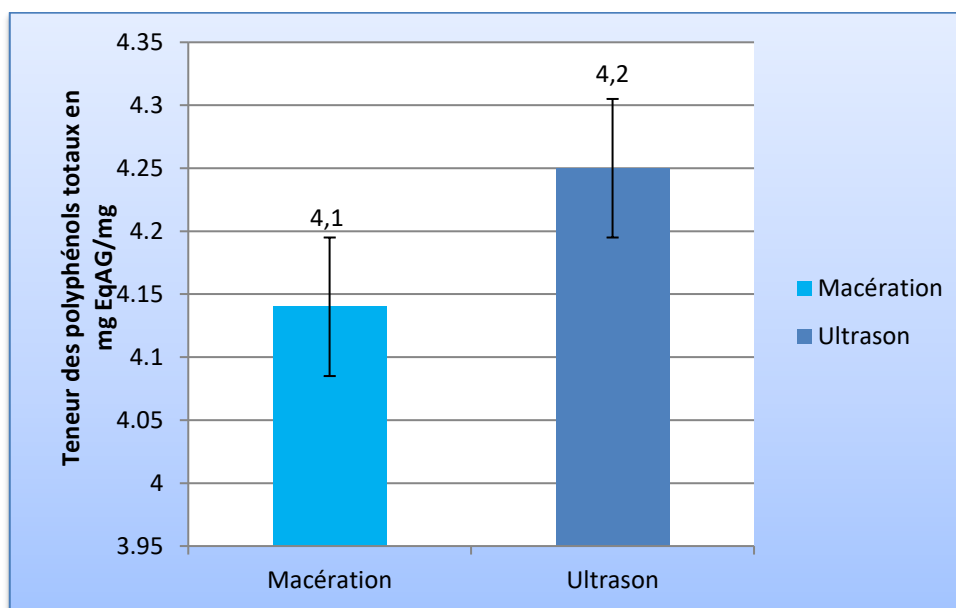
Les quantités des polyphénols correspondantes dans les extraits ont été déterminées par l'équation :  $y = 2,328x - 0,001$   $R^2 = 0,999$

À partir de la courbe d'étalonnage (**Figure18**), on a obtenu des quantités en phénoliques totaux qui varient entre  $4,14 \pm 0,008$  mg EAG /mg d'extrait éthanolique par macération et  $4,25 \pm 0,012$  mg EAG /mg d'extrait éthanolique par ultrason. Ceci indique que la teneur en phénoliques totaux de l'extrait de l'ultrason est élevée par rapport à celle de l'extrait de macération.



**Figure 17:** Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des phénols totaux

La **figure19**, montre que l'extrait des feuille ultrason renferme le taux le plus élevé en polyphénols 4,2 mg E acide gallique par mg d'extrait. Tandis que l'extrait des feuille macération présentent une teneur 4,1 mg E acide gallique par mg d'extrait.



**Figure 18:** La teneur des polyphénols totaux en mg EAG/mg d'extrait feuille de *Crocus sativus*

Les résultats de dosage de polyphénols montrent que l'extrait éthanolique est peu riche en polyphénols. Cette résultat est inférieur à celle publié par **Jadouali et al., (2018)** sur l'extrait méthanolique de feuille de *Crocus sativus*(81,69 ± 1,58 mg EAG /mg E).

Par contre la teneur en polyphénols trouvé par **Baba et al.,(2015)** sur extrait éthanolique de feuille de *Crocus sativus* est de l'ordre de 5,62 ± 0,60 mg EAG/mg E cette valeur est supérieur à ceux trouvé dans notre échantillon.

Dans l'étude de **Lahmass et al.,(2018)**les taux de polyphénols dans les extraits éthanolique préparé à partir du feuille sec et Feuille verte de *Crocus sativus*, sont d'ordre de 23,32 ± 0,06 µg GAE/mg E et 17,86 ± 0,077 µg GAE/mg E, respectivement. Ces résultats sont très bas par rapport aux résultats obtenus au cours de notre étude.

Cependant, il est difficile de comparer nos résultats avec ceux de la bibliographie, car plusieurs facteurs peuvent influencer la concentration des composés phénoliques dans nos extraits. La répartition des polyphénols se trouve sous l'influence de plusieurs facteurs, notamment climatique (la température élevée, exposition solaire, sécheresse, salinité qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les polyphénols), géographique, qualité du sol, profondeur ... etc (**Ebrahimi et al., 2008**). De plus, le mode d'extraction (solvant d'extraction et température), peut également influencer sur la teneur en polyphénols totaux (**Lee et al., 2003 ; Conde et al., 2009**).

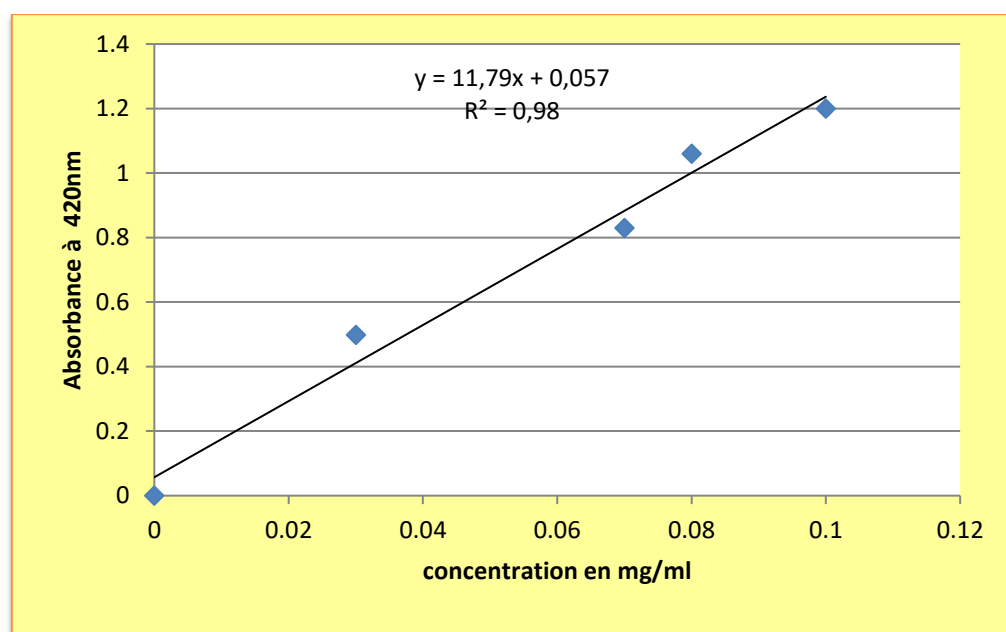
La teneur phénolique d'une plante dépend d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétiques) et extrinsèques (conditions climatiques, les pratiques culturelles, la maturité à la

récolte et les conditions de stockage) (Falleh *et al.*, 2008), aussi dépendent à l'organe analysé, et les conditions d'échantillonnage (Schlesier *et al.*, 2002). Les différentes maladies qui peuvent affecter la plante (Park et Cha, 2003).

Néanmoins, plusieurs chercheurs ont attiré l'attention à la possibilité de l'oxydation des composés phénoliques si le temps d'extraction est long, ce qui peut mener à l'inverse des résultats escomptés (teneurs très basses) (Yap *et al.*, 2009).

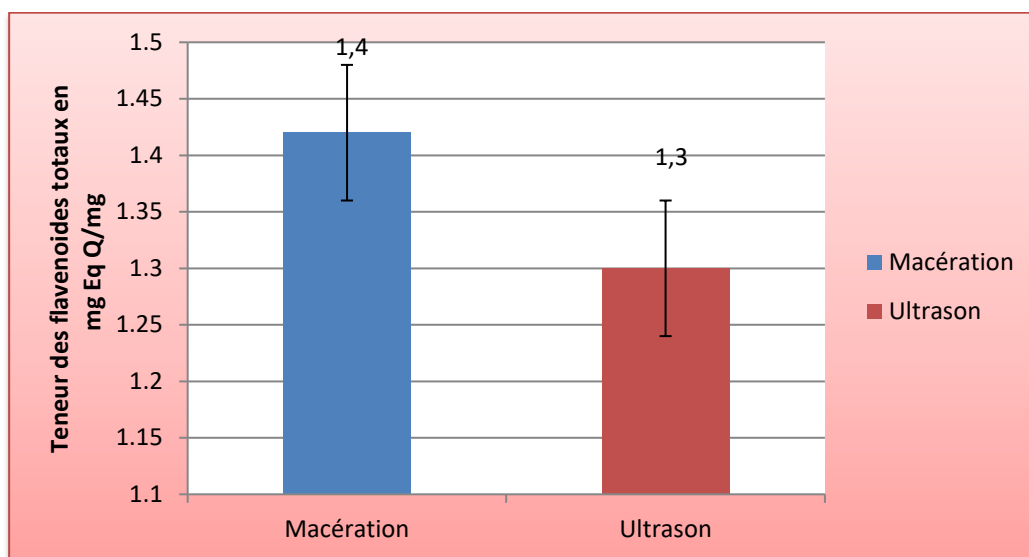
### 3.2. Teneur des Flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ). L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 420 nm. La courbe d'étalonnage de quercétine représentés dans **figure20**. Ayant l'équation :  $y = 11,79x + 0,057$   $R^2 = 0,980$ .



**Figure19** : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes totaux

À partir de la courbe d'étalonnage, on a obtenu des quantités en flavonoïdes totaux qui varient entre  $1,42 \pm 0,004\text{mg EQ /mg}$  d'extrait éthanolique par macération et  $1,3 \pm 0,004\text{mg EQ /mg}$  d'extrait éthanolique par ultrason. Ceci indique que la teneur en flavonoïdes totaux de l'extrait éthanolique par macération est élevée par rapport à celle de l'extrait par ultrason(**figure21**).



**Figure20** : La teneur des flavonoïdes totaux en mg EQ/mg d'extrait

Les résultats de dosage de flavonoïdes montrent que l'extrait éthanolique possède une quantité petite en flavonoïdes ( $1,42 \pm 0,004$  mg EQ /mg E). Cette quantité est supérieure à celle de feuille de la plante *Gladiolus segetum* de famille Iridaceae ( $39,79 \pm 2,36$  µg EQ/mg E) (Marref, 2018).

Dans l'étude par Baba *et al.*, (2015) sur d'extrait éthanolique de feuille de *Crocus sativus* les taux des flavonoïdes sont  $1,61 \pm 0,12$  mg EQ /mg E. Ces résultats sont Haute par rapport aux résultats obtenus au cours de notre étude.

Dans d'autres recherches sur les feuilles de *Crocus sativus* par Jadouali *et al.*, (2018). Les résultats montrent que l'extrait possède une quantité grande en flavonoïdes égal  $50,64 \pm 1,63$  mg EQ /mg E Par rapport notre résultat.

La variabilité des teneurs en flavonoïdes dans la famille Iridacées est influencée par plusieurs facteurs dont l'origine génétique, le degré de maturation, le mode de conservation (Lu *et al.*, 2006 ; Klimczak *et al.*, 2007).

La concentration des flavonoïdes dans les extraits de la plante est liée à la solubilité qui dépend non seulement de la polarité du solvant d'extraction mais aussi du nombre et de la position des groupements hydroxyles libres, au poids moléculaire et de la glycosylation (Mohammedi et Atik, 2011; Iloki-Assanga *et al.*, 2015).

Des études récentes ont montré que les teneurs en composés flavonoïdes changent de façon considérables d'une espèce à une autre et à l'intérieur de la même espèce, à cause des

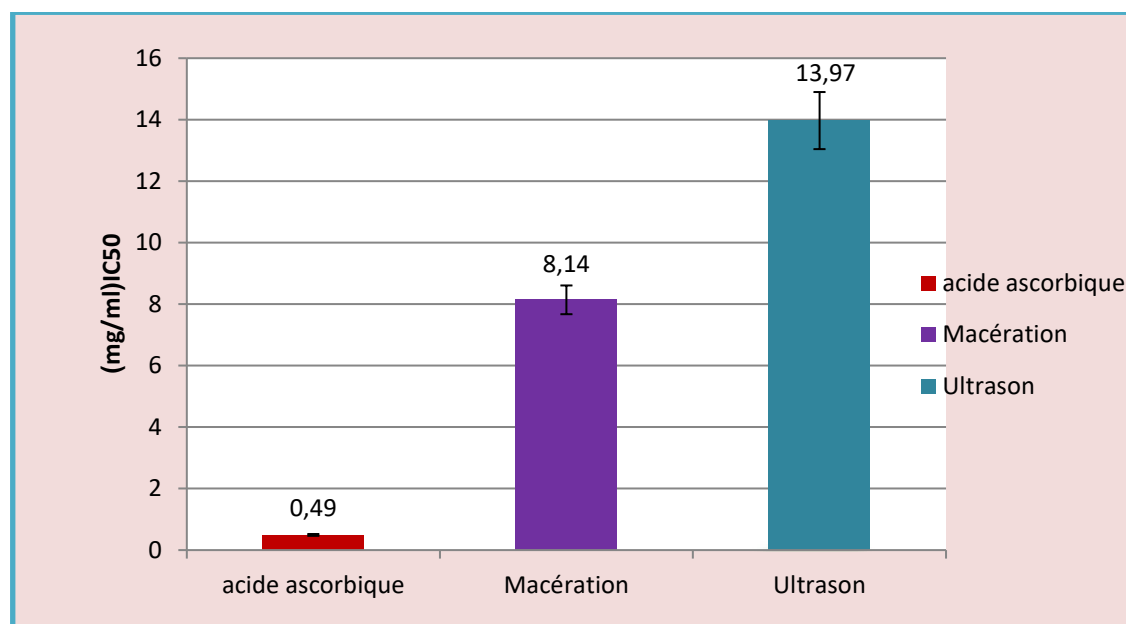
facteurs extrinsèques (température, climat...) (Ksouri *et al.*, 2008), génétiques, physiologiques (le degré de maturation de la plante, nature des organes) et de la durée de stockage. Cette différence de résultats aussi peut être due à la zone géographique d'où la plante est récoltée (Soltani *et al.*, 2017).

#### 4. Evaluation de l'activité antioxydant

##### 4-1. Test de piégeage du radical libre DPPH (2,2 diphenyl-Picrylhydrazyl)

Le test de piégeage du radical libre DPPH a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre sous une absorbance de 517 nm. Le calcul des pourcentages d'inhibition du DPPH est réalisé selon la formule indiquée dans la partie précédente, et son représentés en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique qui est utilisé comme référence comparé aux deux extraits des feuilles de *Crocus sativus*.

L'activité anti-radicalaire permet de déterminer la concentration qui correspond à 50% d'inhibition ( $IC_{50}$ ), la valeur de  $IC_{50}$  la plus faible correspond à la concentration de l'extrait la plus efficace (Bourgou *et al.*, 2016)(Figure22).



**Figure21** :Résultats de concentrations inhibitrices 50 % de DPPH

Les résultats obtenus montrent que l'extrait des feuilles par macération possède le pouvoir antioxydant le plus élevé ( $IC_{50} = 8,14 \pm 0,46$ mg/ml) suivie par l'extrait des feuilles par ultrason ( $IC_{50} = 13,97 \pm 0,92$  mg/ml). A lorsque l'acide ascorbique possède l'activité le plus intéressant ( $IC_{50} = 0,49 \pm 0,03$ mg/ml).

Nos extraits révèlent une activité antioxydant modéré par rapport l'extrait méthanolique de *Gladiolus segetum* avec une valeur d'IC<sub>50</sub> est de 118,29 µg/ml ( **Marref, 2019**).

D'après les résultats de **Baba et al.,(2015)**, l'extrait éthanolique de feuille de *Crocus sativus* possède un IC<sub>50</sub> de l'ordre de 412,42 µg/ml., cette valeur est inferieur par rapport à notre résultat.

Selon l'étude de **Lahmass et al.,(2018)**les valeur IC<sub>50</sub> des extraits éthanoliques préparé à partir du feuille sec et feuille verte de *Crocus sativus* sont de 0,152 µg /mg E et de 0,269 µg /mg E, respectivement. Ces résultats sont très bas par rapport aux résultats obtenus au cours de notre étude.

En général, nos extraits présentent un pouvoir anti-radicalaire modéré, ceci suggère que cette partie de notre plante est en composants phénoliques qui sont responsables de l'activité antioxydant selon de nombreuses études (**Khady et al., 2009**). Nos extraits montrent une activité inférieure à l'extrait de ceux de la bibliographie cela peut expliquer par les différences composées extraites par des solvants de polarité différente (**Lafka et al., 2013**).

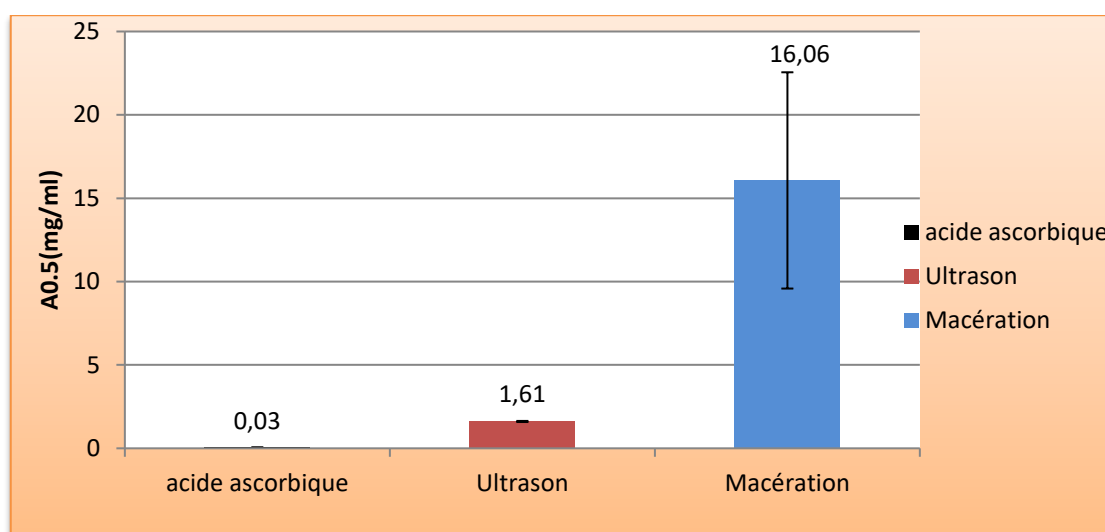
Ont constaté qu'une étroite relation existe entre l'activité antioxydant et la composition phénolique ainsi que le solvant utilisé dans l'extraction est important dans l'évaluation de l'efficacité antioxydant due aux composés phénoliques et en flavonoïdes de l'extraits de plante. Cette différence peut être non seulement de la concentration des polyphénols mais aussi de leur structure et de leur qualité de ces composés polyphénoliques , la quantité des composés bioactifs de la même plante dépend de plusieurs facteurs parmi eux le facteur de la région géographique qui, associée aux conditions climatique comme la température et l'altitude, influent sur la composition chimique des constituants actifs et sur la capacité antioxydant des plantes (**khadri et al., 2008**), la constitution chimique de cette plante ,des conditions du biotope et moment de la récolte (**Rached, 2009 ; Calvo-Lerma et al., 2020**) ont également indiqué que la diminution générale de l'activité antioxydant indiquait la présence d'une autre activité vitale.

On explique l'utilisation de la technique DPPH par sa rapidité à donner les résultats, comme elle est employée pour le criblage des molécules douées d'activités antioxydants présentes dans les extraits de végétaux (**Yi et al., 2008 ; Nabavi et al., 2010**).L'acide ascorbique est un réducteur très puissant et possède de ce fait un pourvoir antioxydant, qui est au centre de son activité biochimique. Sa structure est composée d'une fonction ène-diol en C<sub>2</sub>. Elle est responsable de l'acidité de la molécule et de son pouvoir antioxydant. L'effet antioxydant *in vitro* des substances naturelles existent dans les extraits végétaux peut attribuer selon le contenu en polyphénol (**Nizan et Mushfiq, 2012**). La variation de l'activité de piégeage des radicaux libres DPPH entre notre extrait pourrait être due à la structure et au type de composés phénoliques et à

leur concentration dans les échantillons testés (Debouba *et al.*, 2012 ; Khan *et al.*, 2012).

#### 4.2.Réduction du fer (FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power)

La quantité de  $Fe^{2+}$  est suivie par la mesure de l'absorbance à 700 nm. Une courbe d'étalonnage est élaborée par une solution standard de l'acide ascorbique à des concentrations différentes. Les valeurs des absorbances ont permis de tracer des courbes ayant des allures logarithmiques avec des coefficients de corrélation différentes. Ce qui nous a permis de calculer absorbance à 0.5 (figures23).



**Figure22:** Résultats de concentrations absorbance 0,5 par le système FRAP

Les résultats obtenus montrent que la capacité des extraits de réduire le Fer est largement inférieure à celle de l'acide ascorbique qui révèle une puissante activité ( $A_{0.5}$  :  $0,03 \pm 0,002$  mg/ml), tandis que, l'extrait des feuille ultrason présente un  $A_{0.5}$  :  $1,61 \pm 0,03$  mg/ml qui est supérieur à celle de l'extrait des feuille macération qui renferme un  $A_{0.5}$  :  $16,06 \pm 6,48$  mg/ml.

Méthode du FRAP est basée sur la capacité des polyphénols à réduire le fer ferrique  $Fe^{3+}$  en fer ferreux  $Fe^{2+}$ . La puissance de réduction est l'un des mécanismes antioxydants (Yildirim *et al.*, 2001). Les résultats obtenus montrent que la capacité de nos extraits à réduire le fer est inférieure à celle de l'acide ascorbique.

Dans l'étude de Marref, (2019) par la capacité à réduire le fer sur d'extrait méthanolique des feuilles de *Gladiolus segetum* L de la même famille (Iridaceae) égal  $55,34 \pm 0,69$   $\mu$ g/ml, ce résultat montre une meilleure activité antioxydant par rapport à notre plante.

Dans une étude entreprise par Jadouali *et al.*, (2018) la capacité d'extrait de feuille de *Crocus sativus* à réduire le fer égal 100  $\mu$ g/ml, cette valeur est supérieure à ceux trouvé dans nos échantillons.

L'activité antioxydant dépend non seulement de la concentration, mais également de la structure et la nature des antioxydants (Falleh *et al.*, 2008). Ce qui explique variation au niveau des résultats obtenus. Le pouvoir réducteur des extraits de la plante est probablement dû à la présence de groupement hydroxyle dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneur d'électron. Par conséquent, les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants (Bougandoura et Bendimerad, 2012). Les composés phénoliques constituent une source importante d'antioxydants, grâce à la présence de nombreux hydroxyles qui peuvent réagir avec les radicaux libres. A cet effet, de nombreuses études ont établi des relations entre les structures chimiques des composés phénoliques et leurs capacités antioxydants (Heim *et al.*, 2002; Seyoum *et al.*, 2006).

Le test de réduction du fer (FRAP) est une méthode rapide, facile et reproductible et largement utilisée pour évaluer l'activité antioxydant des plantes médicinales (Prior *et al.*, 2005). Les propriétés antioxydants d'un composé dépend non seulement de sa structure chimique mais aussi selon le type du radical généré qu'il peut neutraliser. Ce processus d'autoxydation dépend de multiples paramètres tels que la concentration de l'ion métallique et du polyphénol, la température, le pH, la présence d'agents complexants (Ghedadba *et al.*, 2015). Quelques études antérieures ont également montré que le pouvoir réducteur d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydant potentielle (Bougandoura et Bendimerad, 2012).

### 5. Evaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des extraits obtenus est déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé solide. Nous avons permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien vis-à-vis de trois bactéries de références. La GEN10 et le DMSO ont servi de témoins positif et négatif, respectivement. Les résultats obtenus sont représentés dans le **tableau 4**.

**Tableau 4:** Effet d'extrait éthanolique de *Crocus sativus* sur la souche bactérienne (zone d'inhibition en mm).

	macération	ultrason	Gen10
<i>P.aeruginosa</i> (mm)	7,83±0,57	9,33±1,89	19,75±0,35
<i>S. aureus</i> (mm)	6,33±0,57	6,83±0,76	17±2,82
<i>B.subtilis</i> (mm)	7,16±1,04	7,66±0,57	18,25±1,76

D'après ces résultats, Il ressort de cette évaluation que les extraits testés ont présentée des faibles effets sur les souches étudiées *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus subtilis* et son zone inhibition est estimé à  $6,33 \pm 0,57$  mm,  $7,83 \pm 0,57$  mm et  $7,16 \pm 1,04$  mm, respectivement, pour les extraits macération et pour les extraits ultrason à  $6,83 \pm 0,76$  mm,  $9,33 \pm 1,89$  mm et  $7,66 \pm 0,57$  mm, respectivement.

L'activité antibactérienne des extraits éthanoliques qui nous avons obtenu par la technique de diffusion sur disque (**Rios et Recio, 2005**). L'activité antibactérienne des substances actives d'origine végétale dépend surtout du type de bactéries, Gram positif ou Gram négatif (**Liu et al., 2004 ; Bekhechi et al., 2008**). Il ressort de cette évaluation que les extraits testés ont présenté des effet inhibiteur faible sur la croissance de trois souches bactériennes testées, par contre les résultats de **Jadouali et al., (2018)** montrent l'absence totale d'un effet antimicrobiennes vis-à-vis ces souches. Cette différence peut être expliquée en fonction de la date de la récolte il aura des variations très importantes dans la composition chimique et de l'activité (**Athamena, 2009**).

L'effet antimicrobien peut être expliqué par l'inhibition de la croissance bactérienne suite à leur adsorption sur les membranes cellulaires, l'interaction avec les enzymes et les effecteurs ou la privation en substrats et ions métalliques (**Dhaouadi et al., 2010**). Cette activité est due principalement à la capacité de ces molécules à inhiber l'expression de l'ADN et la synthèse de certaines enzymes et protéines membranaires des microorganismes (**Ulanowska et al., 2006**). Malgré l'effet antibactérienne remarquable de nos extraits, mais cette effet demeure faible par rapport à celui de l'antibiotique GEN10.

Cette différence trouvée peut être attribuées aux plusieurs facteurs tels que méthodes d'extraction, nature du solvant et la température (**Athamena, 2009**).

L'organisation architecturale de la paroi cellulaire des bactéries à Gram positif est riche en protéines, cette structure est moins complexe que celle des bactéries à Gram négatif (**Hogan et Kolter, 2002**). Cette différence structurale rend les bactéries à Gram positif plus sensibles à l'action de divers composés naturels tels que les extraits de plantes (**Kalemba et Kunicka, 2003**). Une autre caractéristique des bactéries à Gram négatif est la présence de porines dans la membrane externe qui permettent de faire circuler des molécules hydrophiles de tailles mitées vers l'espace périplasmique, et qui empêchent les molécules (tels que les antibiotiques, et agents antimicrobiens) lipophiles d'entrer dans la cellule (**Wax et al., 2008 ; Fernandez et Hancock, 2012**).

# Conclusion

---

## Conclusion

---

La présente étude a porté sur l'espèce *Crocus sativus* connu sous le nom du safran, qui appartient à la famille des Iridacées, et qui est parmi les familles les plus importantes de la flore algérienne et les plus utilisées en médecine traditionnelle. Il a accompagné toutes les civilisations, que ce soit pour son rôle culinaire, pour sa qualité de colorant ou pour ses vertus ancestrales enracinées dans la médecine populaire.

Le présent travail a pour l'objectif d'effectuer une étude phytochimique et d'évaluer l'activité antioxydant et antimicrobienne des extraits des feuilles de *Crocus sativus*.

L'extraction des composés phénoliques des feuilles de la plante par la méthode de macération a permis d'obtenir un rendement de 22 % et par ultrason a permis d'obtenir un rendement de 20%.

Les tests phytochimiques réalisés sur les extraits éthanolique des feuilles révèlent la présence des tanins, flavonoïdes, polyphénols, alcaloïdes et terpénoïdes pour chacun des extraits étudiés (macération et ultrason).

Le dosage des polyphénols totaux à l'aide de la méthode du Folin Ciocalteu a révélé une teneur de  $4,2 \pm 0,012$  mg EAG/mg d'extrait éthanolique par ultrason et de  $4,1 \pm 0,008$  mg EAG/mg d'extrait éthanolique par macération, concernant la teneur en flavonoïdes en utilisant la méthode d' $AlCl_3$  montre que l'extrait éthanolique par ultrason contient de  $1,3 \pm 0,004$ mg EQ /mg d'extrait et l'extrait éthanolique par macération possède une quantité d'ordre de  $1,4 \pm 0,004$ mg EQ /mg d'extrait.

Dans la partie biologique de notre travail, nous avons évalué l'activité antioxydant des extraits éthanolique par deux méthodes : la réduction du fer et le piégeage du radical libre DPPH.

Dans le test DPPH, il en ressort que deux extrait possède un pouvoir antioxydant modéré par rapport l'activité de l'acide ascorbique. L'extrait de macération était le meilleur extrait car il possède la teneur en composé phénoliques la plus élevée avec une haute capacité antioxydant par rapport à l'extrait des ultrasons, cette activité est liée en grande partie à la composition de l'extrait et sa richesse en composés phénoliques en particulier les flavonoïdes. Les résultats de test FRAP révèlent que l'extrait des ultrasons était le meilleur que l'extrait de macération.

L'activité antibactérienne des extraits éthanolique des feuilles de *Crocus sativus* a été évaluée vis-à-vis trois souches bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus subtilis*), selon la méthode de diffusion sur disque. Les résultats ont montré que les deux extraits possèdent une pouvoir antibactérienne remarquable.

Ces résultats confirment que *Crocus sativus* est une plante médicinale élabore une importance non négligeable en médecine, En effet, les feuilles de la plante possèdent de nombreuses propriétés thérapeutiques, cependant l'ensemble de ces résultats obtenus *in vitro* ne

## ***Conclusion***

---

constitue qu'une petite partie de la recherche des substances et sources naturelles biologiquement actives . nous pouvons émettre certaines perspectives à envisager dans cet axe de recherche et compléter ainsi notre projet :

- Il serait donc judicieux à l'avenir d'approfondir l'étude phytochimique de cette plante en essayent d'identifier et de purifier les substances bioactives responsables à des activités testées et en utiliser des méthodes modernes pour l'extraction des principes actifs, et de valoriser leur présence par des techniques précises comme la CPG-SM, la RMN et l'HPLC.
- La réalisation des tests biologiques in vivo afin de mettre en évidences certains principes actifs.
- Evaluation de l'activité antioxydante de cette plante par d'autres méthodes in vitro, ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) et ABTS• (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6sulfonique).
- Evaluation des autres activités non seulement antioxydante, mais aussi anticancéreuse et anti-inflammatoire, antimicrobienne...etc.

# **Références**

# **Bibliographiques**

## Références Bibliographiques

---

**Abudunia A.M., 2018.** Etude phytochimique, screening biologique et pharmacologique des fleurs de calendula arvensis , p:88-89.

**Algrech C., 2001.** Le safran du Quercy. Revue Quercy recherche, 97 et 98 (1-2-4): 20-27;9-16;p: 18-26.

**Anderson E.R., Koplan J., Henney J.E. et Billy T.J., 2001.** Diagnosis and Man-agement of Foodborne Illness : A Primer for Physicians. Centers for Disease Control, Mor-bidity and Mortality Weekly Report 50 (2),p: 1-69.

**Aounallah C. et Aounallah I., 2020.** Contribution à l'étude phytochimique et l'activité biologique des extraits de Calligonum comosum L'her. de la région d'Oued Souf , P:55-66.

**Arnason J. T., Mata R. et Romeo J. T., 2013.** Phytochemistry of medicinal plants (Vol. 29). Springer Science & Business Media,p:33-37.

**Athamena, 2009.** Etude quantitative des flavonoides des graines de Cuminum cyminum et les feuilles de rosmarinus officinalis et l'évaluation de l'activité biologique. Thèse de Magister en Biologie, Université El-Hadj Lakhdar. Batna, Algérie,p: 88.

**Azalenko K., 2005.** contribution a la détermination des chemotypes d'une plante a huile essentielle du Togo Lippiamutiflora. Mémoire d'ingénieure de travaux, ESTBA, Univ. Lomé , p:50.

**Baba Arbi H., 2010.** Importance relative d'exploitation des plantes médicinales dans la pharmacopée traditionnelle à l'Est du Sahara septentrional (cas d'Ouargla et Touggourt), Mémoire de fin d'étude d'ingénieur (université d'Ouargla),p:125-130.

**Baba S. A., Malik A. H., Wani Z. A., Mohiuddin T., Shah Z. ,Abbas N. et Ashraf N., 2015.** Phytochemical analysis and antioxidant activity of different tissue types of *Crocus sativus* and oxidative stress alleviating potential of saffron extract in plants, bacteria, and yeast. South African Journal of Botany, 99, p:80-87.

**Bakli R., Nouadri H. et Malki S., 2018.** Evaluation de l'activité biologique d'artemesia campestris l. *In vitro* (asteraceae),p:65.

**Barrosoa M.R., Barros L., Dueñas M., Carvalho A.M., Santos-Buelga C., Fernandes I.P., Barreiro M.F. et Ferreira I.C.F.R., 2014.** Exploring the antioxidant potential of *Gladiolus segetum* L Moench phenolic compounds for cosmetic applica-tions : Chemical

characterization, microencapsulation and incorporation into a moisturizer. *Ind. Crops Prod.* 53 ,p:330–336.

## Références Bibliographiques

---

- Bathaie S., Bolhassani A. et Khvari A., 2013.**Saffron and natural carotenoids : Biochemical activities and antitumor effects. *Biochemica et Biophysica Acta*. 1845, p: 20- 30.
- Bekhechi C., Atik-Bekkara F. et Abdelouahid D-E. 2008.** Composition et activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* d'Algérie. *Phytothérapie, Vol. 6*. P: 153-159.
- Belloum Z., 2007.**Etude phytochimique des plantes médicinales Algérienne ,cas de l'espèce *Inula Crithmoides L* . mémoire pour l'obtention de diplôme de magister en chimie organique, p:89.
- Benayache S., Benaissa O., Amrani A., Bicha S., Zama D., Benayache F.et Marchioni E., 2013.**Free radical scavenging action of phenolic compounds from *Limonium Bonueli* (Plumbaginaceae). *Scholars Research Library Der Pharmacia Lettre*. 5(5), P: 234-240.
- Benayache S., Benaissa O., Amrani A., Bicha S., Zama D., Benayache F.et Marchioni E., 2013.** Free radical scavenging action of phenolic compounds from *Limonium Bonueli* (Plumbaginaceae). *Scholars Research Library Der Pharmacia Lettre*. 5(5), P: 234-240.
- Berger M.M., 2006.** Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 20, p: 48-53.
- Bertille B., 2011.** Les Rubiacées : botanique, biochimie et plantes utiles. Université de Lille II: Lille, p:71-73.
- Bhargava V., 2011.** Medicinal uses and pharmacological properties of *Crocus sativus* Linn (Saffron). *Int J Pharmacy Pharmaceutical Science*, 3(3), p:22-26.
- Bhat S.V., Nagasampigi B.A. et Sivakumar M., 2005** .Chemistry of Natural Products1: Narosa, Springer, 1,p: 115-252.
- Bouchouka E., 2016.** Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydantes et antibactériennes de quelques plantes saharienne. Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar, Annaba,p: 126.
- Bouden H. et Kadri A .,2019.** Contrôle de qualité de café et du safran. Université Saad Dahlab Blida1,p:29-33.
- Bougandoura N. et Bendimerad N., 2012.** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Saturejacalaminthassp. Nepeta (L.) Briq.* *Nature & Technologie*, (9),p: 14 – 19.
- Boussena S., Bouaziz O., Dehimi M. L., Hireche S., Aimeur R., et Kabouia R., 2013.** The effects of electroejaculation on some physiological parameters (rectal temperature, respiratory and cardiac rates) in ouled djellal breed. *Slovak journal of animal science*, 46(1),p: 16-21.

## Références Bibliographiques

---

**Bruneton J., 2009.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4<sup>ème</sup> Edition Lavoisier Tec et Doc. Médicales Internationales, Paris, p: 261, 308, 571, 1234.

**Caballero-Ortega H., Pereda-Miranda R. et Abdullaev F.I., 2007.** HPLC quantification of major active components from 11 different saffron (*Crocus sativus L*) sources Food Chemistry, p: 100, 1126-1131.

**Calvo-Lerma J., Paz-Yépez C., Asensio-Grau A., Heredia A. et Andrés A., 2020.** Impact of Processing and Intestinal Conditions on *in Vitro* Digestion of Chia (*Salvia hispanica*) Seeds and Derivatives. Journal Foods 3, p: 3 – 13.

**Catier O. et Roux D., 2007.** Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie : Cahiers du préparateur en pharmacie. 3<sup>ème</sup> éd. France : Wolters Kluwer, p: 84.

**Chahine N., 2014.** Effet protecteur du safran contre la cardiotoxicité de la doxorubicine en condition ischémique (Doctoral dissertation, Reims), p: 145-150.

**Chenni m., 2010.** Contribution à l'étude chimique et biologique de la racine d'une plante médicinale : *Bryonia dioica* Jacq. Thèse de Magister. Université d'Oranes-Senia, Oran. Algérie, p: 138 .

**Collin S. et Crouzet J., 2011.** Polyphénols et procédés : Transformation des polyphénols au travers des procédés appliqués à l'agro-alimentaire. Lavoisier, p: 1-337.

**Conde E., Cara C., Moure A., Ruiz E., Castro E. et Dominguez H., 2009.** Antioxydant activity of the phenolic compounds released by hydrothermal treatment of olive, p: 58.

**D'alessandro L.G., Dimitrov K., Vauchel P. et Nikov I., 2014.** Kinetics of ultrasound assisted extraction of anthocyanins from *Aronia melanocarpa* (black choke berry) wastes. *Chemical engineering research and design*. 92, p: 1818–1826.

**Danja S., Jonas G., Nathalie W. et Katharina O., 2016.** *Bacillus subtilis*. iGEM team: Bonn – Freiburg, p: 2 .

**De Santis G., Ronga D., Caradonia F., Dambrosio T., Troisi J., Rascio A. et Rinaldim M., 2018.** Evaluation of two groups of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) accessions with different seed colours for adaptation to the Mediterranean environment. *Crop and Pasture Science*, 69(12), p: 1064.

**Debouba M., Balti R., Hwiwi S. et Zouari S., 2012.** Antioxidant capacity and total phenols richness of *Cistanche violacea* hosting *Zygophyllum album*. *International Journal of Phytomedicine*. 4(3), p: 399-402.

## Références Bibliographiques

---

**Deo D.B., 2003** .GrowingSaffron–The World’s Most Expensive Spice. Crop & Food Research (New Zealand Institute for Crop & Food Research),p:221.

**Dhaouadi K., Raboudi F., Estevan C., Barrajon E., Vilanova E., Hamdaoui M. et Fattouch S., 2010.** Cell Viability Effects and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Tunisian Date Syrup (Rub El Tamer) Polyphenolic Extracts. *J. Agric Food Chem.* Vol. (59),P: 402-406.

**Djemai Z., 2008.** Etude de l’activité biologique des extraits du fruit de *Zizyphus lotus* L.mémoire magister, Université -El Hadj Lakhder –Batna,P:185.

**Dohou N., Yamni K., Gmira N. et Idrissi Hassani L.M., 2003.** Screening phytochimique d’une endémique ibéro-marocaine *Thymelaelythroïdes*, Bull. Soc. Bordeaux, p142.

**Dordevic S., Petrovic S., Dobric S., Milenkovic M., Vucicevic D., Zizic S. et Kukic J., 2007.** Antimicrobial, antiinflammatory, anti-ulcer and antioxidant activities of *Carlina acanthifolia* root essential oil. *J Ethnopharmacol.* Vol. (109),P: 458-463.

**Dworkin M.M. et FALKOW S., 2006.** Proteobacteria: Gamma subclass. Ed.Springer, New York , p.1248.

**Eberhard T., Robert A. et Annelise L., 2005.** Plantes aromatiques, épice aromates, condiments et huiles essentielles. Ed. Tec et Doc, Paris. France,P: 521.

**Ebrahimi N.S., Hadian J., Mirjalili M.H., Sonboli A. et Yousefzadi M., 2008.**Essentiel oil composition and antimicrobial activity of *Thymus caramanicus*at different phonological stages. Food chemistry. 110,P: 927-931.

**Ebrahimi-Nejad S., Hadian J., Mirjalili M.H., Sonboli A. et Yousefzadi M., 2008.** Essential oil composition andantibacterial activity of *Thymus caramanicus* at different phonological stages. Food Chemistry, 110(4) , P:927-931.

**Esmaeili N., Ebrahimzadeh H., Abdi K. et Safarian S., 2010.** Determiation of some phenolic compound in *Crocus sativus* L. corms and its antioxidant activities study ,P:61.

**Falcone Ferreyra M. L., Rius S., et Casati P., 2012.**Flavonoids: biosynthesis, biological functions, and biotechnological applications. *Frontiers in plant science*3,P:222.

**Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M. et Abdelly C., 2008.** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies.*, 331 (5) ,P: 372-379.

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

## Références Bibliographiques

---

- Farr B.M., Salgado C.D., Karchmer T.B. et Sherertz R.J., 2001.** Can antibiotic resistant nosocomial infections be controlled? *Lancet Infectious Disease* 1, P, 38– 45.
- Fatehi M., Rashidabady T. et Fatehi-Hassanabad Z., 2003.** Effects of *Crocus sativus* petals extract on rat blood pressure and on response induced by electrical field stimulation in the rat isolated vas deferens and guinea-pig ileum. *J Ethnopharmacology* ,P :199-203.
- Favier A., 2006.** Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann. Pharm. Fr* ,P: 390-396.
- Fernandez L. et Hancock R.E., 2012.** Adaptive and mutational resistance: role of porins and efflux pumps in drug resistance. *Clin Microbiol Rev*, Vol. 25 , p: 661-681.
- Ferrence S.C. et Bendersky G., 2004** .Therapy with Saffron and the Goddess at Thera. *Perspectives in Biology and Medicine*, 47 n°2 ,P: 199-226.
- Fettah A., 2019.** Étude phytochimique et évaluation de l'activité biologique (antioxydante-antibactérienne) des extraits de la plante *Teucrium polium* L. sous espèce *Thymoïdes* de la région Beni Souik, Biskra (Doctoral dissertation, UNIVERSITE MOHAMED KHIDER BISKRA),p:42-45.
- Gervaise M.Y., 2004.** Analyse des antioxydants naturels dans les matières premières et les produits. *Euroforum-Polyphénols*, p : 1-33.
- Ghedadba N., Hambaba L., Ayachi A., Aberkane M. C., Bouselsala H., Oueld-Mokhtar S.M., 2015.** Polyphénols totaux, activités antioxydant et antibactérienne des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé. *Phytothérapie* ,13,p :118-129.
- Girodon E., Sermet-Gaudelus I., Sands D., Stremmler N., Vavrova V., Deneuille E. et Edelman A., 2010.** Clinical phenotype and genotype of children with borderline sweat test and abnormal nasal epithelial chloride transport. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 182(7),p: 929-936.
- Guignard J., 2000.** Biochimie végétale. 2ème édition, Édition Dunod, Paris,p:109.
- Habibou H., Moutari S. K., Lawaly-Maman M., Idrissa M., Rabani A. et Khalid I., 2018** . Criblage phytochimique et dosage des polyphénols du *Detarium microcarpum* Guill. et Perr. Utilisé dans le traitement des maladies parasitaires au Niger. *Frique SCIENCE* 14(5),p: 390 – 399.
- Haddouchi f., chaouche t.m . et halla n., 2016.** screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'algérie phytochemical screening, antioxidant activities and hemolytic power of four saharan plants from algeria. *Lavoisier sas phytothérapie* ,(2),p:2-9.

## Références Bibliographiques

---

- Hadj Hammou B., 2019.** Etude de comportement agronomique de quelques variétés (*Chenopodium quinoa*. Willd.) dans la région d'Adrar; zone de T'sabit. Mémoire master académique, Université Ahmed Draïa. Adrar, P:61.
- Hamidi A., 2013.** Etude phytochimique et activité biologique de la plante *Limoniastrum guyonianum* (Doctoral dissertation, Université de Ouargla-Kasdi Merbah), p:124-129.
- Hammoudi R., Hadj Mahammed M., Ramdane F. et Khodir A. A., 2012 .** Activité antibactérienne des extraits phénoliques de la plante *teucrium polium geyrii*. *Algerian journal of arid environment vol. 2, n°1*, P:49-55.
- Hart KJ., Yáñez-Ruiz R., Duvals M., Mcewann R. et Newbold J., 2008.** Plant extracts to manipulate rumen fermentation. *Animal feed science and technology*, Vol (147), p: 8–35.
- Hassanpour S., MaheriSis N. et Eshratkhah B., 2011.** Plants and secondary metabolites (Tannins): A Review. *International Journal of Forest, Soil and Erosion (IJFSE)*, 1(1), P: 47-53.
- Heim K.E., Tagliaferro A.R. et Bobilya D.J., 2002.** Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13(10), p: 572-584.
- Heleno S. A., Martins A., Queiroz M. J. R. et Ferreira I. C., 2015.** Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: A review. *Food chemistry*, 173, p:501-513.
- Hoang L., Beneš F., Fenclová M., Kronusová O., Švarcová V., Řehořová K. et Ruml T., 2020.** Phytochemical Composition and *In Vitro* Biological Activity of *Iris* spp. (Iridaceae) : A New Source of Bioactive Constituents for the Inhibition of Oral Bacterial Biofilms. *Antibiotics*, 9(7), P:403.
- Hogan D. et Kolter R., 2002 .** Why are bacteria refractory to antimicrobials? *Current opinion in microbiology*. Vol (5), p: 472-477.
- Hopkins P. N., 2003.** Familial hypercholesterolemia—improving treatment and meeting guidelines." *International journal of cardiology* 89(1), P:13-23.
- Hosseinzadeh H. et Nassiri A.M., 2013 .** Avicenna's (Ibn sina) the canon of Medicine and saffron (*Crocus sativus*) : a review. *Phytotherapy research*, 27(4), p:475-783.
- Houghton P.J., 2000 .** Use of small scale bioassays in the discovery of novel drugs from natural sources. *Phytotherapy Research*, 14,P: 419-423.
- Iloki-Assanga S.B., Lewis-luján L.M., Lara-Espinoza C.L., Gil-Salido A.A., Fernandez-Angulo D., Rubio-Pino J.L. et Haines D.D., 2015.** Solvent effects on phytochemical

## Références Bibliographiques

---

constituent profiles and antioxidant activities, using four different extraction formulations for analysis of *Bucidabuceros L.* and *Phoradendron californicum*. *BMC Res. Notes*, 8; 396 , p:1-14.

**Jaccot B. et Campillo B., 2003.** Nutrition humaine. MASSON, Paris, P: 311.

**Jadouali S. M., Atifi H., Bouzoubaa Z., Majourhat K., Gharby S., Achemchem F. et Mamouni R., 2018.** Chemical characterization, antioxidant and antibacterial activity of Moroccan *Crocus sativus L* petals and leaves. *J Mater Environ Sci*, 9,P: 113-8.

**Jan S., Wani AA., Kamili AN. et Kashtwari M., 2014.** Distribution, chemical composition and medicinal importance of Saffron (*Crocus sativus*). *African Journal of Plant Science*, Vol (8), n (12), p: 537-545.

**Kabera J. N., Semana E., Mussa A. R. et He X., 2014.** Plant secondary metabolites: biosynthesis, classification, function and pharmacological properties. *J Pharm Pharmacol*, 2(7), p:377-392.

**Kabouche A., 2005.** Etude phytochimique de plantes médicinales appartenant à la famille des Lamiaceae,P:54.

**Kalemba D. et Kunicka A., 2003.** Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current medicinal chemistry*, Vol. 10, P: 813-829.

**Kanakis C.D., Daferera D.J., Tarantilis P.A. et Polissiou M.G., 2004.** Qualitative determination of volatile compounds and quantitative evaluation of safranal and 4-hydroxy-2, 6, 6 trimethyl-1-cyclohexene-1-carboxaldehyde (HTCC) in Greek saffron,"*Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol.52,no. 14, p.4515–4521.

**Kaššák P., 2014.** Screening of the chemical content of several Limniris group Irises. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 3(2),P: 11-14.

**Kaur R., et Arora S., 2015.** Alkaloids-important therapeutic secondary metabolites of plant origin. *Jour. CritRev*, 2(3),P: 1-8.

**Kebili Z., 2016.** Contribution à l'étude de quelques activités biologiques des extraits de *Ephedra alata* de la région de Ouargla. Mémoire En vue de l'obtention du Diplôme de Magister en Sciences Biologie. Université des KASDI MERBAH .Ouargla, p: 116.

**Khadri A., Serralheiro M.L.M., Nogueira J.M.F., Neffati M., Smiti S. et Araujo M.E.M., 2008.** Antioxidant and antiacetyl cholinesterase activities of essential oils from *Cymbopogon Schoenanthus L.* Spreng. Determination of chemical composition by GC–massspectrometry and <sup>13</sup>C NMR. *Food Chemistry*, 109; p:630–637.

## Références Bibliographiques

---

- Khady B., Emmanuel T., Jacqueline D., Ndiaga C. et Philippe T., 2009.** Étude comparative des composés phénoliques, du pouvoir antioxydant de différentes variétés de sorgho sénégalais et des enzymes amylolytiques de leur malt. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 14(1): p:131-139.
- Khan R.A., Khan M.R., Sahreen S. et Ahmed M., 2012.** Assessment of flavonoids contents and *in vitro* antioxidant activity of *Launaea procumbens*. *Chemistry Central Journal.* 6(1) , p:1-11.
- Klimczak I., Malecka M., Szlachta M. et Gliszczynska-Swiglo A., 2007.** Effect of storage on the content of polyphenols; vitamin C and the antioxidant activity of orange juices. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20,p: 313-322.
- Koffi N., Beugré K., Guédé N. Z., Dossahoua T. et Laurent A., 2009.** Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sciences & Nature*, 6 (1): p:1 – 15.
- Konkon N.G., Simaga D. et Adjoungova A.L., 2006.** Etude Phytochimique de *Mitragyna inermis* (Willd.) O. Ktze (Rubiaceae), plante à feuille antidiabétique. *Pharm.Méd. Trad. Afr.* 2006, Vol. 14, p:73-80 .
- Kotiranta A., Lounatmaa K. et Haapasalo M., 2000.** Epidemiology and pathogenesis of *Bacillus cereus* infections. *Microbes and infection*, 2(2), p:189-198.
- Kumar A., Yadav A., Gupta N., Kumar S., Gupta N., Kumar S. et Gurjar H., 2014.** Metabolites in Plants and Its Classification. *World J PharmPharmac*, 4(1), p:287-305.
- Laamri F. et Mostefaoui C., 2017.** Contribution à l'étude de quelques paramètres biochimiques et biologiques (antioxydante et anti bactérienne) de *Oudneya africana* R de la région de Ghardaïa. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Biochimie Appliquée. Université Echahid Hamma Lakhdar -El OUED,p:38-41.
- Lachaud C. M., 2012.** La Bible du Safranier. Tout Savoir sur le *Crocus sativus* et sur le Safran. ILV. ISBN978-2-7466-4412-0,p: 258.
- Lahmass I., Ouahhoud S., Elmansuri M., Sabouni A., Elyoubi M., Benabbas R. et Saalaoui E., 2018.** Determination of antioxidant properties of six by-products of *Crocus sativus* (saffron) plant products. *Waste and Biomass Valorization*, 9(8), p:1349-1357.
- Lee K.W., Kim Y.J., Lee H.J. et Lee C.Y., 2003.** Cacao has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Food chemistry.* 51, p:7292-7295.
- Liakopoulou-Kyriakides M., et Kyriakidis D.A., 2002.** "Crocus sativus-biological active constituents," *Studies in Natural Products Chemistry*, vol (26), p: 293–312.

## Références Bibliographiques

---

- Liu J., Dehbi M., Moeck G., Arhin F., Bauda P., Bergeron D. et DuBow M., 2004.** Antimicrobial drug discovery through bacteriophage genomics. *Nature biotechnology*, Vol (2), p:185-191.
- Lu Y., Zhang C., Bucheli P. et Wei D., 2006.** Citrus Flavonoïds in Fruit and Traditional Chinese Medicinal Food Ingredients in China. *Journal of Plant Foods for Human Nutrition*, 61(2), p:57-65.
- Macheix J. J., Fleuriet A. et Jay-Allemand C., 2005.** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR Presses polytechniques, p:58.
- Makhloufi., 2010.** Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de Bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre. Thèse de doctorat d'état en biologie, université aboubaker belkaid, Tlemcen. Algérie ,p:136 .
- Makkar H.P.S., 2003.** Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Ruminant Research*. (49): 241-256. microbiologique. *Berti édition*. Paris, P : 3,7.
- Malki S., 2017.** these doctorat en sciences, Etude morphologique, biochimique, physiologique et biologique de quelques populations de *teucrium polium* l. Capitatum dans l'est algérien ,p:116-118.
- Marref S. E., 2019.** Contribution à l'étude des activités biologiques de l'extrait méthanolique de la plante *Gladiolus segetum* *in vivo* et *in vitro* (Doctoral dissertation, Université de Batna 2) ,p:78.
- Marref S. E., Naima B., Akram M. M., Joubert O., Doumandji Z. M. et Safar R., 2019.** Anti-cancer Activity and Gene Expression Responses to Methanol Extract of *Gladiolus segetum* in THP-1 Human Monocytic Leukemia Cells. *Journal of Young Pharmacists*, 11(1), p:51.
- Medjbar W., Madani K. et Talbi L., 2017.** Qualité physico-chimique du safran Algérien (Doctoral dissertation, Université Abderrahmane Mira),p:61.
- Melnyk J., Marcone M. et Wang S., 2010.** Chemical and biological properties of the world's most expensive spice: Saffron. *Food Research International*, 43 (8) ,p 1981-1989.
- Merzoug B., 2009.** Contribution a l'étude phytochimique de deux plantes de la famille des *Apiaceae* : *Carum montanum* Coss. & Dur. et *Bupleurum montanum* Coss. Thèse de doctorat. "Phytochimie". Université Mentouri-Constantine, P:61.

## Références Bibliographiques

---

- Michel T., Destandau E., Le Floch G., Lucchesi M.E. et El fakira C., 2012.**Antimicrobial, antioxidant and phytochemical investigations of sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) leaf, stem, root and seed. *Food Chemistry*, 131(3) , p:754-760.
- Milcent R. et Chau F., 2003.**Chimie organique hétérocyclique : Structure fondamentale, chimie et biochimie des principaux composés naturels. Ed. Francois chau EDP. Paris. France, p :846.
- Mohammedi Z., 2013.** Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie. Thèse de Doctorat en Biologie. Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen. Algérie ,P: 169.
- Mohammedi Z., et Atik F., 2011.** Impact of solvent extraction type on total polyphénols content and biological activity from *Tamarix phylla* (L.) Karst. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2(1) ,p: 609-615.
- Moulay Y., 2012.** Investigation Phytochimique de l'Acacia arabica Aux propriétés antioxydantes et inhibitrices ; mémoire de fin d'étude de magister (université d'Ouargla) ,P: 99.
- Muanda F. N., 2010.** Identification de polyphénols, évaluation de leur Activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques (doctoral dissertation, thèse de doctorat, université paul verlaine-metz, P:55-86
- Nabavi S., Kessels H. W., Nguyen L. N. S. et Malinow R., 2010.**The prion protein as a receptor for amyloid- $\beta$ . *Nature* 466(7308): E3,P: 155.
- Najjaa N.,Zouari S., Arnault I., Auger J.,Emna A., Neffati M., 2011.**Différences et similitudes des métabolites secondaires chez deux espèces du genre *Allium* *Allium roseum* L. et *Allium ampeloprasum* L, *Acta Bot. Gallica*, 158(1), P:111-123.
- Nizan I. et Mushfiq M., 2012.** Antioxidant activity of five different solvent extracts of the edible fruits of *ficus racemosa*. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*. 12 ,p:189-195.
- Park H.J. et Cha H.C., 2003** Flavonoids from leaves and exocarps of the grape Kyoho. *Korean journal of biological society*. 7; 327-330.
- Percival S., Chalmers R., Embrey M., Hunter P., Sellwood J. et Wynjones P., 2004.** Microbiology of waterborne diseases. Edition: Elsevier Academic Press,Amsterdam. p.480.
- Percival S.L., 2004.** Microbiology of waterborne diseases. Ed. Elsevier Academic Press, Amsterdam; Boston, p: 480.
- Pham-Huy L.A., He H. et Pham-Huy C., 2008.** Free radicals, antioxidants, in disease and health. *Int J Biomed Sci*. 4(2),p:89-96.

## Références Bibliographiques

---

- Pinelo M., Rubilar, M., Sineiro J., Nunez MJ., 2004.** Extraction of antioxidant phenolics from almond hulls (*prunus amygdalus*) and pine sawdust (*pinus pinaster*). *Food Chemistry*, 85, 267-273.
- Pitsikas N., 2016.** Constituents of saffron (*Crocus sativus* L) as potential candidates for the treatment of anxiety Disorders and Schizophrenia. *Molecules*, 21(3),p:303.
- Prior R. L., Wu X. et Schaich K., 2005.** Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *J. Agric. Food Chem.* vol 53,p:4290-4302.
- Rached W., 2009.** Évaluation du potentiel antioxydant de plantes médicinales et analyse phytochimique. Mémoire de Magister en Biologie. Université d'Oran Es-Sénia, p:122.
- Rahimi M., 2015.** Chemical and Medicinal Properties of Saffron. *Bull. Env. Pharmacol. Life Sci*, 4, p:69-81.
- Rios J.L. et Recio M. C ., 2005.** Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology*. Vol. (100),p:80-84.
- Rira M., 2006.** Effet des polyphénols et des tanins sur l'activité métabolique du microbiote ruminal d'ovins. Thèse de Magister en biochimie et microbiologie appliquées, Université Mentouri Constantine, Algérie,p: 94 .
- Rubio-Moraga A., Castillo-López R., Gómez-Gómez L.et Ahrazem O., 2009.** Saffron is a monomorphic species as revealed by RAPD, ISSR and microsatellite analyses. *BMC Research Notes*, 2(1), p:189.
- Sandhar H. K., Kumar B., Prasher S., Tiwari P., Salhan M. et Sharma P., 2011.** A review of phytochemistry and pharmacy flavonoids. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1(1), p:25-41.
- Saxena M., Saxena J. et Pradhan A., 2012.** Flavonoids and phenolic acids as antioxidants in plants and human health. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res*, 16(2),p: 130-134.
- Schlesier K., Harwat M., Bhm V. et Bitsch R., 2002.** Assessment of antioxidant activity by using different *in vitro* methods, *Free Radical Res*, 36(2),p:177–87.
- Seyoum A., Asres K. et El-Fiky F.K., 2006.** Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Phytochemistry*, 67(18),p: 2058-2070 .
- Sharma O.P. et Bhat T.K., 2009.** DPPH antioxidant assay revisited. *Food chemistry*, 113(4),p: 1202-1205.

## Références Bibliographiques

---

- Soltani Y., Ali-Bouzi M., Toumi F. et Benyamina A., 2017.** Activités antioxydantes des extraits de trois organes de *Juniperus phoenicea* L. de l'Ouest algérien. *Pharmacognosie*, Vol.10, p. 1-7.
- Sour H., 2016.** Screening phytochimique et détermination du pouvoir antiradicalaire des polyphénols de thé vert *Camellia Sinensis*. Mémoire de master en Alimentation et Nutrition, UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID TLEMCEM, p. 19-27.
- Srivastava R., Ahmed H. et Dixit R. K., 2010.** *Crocus sativus* L.: a comprehensive review. *Pharmacognosy reviews*, 4(8), p:200.
- Srivastava R., Ahmed H., Dixit RK., Dharamaveer E. et Saraf S.A., 2010.** *Crocus sativus* L. A comprehensive review. *Pharmacogn Rev*, 4,p: 200.
- Srivastava., 2010.** *Crocus sativus* L : A comprehensive review. *Pharmacogn Rev*. 4 ,p:200-208.
- Sullivan R., 2011.** Régulation transcriptionnelle de la biosynthèse des lignes du lin (*linum usitatissimum* et *linum flavum* et amélioration de l'extraction des Lignanes .l'université d'Orléans,p:48-55.
- Thoppil R. J. et Bishayee A., 2011.** Terpenoids as potential chemopreventive and therapeutic agents in liver cancer. *World J Hepatol*, 3(9),p: 228-249.
- Tiwari R. et Rana C. S.,2015.** Plant secondary metabolites: a review. *International Journal of Engineering Research and General Science* 3(5), p: 2091-2730.
- Ulanowska K., Traczyk A., Konopa G. et Wegrzym G., 2006.** Differential antibacterial activity of genistein arising from global inhibition of DND, RNA and protein synthesis in some bacterial strains. *Arch. Microbiol.* Vol 184 (5),p:271-278.
- van Belkum, A., Melles, D. C., Nouwen, J., van Leeuwen, W. B., van Wamel, W., Vos, M. C .et Verbrugh H. A., 2009.** Co-evolutionary aspects of human colonisation and infection by *Staphylococcus aureus*. *Infection, Genetics and Evolution*, 9(1),p: 32-47.
- Vuorela S., 2005.** Analysis, isolation and bioactivities of rapeseed phenolics. Ed. University of Helsinki. Helsinki,p: 76.
- Wallace RJ., 2004.** Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. *Proceedings of nutrition society*, Vol (63),p: 621–629.
- Wax R.G., Lewis K., Salyers A. et Taber H., 2008.** Bacterial resistance to antimicrobials. 2ème édition. CRC press, Floride, USA, p: 448.
- Willard P., 2001.** Secrets of Saffron: The Vagabond Life of the World's Most Seductive Spice, Beacon Press ,ISBN0-8070-5008-3,p:168.

## Références Bibliographiques

---

- Wink M., 2010.** Biochemistry of plant secondary metabolism. Annual plant reviews Blackwell publishing Ltd, P : 11-15.
- Winterhalter P. et Straubinger M., 2000.** Saffron-renewed interest in an ancient spice. Food Rev Int. 16(1),p:3959.
- Yahiaoui A., silet I. et Mazoz W., 2018.** Contribution à l'étude des extraits de l'espèce ephédra alata alanda de la région de sigus,p:35-40.
- Yap C.F., Ho C.W., Wan-Aida W.M., Chan S.W., Lee C.Y. et Leong,Y.S., 2009.** Optimization of Extraction Conditions of Total Phenolic Compounds from Star Fruit (*Averrhoa carambola L.*) Residues. Sains Malaysiana, 38(4) ,p:511-520.
- Yi W., Ren Z. A., Lu W., Yang J., Shen X. L., Li Z. C. et Zhao Z. X., 2008.** Superconductivity at 55 K in iron-based F-doped layered quaternary compound Sm [O<sub>1-x</sub>F<sub>x</sub>] FeAs. *arXiv preprint arXiv:0804* ,p:2053.
- Yildirim A., Mavi A. et Kara A.A., 2001.** Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus L.* Extracts. *J. Agric. Food Chem.*, 49,p: 4083-4089.
- Yves L.L. et Michel G., 2009.** Staphylococcus aureus. *Lavoisier* ,p:300.
- Zakaria B., Aziza M. et Thierry G., 2017.** Développement de l'agriculture biologique dans la région de khénifra, Maroc : cas du safran. *Afrique Science* 13 (5),p: 262-274.

## Résumé

Notre travail porte sur une plante médicinale *Crocus sativus* connu sous le nom de safran qui est très utilisé comme épice et aussi comme plante très populaire dans la médecine traditionnelle.

Le but de ce travail est l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydant et antibactérienne des extraits éthanolique des feuilles de *Crocus sativus* récoltées dans la région d'Hassi Khalifa, Wilaya de El-oued (sud-est d'Algérie). Ces extraits sont été obtenus par macération et ultrason dans l'éthanol. Le rendement respectivement est : 22% et 20%.

L'analyse qualitative d'extrait par les tests préliminaires, a révélé la présence des composés phénoliques, alcaloïdes, flavonoïdes, tanins et terpenoïdes dans les deux extraits, ceci est confirmé par une analyse quantitative basée sur le dosage des composés phénoliques et des flavonoïdes dont les valeurs sont : pour les composés phénoliques par macération et ultrason respectivement (égale  $4,1 \pm 0,008$  mg EAG/mg d'extrait et  $4,2 \pm 0,012$  mg EAG/mg d'extrait) et les flavonoïdes (égale  $1,4 \pm 0,004$  mg EQ /mg d'extrait et  $1,3 \pm 0,004$  mg EQ /mg d'extrait ) dans l'extrait éthanolique.

L'effet des extraits sur la réduction du DPPH• a révélé une faible activité par rapport le pouvoir de l'acide ascorbique. L'extrait de macération considéré comme un faible piègeur de radicaux libres DPPH• avec une  $IC_{50}$  de 8,18 mg/ml pour macération et une  $IC_{50}$  de 13,97 mg/ml pour ultrason. Cette activité présente une bonne corrélation avec les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes.

L'effet des extraits sur réducteur du fer a révélé une faible activité par rapport le pouvoir de l'acide ascorbique l'extrait d'ultrason montre une activité supérieure que l'extrait macération avec un  $A_{0,5}$  de 1,61 mg/ml et un  $A_{0,5}$  de 16,06 mg/ml, respectivement.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne d'extraits a révélé activité contre les souches étudiées (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*).

**Mots clés** : feuille *Crocus sativus*, polyphénols, flavonoïdes, activité antioxydant, activité antimicrobienne.

## Abstract

The work is about a medicinal plant *Crocus sativus*, commonly known as saffron which is widely used as a spice and also a very popular medicinal plant in traditional medicine.

The purpose of this work is the phytochemical study and the evaluation of the antioxidant activity and antimicrobial activities of ethanolic extracts of the extract *Crocus sativus* leaves harvested in the area of d'Hassi Khalifa, Wilaya of El-oued (south-eastern Algeria). this extract was obtained by maceration and ultrasound in a polar solvent: ethanol. The respectively yield is: 22% and 20%.

The qualitative analysis of extract by preliminary tests, revealed the presence of phenolic compounds, alkaloids, flavonoids, tannins and terpenoids in both extract, this is confirmed by a quantitative analysis based on the dosage of phenolic compounds and flavonoids whose values are: for phenolic compounds by maceration and ultrasound respectively (equal  $4,1 \pm 0,008$  mg EAG / mg of extract and  $4,2 \pm 0,012$  mg EAG / mg of extract) and flavonoids (equal  $1,4 \pm 0,004$  mg EQ / mg of extract and  $1,3 \pm 0,004$  mg EQ / mg of extract) in the ethanoic extract.

The effect of the extracts on reducing DPPH • showed low activity relative to the potency of ascorbic acid. The maceration extract considered to be a weak scavenger of free radicals DPPH • with an  $IC_{50}$  of 8,18 mg / ml for maceration and an  $IC_{50}$  of 13,97 mg / ml for ultrasound. This activity has a good correlation with the contents of total polyphenols and of flavonoids.

The effect of the extracts on iron reducer revealed a low activity compared to the power of ascorbic acid the ultrasound extract shows a higher activity than the maceration extract with an  $A_{0.5}$  of 1,61 mg / ml and a  $A_{0.5}$  of 16,06 mg / ml respectively

Evaluation of the antimicrobial activity of extracts revealed low activity against the strains studied (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*).

**Key words:** *Crocus sativus* leaf, polyphenols, flavonoids, antioxidant activity, antimicrobial activity.

## الملخص

يركز عملنا على نبات طبي *Crocus sativus*. المعروف باسم الزعفران والذي يستخدم على نطاق واسع كتوابل وأيضًا كنبات مشهور جدًا في الطب التقليدي.

الهدف من هذا العمل هو الدراسة الكيميائية النباتية وتقييم الفعالية المضادة للأكسدة والمضادة للميكروبات للمستخلصات الإيثانولية لأوراق نبات *Crocus sativus* التي تم جمعها في منطقة حاسي خليفة بولاية الوادي (جنوب شرق الجزائر). تم الحصول على هذا المستخلص عن طريق النقع والموجات فوق الصوتية في مذيب قطبي: الإيثانول. العائد على التوالي: 22٪ و 20٪.

أظهر التحليل النوعي للمستخلص عن طريق الاختبارات الأولية وجود مركبات الفينول و القلويدات والفلافونيدات والعفص والتربينويدات في كلا المستخلصين ، وهذا ما أكدته التحليل الكمي على أساس جرعة المركبات الفينولية و الفلافونويد التي تكون قيمها: المركبات الفينولية بالنقع والموجات فوق الصوتية على التوالي (تساوي 4,1 ± 0,008 ملغ / EAG / ملغ من المستخلص و 4,2 ± 0,012 ملغ من EAG / ملغ من المستخلص) وفلافونويد (بساوي 1,4 ± 0,004 ملغ / EQ / ملغ من المستخلص و 1,3 ± 0,004 ملغ / EQ / ملغ من المستخلص الإيثانولي).

أظهر تأثير المستخلصات على تقليل DPPH • فعالية منخفضة مقارنة بفاعلية حمض الأسكوربيك. يعتبر مستخلص النقع من الكاسح الضعيف للجنور الحرة DPPH • مع IC<sub>50</sub> من 8,18 مجم / مل للنقع و IC<sub>50</sub> من 13,79 مجم / مل للموجات فوق الصوتية. هذا النشاط له علاقة جيدة بمحتويات البوليفينول الكلي والفلافونويد .

أظهر تأثير المستخلصات على تقليل الحديد نشاطًا منخفضًا مقارنة بقوة حمض الأسكوربيك ، أظهر المستخلص بالموجات فوق الصوتية نشاطًا أعلى من مستخلص النقع مع 1,61 A<sub>0.5</sub> مجم / مل و A<sub>0.5</sub> من 16,06 مجم / مل. على التوالي.

أظهر تقييم الفعالية المضادة للميكروبات للمستخلصات فعالية منخفضة ضد السلالات المدروسة (*Bacillus subtilis* و *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa*).

**الكلمات المفتاحية:** أوراق الزعفران ، البوليفينول ، الفلافونويد ، النشاط المضاد للأكسدة ، النشاط المضاد للميكروبات.