



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA

RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ECHAHID HAMMA LAKHDAR D'EL-OUED

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE CELLULAIRE ET

MOLECULAIRE

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 racines de *Crocus sativus* issus de la région d'El-Oued

Présenté par : Hassouna Chifa et Zobiri Hiba

Devant le jury composé de :

Présidente : MAHBOUB Nasma

M.C.A,

Université El-Oued

Examinatrice : NADJI Nassima

M.A.A,

Université El-Oued

Promoteur : TLILI Mohammed Laid

M.C.B,

Université El-Oued

Année universitaire : 2020/2021



N° d'ordre :

N° de série :

Remerciements



*Tout d'abord, nous remercions **ALLAH**, notre créateur de nos avoir donné les forces, la volonté et le courage afin d'accomplir ce modeste travail.*

*Nous adressons le grand remerciement à notre encadreur Monsieur **Ilili Mohammed Laïd** qui a proposé le thème de ce mémoire, Nous lui remercions pour son enseignement, son support, ils nous ont toujours bien accueilli malgré les obligations et préoccupations administratives mais avoir accepté de diriger du début à la fin et de suivre ce travail avec ses précieux conseils, sagesse et bienveillance.*

*Nous exprimons aussi nos remerciements à **Mme Mahboub**, qui nous avons fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire et à **Mme Nadji** d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

Nous tenons à exprimer notre grand respect à eux.

*On adresse nos sincères remerciements à **Mr. Touhami Omar laïche** pour ses conseils. Aussi pour son soutien, son attention et son qualités humaines.*

Nous tenons à remercier profondément tout qui nous aide pour faire ce travail, et surtout tous les travailleurs du laboratoire de la faculté des sciences de la nature et de la vie, université Echahid Hamma Lakhdar d'EL-OUED.

*Un grand merci aussi à **Mr. Khanoufa Omar, Mr. KarouiBadreddine Mr. Abdelbasset Kadour** pour leurs aides dans la réalisation de ce travail.*

Enfin nous remercions gracieusement toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



Dédicaces

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 mon frère Abderraouf

À mes sœur Chaima Kaouthar et Meriem

À mon binome Hiba

À tout ma famille et pour tous les proches de mon cœur

Chifa





Dédicaces

Avant tout, je remercie Dieu, le Miséricordieux de m'avoir donné le courage, la force et la patience pour réaliser ce mémoire.

Je dédie ce modeste travail à mon très cher père qui m'a toujours soutenu et qui a été toujours présent pour moi.

A la plus chère au monde, ma mère qui m'a toujours offert ses aides morales durant mes études.

A l'âme de mon cher grand-père

A ma chère grand-mère

Mes chères sœurs Samah et Fadja

Mes chères frères: Khaled, Isslam et Ihssan

A mon cher fiancé Lokmane Gourzi

A mon amie et binôme : Chifa

A mes chères amies : Ibtissam ,Abir ,Souhir ,Zohra

Toutes mes camarades de la promotion de Toxicologie 2020- 2021

*Tous ceux qui ont contribué de près
ou de loin à la réalisation de ce mémoire.*

Hiba



Résumé

Le but de ce travail est d'étudier l'une des plantes modernes dans le domaine médical cultivées au nord du désert algérien, en l'occurrence nous avons récolté la plante de *Crocus sativus* de Hassi Khalifa (El-Oued), pour examiner le contenu des composantes phénoliques des racines, qui extraire par la macération et l'ultrasons, suivi d'une évaluation des activités antioxydant, et antimicrobienne de ses composés. Le criblage phytochimique réalisé a permis de mettre en évidence divers métabolites secondaires des parties sous terrienne de la plante dont tanins, saponosides, alcaloïdes, terpenoïdes, anthraquinones, flavonoïdes et polyphénols. Ces résultats sont identiques dans les deux méthodes. Le dosage quantitatif a montré la richesse en polyphénols totaux, en flavonoïdes dans les deux méthodes avec des valeurs de $28,8 \pm 0,2$ mg EAG/g E, $1,6 \pm 0,2$ mg EQ/g E par la macération et de $27,1 \pm 0,01$ mg EAG/g E, $2,4 \pm 0,3$ mg EQ/g E par l'ultrasons. L'évaluation de l'activité antioxydante, a effectué par deux méthodes (la réduction du fer et le piégeage du radical libre DPPH), elle a révélé une réponse antioxydante considérable par rapport à l'acide ascorbique. Cette activité a indiqué une bonne corrélation avec les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes. L'activité antimicrobienne a déterminé sur trois souches : *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus subtilis*. Les résultats obtenus par les deux méthodes montrent que tous les souches ciblées ont une sensibilité différente au l'extrait éthanolique de *Crocus sativus*.

Mots clés: *Crocus sativus*, polyphénols totaux, flavonoïdes, activité antioxydante, activité antimicrobienne.

Abstract

The purpose of this work is to study one of the modern plants in the medical field cultivated in the north of the Algerian desert, in this case we collected the plant of *Crocus sativus* of Hassi Khalifa (El-Oued), to examine the content of the phenolic components of their roots that extract by maceration and ultrasound, followed by an assessment of the antioxidant, and antimicrobial activities of its compounds. The phytochemical screening made it possible to identify various metabolites secondary parts of the plant including tannins, saponosides, alkaloids, terpenenoids, anthraquinones, flavonoids and polyphenols. These results are identical in both methods. The quantitative assay showed total polyphenols, flavonoids in the two methods with values of 28.8 ± 0.2 mg EAG/g E , 1.6 ± 0.2 mg EQ/g E by maceration and $27.1 \pm ,01$ mg EAG/g E , 2.4 ± 0.3 mg EQ/g E by ultrasound. The evaluation of the antioxidant activity, carried out by two methods (reduction of iron and trapping of the free radical DPPH), it revealed a considerable antioxidant response compared to ascorbic acid. This activity indicated a good correlation with total polyphenols and flavonoids. Antimicrobial activity determined on three strains: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus subtilis*. The results obtained by both methods show that all the targeted strains have a different sensitivity to the ethanolic extract of *Crocus sativus*.

Keywords: *Crocus sativus*, phytochemical screening, total polyphenols, flavonoids, antioxidant activity, antimicrobial activity.

تلخيص

يهدف هذا العمل إلى دراسة إحدى النباتات الطبية في الصحراء الشمالية الجزائرية وهي نبتة *Crocus sativus* المقطوفة من منطقة حاسي خليفة بالوادي . وتحديد محتوى المركبات الفينولية المتواجدة في جذورها المستخلصة عن طريق النقع والموجات فوق الصوتية في محلول الإيثانول، يليه تقييم للأنشطة المضادة للأكسدة والمضادة للميكروبات التي تقوم بها هذه المركبات. أتاح الفحص الكيميائي النباتي التعرف على مختلف أنواع الأيض في الجزء اللاهوائي للنبات بما في ذلك التانينات ، السابونينات ، القلويدات ، التيربينويدات ، الانتراكينونات ، الفلافونويدات والبوليفينولات . وهذه النتائج متطابقة في الطريقتين. وأظهرت المعايير الكمية مجموع البوليفينولات ، الفلافونويدات في الطريقتين مع قيم 0.2 ± 28.8 ملغ EAG/g E ، 0.2 ± 1.6 ملغ EQ/g E عن طريق النقع و 0.1 ± 27.1 ملغ EAG/g E ، 0.3 ± 2.4 ملغ EQ/g E عن طريق الموجات فوق الصوتية. إن تقييم النشاط المضاد للأكسدة ، الذي تم عبر طريقتين (إرجاع الحديد واحتباس الجذر الحر DPPH) ، كشف عن استجابة كبيرة لمضادات الأكسدة مقارنة بحمض الأسكوربيك. ويشير هذا النشاط إلى وجود ارتباط جيد مع مجموع البوليفينول والفلافونويدات. تم تحديد النشاط المضاد للميكروبات على ثلاث سلالات: "*Staphylococcus aureus*" و "*Pseudomonas aeruginosa*" و "*Bacillus subtilis*". أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها بكلتا الطريقتين أن جميع السلالات المستهدفة لها نشاط مختلف تجاه المستخلص الإيثانولي لنبتة *Crocus sativus* .

الكلمات المفتاحية : *Crocus sativus* ، الفحص الكيميائي النباتي ، مجموع الفينولات المتعددة ، الفلافونويدات ، النشاط المضاد للأكسدة ، النشاط المضاد للميكروبات.

Liste des figures

N°	Figures	Page
01	Structure d'unité de base des polyphénols	04
02	Structure générale des flavonoïdes	05
03	Structure de lignane	06
04	Structures chimiques (a) d'un tanin condensé et (b) d'un tanin hydrolysables	07
05	Structure chimique de la coumarine	08
06	Structure de la molécule d'isoprène	11
07	Structures chimiques de quelques alcaloïdes	12
08	Structures chimiques d'anthraquinones	12
09	<i>Crocus sativus.L</i>	14
10	Aspect général de <i>Crocus sativus</i>	15
11	Antibiotique Gen 10	21
12	Milieu de culture Muller Hinton (MI-1) gélose	21
13	Revivification des souches	27
14	Préparation des extraits de macération et d'ultrasons	27
15	Dépôt des disques d'extraits	28
16	Résultats de concentrations inhibitrices 50 % de DPPH.	33
17	Résultats de l'activité antioxydante par le teste FRAP	35
18	Moyennes des diamètres des zones d'inhibition des extraits	36

Liste de Tableaux

N°	Tableaux	Page
01	Classification des composés phénoliques	04
02	Activités biologiques des composés polyphénoliques	09
03	Résultats des tests phytochimiques d'extraits éthanolique	30

Liste des abréviations

Abs : absorbance.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

AlCl₃ : Trichlorure d'Aluminium.

Bs : *Bacillus subtilis*.

C° : Degré Celsius.

DMSO: Dimethylsulfoxyde.

DPPH: Diphényl picryl hydrazyl.

EthOH : Ethanol.

Fe⁺³: Ions ferriques.

FeCl₃: Chlorure de fer.

HCL: Hydrogen chloride.

IC gen : IC₅₀ de Gen 10.

IC m : IC₅₀ de macération.

IC u : IC₅₀ d'ultrasons.

IC₅₀: Concentration inhibitrice à 50%.

MeOH : Méthanol.

Mg EAG/g E: Milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de l'extrait

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

Mg/ml : milligramme/ millilitre.

Mm : millimètre.

Na₂ CO₃: Carbonate de Sodium.

Pa : *Pseudomonas aeruginosa*.

Sa : *Staphylococcus aureus*.

UV : Ultraviolet.

V/V : Volume/Volume.

SOMMAIRE

Remerciements	
Dédicaces	
Résumé	
Liste des Abréviations	
Liste des Figures	
Liste des tableaux	
Introduction	
Première Partie : Synthèse Bibliographique	
Chapitre I: Métabolites secondaires	
I. Composés phénoliques.....	03
I.1. Classification des composés phénoliques	03
A. Les acides phénoliques.....	04
A.1. Propriétés physico-chimique, extraction	05
A.1.1. La solubilité	05
A.1.2. L'extraction.....	05
A.2. Activités biologiques d'acide phénolique.....	05
B. Flavonoïde	05
B.1. Propriétés physico-chimiques des flavonoïdes.....	06
B.2. Activités biologiques des flavonoïdes.....	06
C. Lignanes	06
D. Saponines	07
E. Tannins.....	07
F. Coumarines	08
I.2 . Propriétés des polyphénols.....	08
I.3. Rôles des composés phénoliques	09
I.3.1. Rôle physiologique.....	09
I.3.2. Rôle technologique.....	09
I.3.3. Rôle biologique.....	10
a. Activité antioxydante.....	10
b. Activité antimicrobienne.....	10
I.4. Biosynthèse des composés phénoliques.....	10
I.4.1.Voie de l'acide shikimique.....	10
I.4.2.Voie de l'acétate.....	11

II. Terpenoides.....	11
III. Alcaloïdes.....	11
IV. Anthraquinones.....	12

Chapitre II: Généralités sur l'espèce *Crocus sativus* L

I. Appellation	13
II. Distribution géographique.....	14
III. Caractère botanique	14
IV. Composition chimique du safran	15
V. Les usages du safran.....	16
V.1.Safran en thérapeutique.....	16
V.2. Activité antitussive.....	16
V.3. Effets anti-nociceptifs et anti-inflammatoires.....	16
V.4. Stress oxydatif.....	17
V.5. Anticancer et activité anti-tumorale.....	17
V.6. Autres utilisation.....	17
V.6.1.Le safran comme teinture	17
V.6.2.Le safran comme parfum.....	17
V.6.3.Safran en nourriture.....	18
V.7.Côté cuisine.....	18

Deuxième Partie : Etude expérimentale

Chapitre I: Matériel et méthodes

I. Matériel.....	19
I.1. Matériel biologique.....	19
I.1.1.Matériel végétale.....	19
I.1.2.Souches bactériennes ciblés.....	19
I.2.Matériel non biologique.....	20
I.2.1.Produits chimiques utilisés.....	20
I.2.2.Matériels et appareils utilisés.....	20

I.2.3. Disque d'antibiotique.....	21
I.2.4. Milieu de culture.....	21
II. Méthodes.....	22
II.1. Extraction des composés phénoliques.....	22
II.1.1. Extraction par macération.....	22
a. Principe.....	22
b. Protocole.....	22
II.1.2. Extraction par ultrasons.....	22
a. Principe.....	22
b. Protocole.....	22
II.1.3. Calcul des rendements en extraits secs.....	23
II.2. Analyses qualitatives.....	23
II.2.1. Polyphénols.....	23
II.2.2. Tanins.....	23
II.2.3. Alcaloïdes.....	23
II.2.4. Flavonoïdes.....	23
II.2.5. Saponosides.....	23
II.2.6. Terpenoïdes.....	24
II.2.7. Anthraquinones.....	24
II.3. Analyses quantitatives.....	24
II.3.1. Dosage de polyphénols totaux.....	24
a. Principe.....	24
b. Protocole.....	24
II.3.2. Dosage de flavonoïdes.....	25
a. Principe.....	25
b. Protocole.....	25
II.4. Evaluation des activités biologiques.....	25

II.4.1. Activité antioxydante.....	25
II.4.1.1. Test de piégeage du radical DPPH	25
a. Principe.....	25
b. Protocol.....	26
II.4.1.2. Test de FRAP.....	26
a. Principe.....	26
b. Protocol.....	26
II.4.2. Activité antimicrobienne.....	27
II.4.2.1.Revivification des souches bactériennes.....	27
II.4.2.2.Préparation des disques.....	27
II.4.2.3.Préparation d'extrait.....	27
II.4.2.4.Préparation de l'inoculum.....	28
II.4.2.5.Préparation des milieux de culture avec des suspensions microbiennes.....	28
II.4.2.6.Dépôt le disque.....	28
II.4.2.7.Incubation.....	28
II.4.2.8.Lecture des résultats.....	28
II.5. Analyse statistique.....	29

Chapitre II: Résultats et discussion

I. Rendement d'extrait éthanolique.....	30
II. Tests phytochimiques.....	30
III. Résultats de l'étude quantitative.....	31
III.1.Dosage des polyphénols totaux	31
III.2.Dosage des flavonoïdes.....	32
IV. Evaluation de l'activité antioxydantes.....	33
IV.1. Test de piégeage du radical DPPH.....	33
IV.2.Test de Frap	34
V. Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	36
Conclusion.....	38

Références bibliographiques	40
--	-----------

Annexes

Introduction

Pendant longtemps, les remèdes naturels et surtout les plantes médicinales furent le principal recours de la médecine de nos grands-parents (**EL Rhaffari et Zaid, 2004**), Ils sont utilisés pour soulager et guérir les maladies humaines. En fait, leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de centaines, voire des milliers de composés naturels bioactifs appelés : les métabolites secondaires (**Boudjouref, 2011**), ces dernières, en particulier, sont doués de multiples vertus thérapeutiques. Ils jouent un rôle très important, principalement dans la lutte contre les cancers, les maladies cardiovasculaires et la peroxydation lipidique, expliquant ainsi leur grande utilisation dans la fabrication des médicaments. Ils interviennent aussi dans la protection des plantes contre les différentes attaques microbiennes (**Bruneton, 2009**).

De multiples études, portent sur la recherche de nouveaux constituants naturels tels que les composés phénoliques qui ont des intérêts multiples mis en faveur de l'industrie agroalimentaire (additifs, colorants, arômes, agents de conservation) et pharmaceutique. Toutefois, l'évaluation des propriétés phyto-thérapeutiques comme antioxydants et antimicrobiennes demeure une tâche très intéressante et utile en particulier pour les plantes d'une utilisation rare ou moins fréquente comme le safran (**Bougandoura , 2011**).

Autrefois, Le safran est une épice utilisée depuis plus de 3 000 ans, a parcouru les siècles et essaimé dans les différentes régions du globe pour se retrouver cultivé en France à partir du Xe siècle et en Algérie durant l'occupation française (**Benmostefa et Guellil, 2017**).

La culture du safran commence à prendre de l'ampleur en Algérie, pour cette raison et connaissant son intérêt dans le domaine économique et thérapeutique tels que l'activité antitussive, anti tumorale, Anti Alzheimer, anti inflammatoires et contre le stress oxydatif... etc. (**Belloum et Nani, 2020**). Nous avons estimé nécessaire d'explorer les constituants de cette plante cultivée moderne dans notre région de la wilaya d'EL-oued.

Le présent travail rentre dans le vaste cadre de la recherche de nouvelles substances naturelles extraites du règne végétal, et l'étude de leurs activités biologiques, antioxydants et antimicrobiennes. C'est dans cette optique que notre étude a été scindée en deux parties :

- La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique, qui constitué de deux chapitre l'un sur les métabolites secondaires. Et l'autre sur la présentation de la plante étudiée (*Crocus sativus* L.).
- La seconde partie concerne la partie expérimentale consiste à préparer et déterminer les rendements des extraits éthanoliques obtenue par deux méthodes

macération et ultrasons, et étudier la composition phytochimique, dosage de polyphénols et flavonoïdes et évaluation des activités antioxydante et antimicrobienne des racines du *Crocus sativus*.

Enfin nous avons terminés notre travail par une conclusion générale qui résumera l'ensemble de cette étude et présentera les perspectives.

Première partie

Synthèse bibliographique

Chapitre I.

Généralités sur les composés phénoliques

Tous les êtres vivants ont un métabolisme primaire qui fournit les molécules de base (acides nucléiques, lipides, protéines, acides aminés et glucides). Les plantes produisent, en plus, un grand nombre de composés qui ne sont pas issus directement lors de la photosynthèse, mais résultent des réactions chimiques ultérieures. Ces composés sont appelés métabolites secondaires (Mohammedi, 2013).

Ils sont probablement des éléments essentiels de la coévolution des plantes avec les organismes vivants, tels que parasites, pathogènes et prédateurs, mais aussi pollinisateurs et disséminateurs. Ces différentes relations ont donné lieu à une extrême diversification des composés secondaires (Krief, 2003).

I. Composés phénoliques

Les composés phénoliques Les polyphénols constituent l'un des groupes les plus nombreux et largement distribués des substances dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques connues. Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux et présents dans tous les organes de la plante. Ils résultent biogénétiquement de deux voies synthétiques principales : la voie shikimate et la voie acétate (Lugasi *et al.*, 2003). Ils possèdent un noyau aromatique portant un ou plusieurs groupements hydroxyles (Barboni, 2006 ; Naczk et Shahidi, 2003 ; Sun *et al.*, 2011).

Les composés phénoliques jouent un rôle essentiel dans la structure et la protection des plantes (Naczk et Shahidi, 2003 ; Stalikas, 2007). Ils offrent également, pour la santé humaine, une protection contre certaines maladies impliquant un stress oxydatif, comme les cancers et les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives (Sun *et al.*, 2011).

I.1. Classification des composés phénoliques

Selon Harborne (1989), les polyphénols peuvent être divisés en au moins 10 classes différentes selon leur structure chimique de base. Peuvent s'étendre de molécules simples, tels que les acides phénoliques, aux composés fortement polymérisés, tels que des tannins (Lugasi *et al.*, 2003). Les composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes simples et proanthocyanidines) forment le groupe des composés phytochimiques le plus important des plantes (Tableau 01) (Beta *et al.*, 2005).

Tableau 01: Classification des composés phénoliques (Belguidoum, 2012).

Structure	Classe
C6	Phénols simples
C6-C1	Acides phénoliques et composés dérivés
C6-C2	Acétophénonnes et acides Phénylacétiques
C6-C3	Acides cinnamiques, coumarines, isocoumarines, chromones.
C15	Flavanols, flavanones, flavonols, flavonones, anthocyanines et anthocyanidines.
C30	Biflavonyles
C6-C1-C6, C6-C1-C6	Benzophénones, xanthonnes et stilbéne
C6, C10, C14	Quinones
C18	Bétacyanines
Lignanes, neolignanes	Dimères ou oligomères
Lignine	Polymères
Tanins	Condensé et hydrolysable

A. Les acides phénoliques

Ces acides sont contenus dans un certain nombre de plantes agricoles et médicinales (Psotová *et al.*, 2003). Comme exemple d'acide phénolique, on cite : l'acide chlorogénique l'acide caféique, l'acide protocatechique, l'acide vanillique, l'acide férulique, l'acide sinapique et l'acide gallique) (Figure 01).

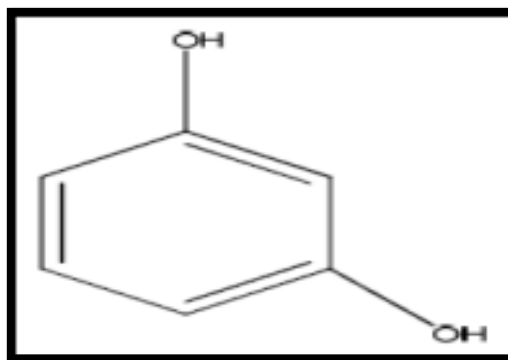


Figure 01 : Structure d'unité de base des polyphénols (Ghnimi, 2015).

A.1. Propriétés physico-chimique, extraction

A.1.1. La solubilité

- Les phénols libres sont solubles dans les solvants organiques polaires (alcool, cétone, éther), les solutions d'hydroxyde de Na et de carbonate de Na.
- Les hétérosides sont solubles dans l'eau.

Les phénols sont des composés instables :

- ✓ Oxydation surtout en milieu alcalin
- ✓ Isomérisation sous l'action des UV (Sahraoui, 2015).

A.1.2. L'extraction

Ils sont extraits par l'alcool ou les solutions hydro-alcooliques à pH légèrement acide (Sahraoui, 2015).

A.2. Activités biologiques d'acide phénolique

Ils sont considérés comme substances phytochimiques avec des effets prebiotique, antioxydant, de chélation et anti-inflammatoire. Leur toxicité est faible et considéré non toxique. Pharmacologiquement, le mieux caractérisé est l'acide caféique (Psotová *et al.*, 2003). Cet acide ainsi que l'acide férulique empêchent la formation du cancer des poumons chez les souris alors que l'acide gallique inhibe la formation du cancer œsophagien chez les rats (Hale, 2003).

B. Flavonoïde

Les flavonoïdes représentent une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols, ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux, dont plusieurs sont responsables de couleur vive des fleurs, des fruits et des feuilles (Figure 02) (Ghedira, 2005 ; Pietta, 2000).

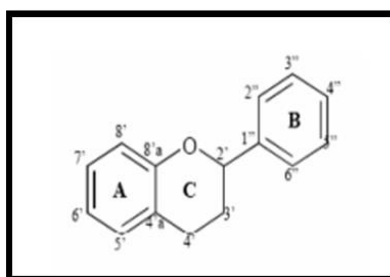


Figure 02 : Structure générale des flavonoïdes (Collin et Creast, 2011).

B.1. Propriétés physico-chimiques des flavonoïdes

Les hétérosides de flavonoïdes sont en général solubles dans l'eau et les alcools. Les génines sont pour la plupart, solubles dans les solvants organiques apolaires. L'extraction par macération est réalisée habituellement à l'aide du méthanol ou éthanol ou de mélanges méthanol-eau ou d'éthanol-eau parfois d'acétonitrile-eau (Sarni-Manchado *et al.*, 2006).

B.2. Activités biologiques des flavonoïdes

Comme cela a été démontré par de nombreux travaux, les flavonoïdes sont des molécules de défense contre les organismes pathogènes, leurs propriétés ont été exploitées pour leur un potentiel en thérapeutique contre les microorganismes. On leur reconnaît des activités antivirales, anti-tumorales, anti-inflammatoires, antiallergiques et anticancéreuses. Ils ont également des actions positives sur le diabète, les maladies d'Alzheimer et de Parkinson (Saffidine, 2015).

C. Lignanes

Sont un groupe de phytonutriments largement distribués dans le règne végétal (Imran *et al.*, 2015). Ce sont des composés dimères formés par le couplage de deux fragments (C6-C3) monomères dérivées de la voie des phénylpropanoïdes (Figure 03) (Gilani et Anderson, 2002).

Les lignanes phénoliques se trouvent dans la plupart des plantes riches en fibres, y compris les graines de citrouille, graines de sésame, les céréales, les fruits et les légumes (Imran *et al.*, 2015). En fonction de la structure, les lignanes peuvent être classés en cinq familles de composés : lignanes, néolignanes, sesquiliganes, dineolignanes, norlignans et des lignanes hybrides (Figure 03) (Calvo-Flores *et al.*, 2015).

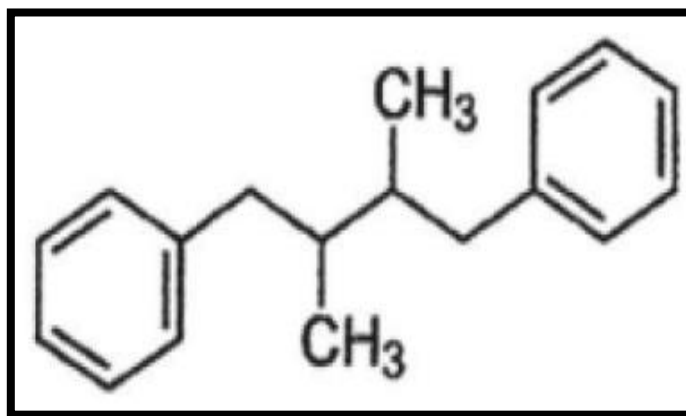


Figure 03 : Structure de lignane (Jost et Jost-Tse, 2016).

D. Saponines

Les saponosides ou saponines sont un groupe de métabolites secondaires, abondamment trouvés dans certaines familles du règne végétal. Ils sont principalement produits par les plantes supérieures, mais aussi par des animaux marins inférieurs et quelques bactéries. Leur nom provient du latin *sapo* signifiant "savon" en raison de leurs propriétés à former des solutions moussantes en présence d'eau. Ce sont des hétérosides de poids moléculaire élevé qui se composent d'une partie lipophile, l'aglycone (ou génine) et d'une partie hydrophile osidique. Cette combinaison d'éléments structuraux polaires et non polaires en leurs molécules explique leur comportement moussant en solution aqueuse (**Fettah et Laouz, 2019**).

Les saponines irritent les muqueuses, produisent un relâchement intestinal, accroissent les sécrétions muqueuses bronchiques (elles sont expectorantes) : fleur de molène, racine de réglisse et de saponaire. Elles sont employées comme diurétiques et désinfectantes des voies urinaires (pédoncule foliaire de l'herniaire, feuille du boulot, racine de la bugrane). la célèbre racine de ginseng (*Panax ginseng*), originaire de Chine, de Corée et des régions les plus orientales de l'ancienne Union soviétique, est également riche en saponines (**Blot et Bernard, 2012**).

E. Tannins

Cette classe désigne le nom général descriptif du groupe des substances phénoliques polymériques, ayant une masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 qui présente, à côté des réactions classiques des phénols, la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines (**Bouchouka, 2016**). Sur le plan structural, les tanins sont divisés en deux groupes : les tanins hydrolysables et tanins condensés (**Figure 04**) (**Clifford et Scalbert, 2000 ; Haslam, 1989 ; Santos-buelga et Scalbert, 2000**).

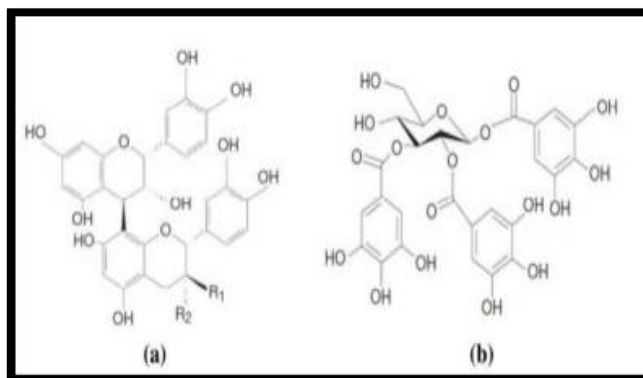


Figure 04 : Structures chimiques (a) d'un tanin condensé et (b) d'un tanin hydrolysables (**Favier, 2003**).

F. Coumarines

Les coumarines constituent une classe importante de produits naturels, elles donnent une odeur caractéristique semblable à celle du foin fraîchement fauché. A l'exception des algues, ces composés sont les constituants caractéristiques du règne végétal chlorophyllien. Les familles les plus riches en coumarines sont : Légumineuse, Rutacées, Apiécées et Thymeleacées. Elles se trouvent dans toutes les parties de la plante et notamment dans les fruits et les huiles essentielles des graines (**Figure 05**) (**Booth *et al.*, 2004; Deina *et al.*, 2003**).

Les coumarines ont des effets différents sur le développement des plantes suivant leur concentration et aussi selon l'espèce. Dans la cellule végétale elles sont principalement présentes sous forme glycosylée, Cette glycosylation est une forme de stockage permettant d'éviter les effets toxiques de ces molécules. Elles sont considérées comme des phytoalexines, c'est-à-dire de métabolites que la plante synthétise en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries. Les coumarines peuvent également se trouver dans le règne animal (les glandes à sécrétion odoriférante du castor) et chez certains microorganismes (**Hoffmann,2003**).

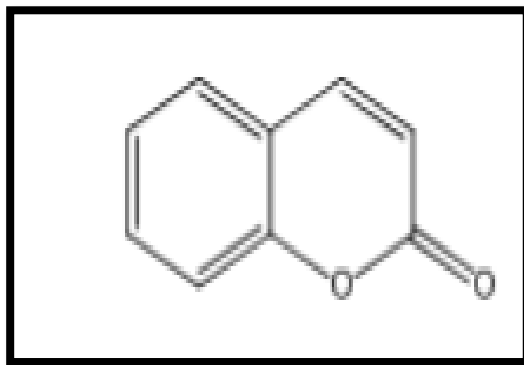


Figure 05 : Structure chimique de la coumarine (**Klenkar et Molnar, 2015**).

I.2 . Propriétés des polyphénols

Comme la majorité des composés secondaires, les polyphénols sont produits par les plantes afin d'accomplir des fonctions précises, les plus notoires étant :

- ✓ Défense contre les pathogènes ; principalement les moisissures et les bactéries phytopathogènes.
- ✓ Dissuasion alimentaire. On parle du phénomène d'allélopathie : certaines plantes émettent des substances pour inhiber la croissance des autres plantes.

- ✓ Attraction des pollinisateurs : les couleurs, mais aussi les odeurs attirent les insectes. Exemple : certaines orchidées synthétisent des phéromones sexuelles qui sont des substances volatiles émises par les insectes femelles pour attirer les mâles.
- ✓ Protections contre les rayonnements UV.
- ✓ Molécules qui donnent des arômes et parfums aux plantes. Ce qui sert principalement à repousser les herbivores. Exemple : les polyphénols des pélargoniums (**Akroum, 2011**).

Ces substances sont dotées de certaines activités résumées dans le **Tableau 02**.

Tableau 02: Activités biologiques des composés polyphénolique (**Medjadji, 2012**).

Polyphénols	Activités
Acides Phénols (cinnamiques et benzoïques)	Antibactériennes, Antifongiques Antioxydants
Cooumarines	Protectrices vasculaires et Antioedémateuses
Flavonoïdes	Antitumorale, Anticarcinogènese Anti-inflammatoires, Hypotenseurs et diurétique, Antioxydantes
Tanins gallique et catéchiques	Antioxydantes

I.3. Rôles des composés phénoliques

I.3.1. Rôle physiologique

Des travaux plus anciens ont montré que les phénols seraient associés à de nombreux processus physiologiques : croissance cellulaires, différenciation, organogenèse, dormance des bourgeons, floraison et tubérisation (**Albert, 1998**).

Les flavonoïdes sont des pigments responsables de la coloration des fleurs, des fruits nets des feuilles. Ils sont universellement présents dans la cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques de feuilles, ils sont susceptibles d'assurer la protection des tissus contre les effets nocifs des rayonnements UV (**Hadi, 2004**).

I.3.2. Rôle technologique

Les polyphénols interviennent dans la qualité alimentaire des fruits. Les anthocyanes et certains flavonoïdes participent à la coloration des fruits murs, ils confèrent aux fruits et légumes

leurs teinte rouge ou bleuté, ils sont aussi responsables des qualités sensorielles et alimentaires des aliments végétaux. L'astringence et l'amertume des nourritures et des boissons dépendent de leurs teneurs (**Lugasiet al., 2003**).

I.3.3.Rôle biologique

a. Activité antioxydante

Les polyphénols et, en particulier, les flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs de l'oxydation. Le rôle protecteur de divers composés phénoliques vis-à-vis de la peroxydation lipidique a fait l'objet de nombreuses études (**Chan et al., 2014 ; Tátraaljai et al., 2014 ; Wu et al., 2015**).

Les antioxydants naturels comme les composés phénoliques, et particulièrement les acides phénoliques et les flavonoïdes peuvent empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant plus rapidement que ce dernier (**Guinebert et al., 2005**).

b. Activité antimicrobienne

Les polyphénols sont doués d'activités antimicrobiennes importantes et diverses, probablement due à leurs diversités structurales. Les sites et le nombre des groupes hydroxyles sur les groupes phénoliques sont supposés être reliés à leur relative toxicité envers les microorganismes, avec l'évidence que le taux d'hydroxylation est directement proportionnel à la toxicité (**Cowan, 1999**). Il a été aussi rapporté que plus les composés phénoliques sont oxydés et plus ils sont inhibiteurs des microorganismes (**Scalbert, 1991**).

Les flavane-3-ols, les flavonols et les tannins ont reçu plus d'attention dû à leur large spectre et forte activité antimicrobienne par rapport aux autres polyphénols, à leur capacité de supprimer un nombre de facteurs de virulence microbienne telle que l'inhibition de la formation de biofilms, la réduction de l'adhésion aux ligands de l'hôte et la neutralisation des toxines bactériennes ainsi qu'à leur capacité d'établir une synergie avec certains antibiotiques (**Daglia, 2011**).

I.4. Biosynthèse des composés phénoliques

I.4.1.Voie de l'acide shikimique

Les deux acides aminés aromatiques (phénylalanine et tyrosine) sont à l'origine de la formation de la plupart des molécules phénoliques chez les végétaux. Ils sont formés, à partir de sucres simples issus du métabolisme primaire, par la voie bien connue de l'acide shikimique,

conduisant à la formation de phénylalanine qui, par désamination, donne le précurseur immédiat des phénols, l'acide cinnamique. L'acide cinnamique est rapidement transformé en acide p-coumarique par l'addition d'un radical hydroxyle. La tyrosine est également désaminée en acide p-coumarique (Chalal *et al.*, 2012).

I.4.2. Voie de l'acétate

C'est une voie à part de l'acétate qui conduit à des poly-cétoesters de longueur variable. Les polyacétates qui engendrent, par cyclisation, des composés souvent polycycliques : isocoumarines, xanthones, quinones etc. La pluralité structurale des composés phénolique est due à cette double origine biosynthétique est encore accrue par la possibilité très fréquente, d'une participation simultanée du shikimate et de l'acétate à l'élaboration de composés d'origine mixte (exemple : flavonoïdes) (Boubekri, 2014).

II. Terpenoïdes

Les terpènes sont des substances généralement lipophiles qui dérivent d'une entité simple à cinq atomes de carbone. Leur grande diversité trouve son origine dans le nombre d'unités de base qui composent la chaîne ainsi que dans les divers modes d'assemblage. La formation de structures cyclique, l'addition de fonctions comprenant de l'oxygène et la conjugaison avec des sucres ou d'autres molécules peuvent rendre leurs structures complexes (Figure 06) (Hopkins, 2003).

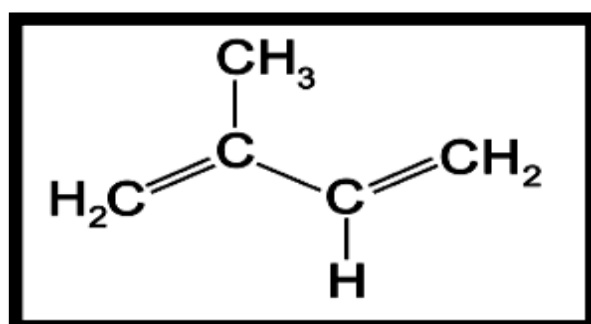


Figure 06 : Structure de la molécule d'isoprène (Amor, 2020).

III. Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances naturelles et organiques provenant essentiellement des plantes et qui contiennent au moins un atome d'azote dans leur structure chimique, avec un degré variable de caractère basique. Depuis l'identification du premier alcaloïde en 1806, plus de dix mille alcaloïdes ont isolés des plantes (Figure 07) (Boutaghane, 2013). Les alcaloïdes ayant des

masses moléculaires très variables de 100 à 900 g/mol. La plupart des bases non oxygénées sont liquides à température ordinaire celles qui comportent dans leur formule de l'oxygène sont des solides cristallisables, rarement colorés (**Rakotonanahary, 2012**). Les alcaloïdes peuvent se trouver dans toutes les parties de la plante, mais selon l'espèce de la plante, ils s'accumulent uniquement dans les écorces, dans les racines, dans les feuilles (**Mauro, 2006**).

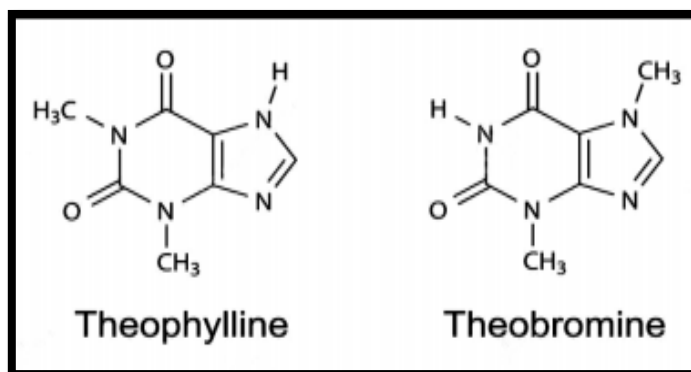


Figure 07 : Structures chimiques de quelques alcaloïdes (**Bruneton, 2009**).

IV. Anthraquinones

Les dérivés hydroxyanthracéniques ou les anthracénosides sont des composés phénoliques hétérosidiques dérivant de l'anthracène à degré d'oxydation variable (anthrone, anthranol et anthraquinone) doués de propriétés laxatives à faible dose et purgatives à dose élevée (**Figure 08**) (**Sahraoui, 2015**).

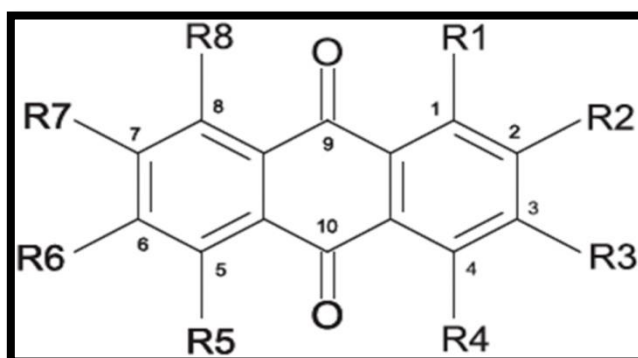


Figure 08: Structures chimiques d'anthraquinones (**Fouillaud et al., 2016**)

Chapitre II.
Présentation de *Crocus*
sativus

Le nom safran est dérivé du latin *safranum*, qui est inspiré de l'arabe "zaafarân". Sa racine représente le concept de base, qui est jaune. Le nom du crocus Il vient du grec *Krokos*, qui signifie "filament", qui fait allusion à la stigmatisation d'une plante. Cette Dans le même temps, le mot «sativus» signifie «cultivé» car les crocus sont reproduits Alimentation, il est impossible de se reproduire sans mains humaines (Chahine, 2014).

L'histoire du safran dans la culture et les coutumes humaines remonte à 3000 ans (Deo, 2003); il existe dans de nombreuses cultures, continents et civilisations. Avec son utilise du safran amer, foin et légèrement métallique Comme assaisonnement, parfum, teinture et médicament. On dit qu'il est du Moyen-Orient (Grigg, 1974 ; Hill, 2004), pourrait être le premier planté au Cachemire (Mcgee, 2007). Cette L'ancienne civilisation de la Mésopotamie a utilisé cette précieuse épice comme Assaisonner, laver les vêtements et participer aux cérémonies religieuses. À travers l'histoire, La couleur du safran est considérée comme un symbole de lumière, de spiritualité et de sagesse (Delgado *et al.*, 2006).

Hébreux et Les Égyptiens utilisaient le safran pour aromatiser et colorer les aliments lors des fêtes religieuses Le médecin de Pharaon a également prescrit des médicaments pour tous les problèmes d'estomac. (Chahine, 2014). Dans l'Égypte ancienne, il était également utilisé pour colorer le linceul de la momie (Carmona *et al.*, 2006). En raison de sa couleur et de son arôme puissant, il Utilisé en cosmétique: Cléopâtre est utilisé dans les traitements à base de plantes et Colorez ses lèvres, ses ongles et ses cheveux. Les Romains utilisaient cette épice Parfum et nombreuses cérémonies: les rues de Rome regorgent de safran Quand Nero est entré dans la ville (Carmona *et al.*, 2006).

En raison de sa couleur et de son arôme puissant, il Utilisé en cosmétique: Cléopâtre est utilisé dans les traitements à base de plantes et Colorez ses lèvres, ses ongles et ses cheveux. Les Romains utilisaient cette épice Parfum et nombreuses cérémonies : les rues de Rome regorgent de safran Quand Nero est entré dans la ville (Carmona *et al.*, 2006). Le safran a ensuite été transmis Aux Grecs et aux Romains qui utilisaient des usages différents: dans les arts culinaires, Parfum, teinture. Il en va de même en Inde et au Maroc. En Sicile et en Italie, La culture du safran remonte aux Romains. Les Arabes au IX^e siècle l'ont introduit d'Afrique en Afrique Nord, puis Espagne (Chahine, 2014).

I. Appellation

Cette plante étudié est possède de nombreux noms:

Nom scientifique : *Crocus sativus* L.

Noms communs : safran, fleur de *Crocus sativus*

Anglais : Safran crocus

Français : safran, safran cultivé, safran de Gâtinais

Arabe : Azzaàfarane, AzzaàfaraneAlhorr, Azzaàfaranechaàra (**Rahmouni et Reghis, 2016**).

II. 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 (**Palomares, 1988**).

III. Caractère botanique

Crocus sativus L.(**Figure 09**)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 ; Chahine, 2014**).La classification taxonomique de la série *C. sativus* est la suivante: (**Saxena, 2010 ; Srivastava et al., 2010**).

Division : Spermatophyte

Sous-division : Angiosperme

Classe : Monocotylédone

Sous-classe : Liliidae

Ordre : Liliales

Famille : Iridaceae

Genre : *Crocus*

Espèce : *Crocus sativus*



Figure 09 : *Crocus sativus* .L (Small,2016).

La famille des Iridaceae comprend 1800 espèces dont les iris, les glaïeuls, les crocus. Ces plantes ont pour caractéristiques communes un ovaire infère et un androcée comportant trois étamines disposées en un seul verticille (Dupont, 2007). Parmi les 85 espèces appartenant au genre crocus, le safran est l'espèce la plus fascinante (Figure 10).

Notons qu'il existe deux groupes de crocus : les crocus à floraison automnale comme *Crocus sativus* et les crocus à floraison printanière tels que *Crocus vernus* L (Dupont, 2007).

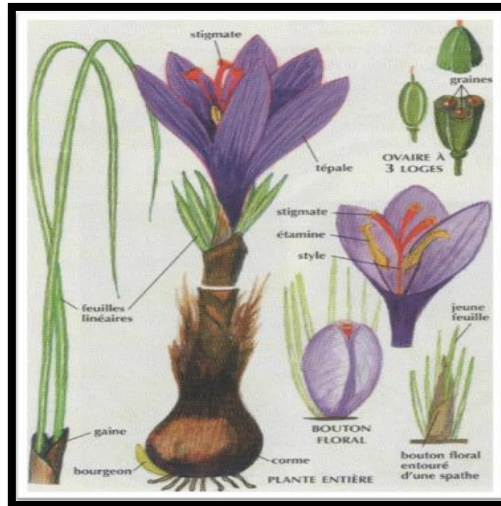


Figure 10 : Aspect général de *Crocus sativus* (Arvy et Gallouin, 2003).

IV. Composition chimique du safran

La composition du safran est très complexe : il contient plus de 150 composés volatils et aromatiques. Le safran possède également plusieurs composés non-volatils, les principaux étant les caroténoïdes. Ces composés ont été identifiés par HPLC (High-Performance Liquid Chromatography) (Lech *et al.*, 2009). La lyophilisation peut être appliquée au safran, car aucune perte en composés volatils majeurs n'a été constatée. La détermination de la composition chimique du safran est délicate, car elle suppose une identification botanique correcte, des stigmates non adultérés et sans déchets floraux (Basker, 1999 ; Moghaddasi, 2010).

Des données moyennes de l'analyse chimique du safran sont indiquées ci-dessous:

- ✓ Glucide (12 à 15%) : glucose, fructose, gentibose, xylose et ramones.
- ✓ Eau (9 à 14%)
- ✓ Cellulose (4 à 7%)
- ✓ Polypeptides (11 à 13 %)
- ✓ Lipides (3 à 8 %) : campestérol, stigmastérol et β -sitostérol.
- ✓ Matières minérales (1 à 1.5 %)

- ✓ Vitamines: B2 ou riboflavine (56,4 à 138 µg/g) et B1 ou thiamine (4,0 à 0,9 µg/g)
- ✓ Divers, non azotés (40%)
- ✓ Acides gras : acides palmitique, stéarique, oléique, et linoléique.
- ✓ Caroténoïdes : α , β , et γ -crocétine, crocine (10%), picrocrocine (4%), α et β -carotène, lycopène, phytoène et zéaxanthine.
- ✓ Huiles essentielles (0,3 à 2,0%): où domine le safranal (60%).

Compte tenu de sa large gamme d'utilisations médicales, le safran a été l'objet de vastes études phytochimiques et biochimiques et une variété d'ingrédients biologiquement actifs ont été isolés. Les métabolites secondaires majoritaires du safran sont : la crocine, responsable de la couleur rouge-jaune, la picrocrocine responsable de la saveur et le safranal, composé volatil majoritaire, responsable de l'odeur et de l'arôme (Benmostefa et Guellil, 2017).

V. Les usages du safran

Avec son goût amer, son parfum de foin et ses notes légèrement métalliques, le safran a été utilisé comme assaisonnement, parfum, teinture et médicament. De l'antiquité à l'époque actuelle, et partout autour du monde, la plus grande partie du safran produit était et est toujours utilisé en cuisine, les traditions culinaires suivant l'expansion de la culture en Afrique, en Asie, en Europe, et en Amérique. D'un point de vue médical, le safran était autrefois utilisé pour traiter un large éventail de maux, aussi divers que la variole, la peste bubonique ou encore les indigestions. Actuellement, plusieurs essais cliniques démontrent le potentiel du safran en tant qu'agent antioxydant et comme anticancéreux. Le safran a également été employé pour colorer des textiles et d'autres objets (Verma et Bordia, 1998 ; Chryssanthi *et al.*, 2011).

V.1. Safran en thérapeutique

Diverses études pharmacologiques ont été décrites : le safran et ses constituants (Crocine, crocétine et safranal) présentent des propriétés bénéfiques différentes, y compris les antioxydants, anticancéreux, anticonvulsivants, anti-ischémiques, antigénotoxiques, antidote, antiapoptotiques, antitussifs, antidépresseurs, sédatifs et hypnotiques, hypolipidémiques, antinociceptifs Et effets anti-inflammatoires (Rahimi, 2015).

V.2. Activité antitussive

L'extrait éthanolique de *Crocus sativus* et son safranique constitutif a permis de réduire le nombre de toux chez les cobayes lorsqu'ils sont injectés intrapéritonéalement lorsqu'une solution d'acide citrique (20%) a été utilisée pour induire la toux (Bhargava, 2011).

V.3. Effets anti-nociceptifs et anti-inflammatoires

Les stigmates du safran et les extraits de pétales ont présenté des effets antinociceptifs dans le test de la douleur chimiquement induite ainsi que l'activité anti-inflammatoire aiguë et / ou

chronique, et ces effets peuvent être dus à la présence de flavonoïdes, de tanins, d'anthocyanines, d'alcaloïdes et de saponines (**Srivastava et al., 2010**).

V.4. Stress oxydatif

Les propriétés anti-oxydantes du safran se manifestent par son effet inhibiteur sur les réactions en chaîne des radicaux libres. Le safran étant riche en vitamine B2 et provitamine A, il représente un des meilleurs antioxydants naturels pour lutter contre le vieillissement des cellules. En effet, les caroténoïdes agissent comme une protection active contre les espèces radicalaires. Ainsi, il a été montré que le safran protège les cellules cardiaques en augmentant la défense anti-oxydante dans le cas d'endommagements dus à l'ischémie-reperfusion et dans le cas des maladies cardiovasculaires (**Chahine, 2014**).

V.5. Anticancer et activité anti-tumorale

Les extraits de safran ont un effet anti-tumorale *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 proposées 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 antioxydantes. 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**).

V.6. Autres utilisations

V.6.1. Le safran comme teinture

Les stigmates présentent une teinture jaune soluble dans l'eau, à très fort pouvoir colorant puisqu'une partie de safran peut colorer en jaune 100 000 parties d'eau. Il s'agit d'une teinture directe qui colore les fibres plongées directement dans la solution tinctoriale. Une décoction de stigmates teint en peu de temps la laine, la soie et les fibres végétales en orange ou jaune intense. Plus les teintures sont concentrées en couleurs, plus elles résisteront à l'exposition au soleil et à la lumière (**Cardon, 2003**).

V.6.2. Le safran comme parfum

Avec les fleurs, les agrumes et les bois, les épices sont des constituants essentiels de la parfumerie, et leur utilisation n'a jamais décliné. Elles apportent de la force, du caractère et de la puissance au parfum (**Palomares, 2015**).

V.6.3.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**).

V.7.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**).

Deuxième partie

Expérimentale

Chapitre I.

Matériel et méthodes

Notre étude expérimentale a été réalisée au sein du laboratoire de toxicologie du département de biologie cellulaire et moléculaire, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université d'El-Oued, qui consiste à tester phytochimique de partie souterraine de *Crocus sativus*, dosage et l'évaluation de leurs activités antioxydante et antibactériennes.

I. Matériel

I.1. Matériel biologique

I.1.1. Matériel végétale

Le matériel végétal, exploité dans cette étude, est constitué de racines de *Crocus sativus*, qui ont été récoltées au mois décembre 2020 dans la région de Hassi khelifa à El-oued (sud-est d'Algérie).

La plante fraîchement récoltée, est lavée et laissée séchée à l'ombre dans un endroit sec et aéré, à l'abri de la lumière et cela presque 30 jours. Après séchage, l'échantillon a été broyée à l'aide d'un broyeur électrique à des fines poudres et conservées à sec dans des boîtes en verre.

Le choix s'est porté sur *Crocus sativus*. C'est l'une des plantes les plus chères, c'est pourquoi elle a été appelée « or rouge » dans le monde, et dans la région d'El-oued est récemment apparu dans le domaine agricole. C'est ce qui nous a fait étudier la caractérisation biologique de cette plante.

I.1.2. Souches bactériennes ciblés

Les souches microbiennes utilisées dans cette recherche pour l'activité antimicrobienne sont des souches référencées. Elles conservées dans le congélateur dans des boîtes pétri à visser contenant milieu nutritive jusqu'à l'utilisation.

✓ ***Bacillus subtilis* ATCC 6633**

Bacillus subtilis a une apparence en forme de bâtonnet et appartient à la famille des bactéries gram-positives. En plus d'être largement présente dans la nature, elle fait également partie de la flore microbienne intestinale. Les colonies de *Bacillus subtilis* ont une taille irrégulière et de grande taille avec des marges. Ils ont une couleur blanche et terne et une texture sèche (Danja *et al.*, 2016).

✓ ***Staphylococcus aureus* ATCC 25983**

Cocci à Gram positif, immobiles et disposés en amas, responsables d'infections graves communautaires et nosocomiales, d'infections des plaies et infections pulmonaires (Berregioua, 2016).

✓ ***Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853**

P. aeruginosa est un bacille non fermenté, aéro-strict, non sporulé, fin, bacille Gram négatif Mobile grâce au ciliaire polaire opportuniste peu ou pas virulente chez l'individu sain mais qui peut s'avérer redoutable chez les sujets dont l'immunité est affaiblie (Sicard , 2012).

Le choix des souches bactériennes testées dans la présente étude était basé sur le caractère de multi résistance envers l'antibiotique classique et l'agent pathogène le plus fréquemment impliqué dans les infections humaines, d'origines bactériennes (Kayser *et al.*, 2005).

I.2. Matériel non biologique

I.2.1. Produits chimiques utilisés

Dans cette étude nous avons utilisé : méthanol et éthanol absolu comme solvants et les réactifs chimiques : $AlCl_3$; Folin ciocolteu ; Carbonate de sodium (Na_2CO_3); 2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl (DPPH); Acide ascorbique ; Acide gallique ; quercétine; diméthyle sulfoxyde (DMSO); $FeCl_3$; HCl ;copeaux de Mg ; NH_4OH ; réactif de wagner ;Chloroforme; Acide sulfurique; l'eau physiologique; eau distillée.

I.2.2. Matériels et appareils utilisés

- Ultrasons
- Spectrophotométrie UV-Visible
- Balance de précision
- Papier filtre
- Bain marie
- Agitateur magnétique
- Etuve Autoclave
- Tube à essai
- Micropipette
- Papier aluminium
- Bec Benzène
- Pince à dissection avec griffes
- Réfrigérateur
- Disques vide stériles
- Entonnoire
- Spatule
- Cuve
- Centrifugeuse
- Seringue

- Alcool chirurgical
- Bécher
- Plaque de verre
- Hotte
- Gants et masques pour manipulation des produits dangereux

I.2.3. Disque d'antibiotique

On a utilisé un antibiotique comme référence. Il s'agit de la gentamicine (**GEN10**), Ce choix a été fait en fonction de la disponibilité (**Figure 11**).



Figure11 : Antibiotique Gen 10 (Zobiri et Hassouna, 2021).

I.2.4. Milieu de culture

Nous avons utilisé pour les souches bactériennes le milieu de la culture Muller Hinton (MI-1) gélose (**Figure 12**).

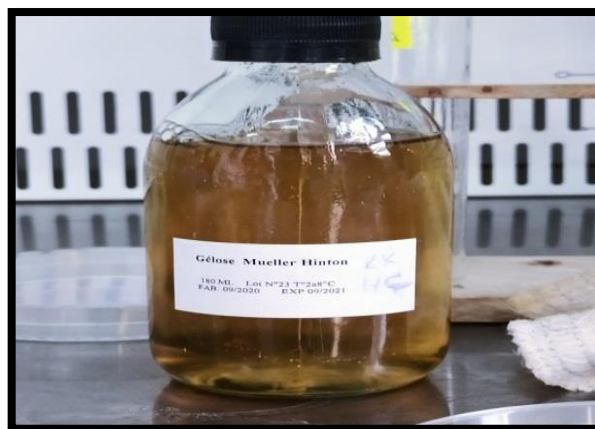


Figure 12: Milieu de culture Muller Hinton (MI-1) gélose (Zobiri et Hassouna, 2021).

II. Méthodes

II.1. Extraction des composés phénoliques

II.1.1. Extraction par macération

a. Principe

La méthode consiste à mettre en contact le matériel végétal avec un solvant sans ou avec agitation. Bien que le temps d'extraction soit long et utilisé une quantité considérable de solvant est relativement peu coûteuse. De plus, c'est arrivé dans la température ambiante est très bénéfique pour maintenir l'intégrité de la molécule polyphénols (**Budic-letoc et al., 2005 ; Spigno et De faveri, 2007**).

b. Protocol

2 g des racines de *Crocus sativus* broyé est macérée dans 20 ml de solution hydro-alcoolique (éthanol-eau : 80/20), en considérant que le matériel végétal devait être entièrement submergé par la quantité suffisante d'éthanol. Après 24 h le mélange a été séparés par filtration sur papier filtre. La solution éthanolique est évaporée à l'etuve memmert UN30 de laboratoire a température 40°C pendant 24 h (**Lahmar et al., 2015**).

II.1.2. Extraction par ultrasons

a. Principe

Cette partie consiste à faire des extractions sur la biomasse des racines de *Crocus sativus* par ultrasons afin de tester leur efficacité mais aussi déterminer les facteurs qui les affectent. L'extraction par ultrasons est réalisée comme suit : dans un récipient approprié, la biomasse broyée et tamisée est exposée pour une durée déterminée à une émulsion ultrasonique. Une fois l'extraction terminée, le mélange sera séparé par filtration pour éliminer les particules résiduelles de biomasse et récupérer l'extrait riche en principes actifs et métabolites secondaires (**Nait Sidi Ahmed, 2012**).

b. Protocol

Le ratio poudres végétales/éthanol pour l'extraction assistée aux ultrasons est le même que pour la macération, de manière à faciliter la comparaison entre les deux méthodes. Les drogues ont été ici placées dans un erlenmeyer de 250 ml, lui-même placé dans un bain thermostaté à 30°C pour compenser les hausses de températures engendrées par la haute agitation moléculaire générée par les ultrasons. Un générateur d'ultrasons (J.P. SELECTA université d'El-oued) de 720 W, pendant 15 min. Le mélange poudres végétales-extraits solvants résultant a par la suite été traité exactement de la même manière que le mélange obtenu par macération pour arriver au final à une solution d'extraits (**Stpierre, 2012**).

II.1.3. Calcul des rendements en extraits secs

Nous pouvons déterminer le rendement des extraits secs des racines de *Crocus sativus* en calculant le rapport suivant :

$$\text{Rendement (\%)} = (P1 - P2)/P3 \times 100$$

- P1: poids du ballon après évaporation.
- P2: poids du ballon avant évaporation.
- P3: poids de la matière végétale de départ

II.2. Analyses qualitatives

Cette étude permet de mettre en évidence la présence de quelques groupes chimiques (les alcaloïdes, flavonoïdes...etc.) dans notre plante. Le matériel végétal pulvérisé est épuisé successivement par macération et ultrasons. Les tests phytochimiques pour polyphénols, tanins, alcaloïdes, flavonoïdes, saponosides, anthraquinones et terpenoides.

II.2.1. Polyphénols

Dans un tube à essai, on ajoute 0,5 ml d'extrait avec et 2 ml d'une solution aqueuse de (FeCl₃) à 2% La présence des phénols indiqué par une coloration noire (**Zerargui, 2015**).

II.2.2. Tanins

Dans un tube à essai, introduire 0,5ml d'extrait à analyser et ajouter 0,25ml d'une solution aqueuse de FeCl₃ à 2%, la présence des tanins est indiquée par une coloration verdâtre ou bleu (**Deramchi, 2015**).

II.2.3. Alcaloïdes

Dans un tube à essai, introduire 0,5 ml de l'extrait à analyser. Acidifier le milieu par quelques gouttes de HCl et ajouter 0,5 ml de réactif de Wagner. L'apparition d'un précipité blanc ou brun, respectivement révèle la présence d'alcaloïdes (**Paris et Moyse, 1969**).

II.2.4. Flavonoïdes

0,5 ml de l'extrait a été traité par quelques gouttes d'acide chlorhydrique concentré HCl et quelques tournures de magnésium, l'apparition d'une coloration rouge, orange ou jaune indique la présence des flavonoïdes (**Zerriouh, 2015**).

II.2.5. Saponosides

Dans un tube à essai, introduire 2ml de l'extrait à analyser, agiter pendant 15 secondes et laisser le mélange au repos pendant 15min. Une hauteur supérieure à 1 cm d'un mousse indique la présence de saponines (**Yadav et Agarwala, 2011**).

II.2.6. Terpenoides

À 0,5 ml d'extrait, sont ajoutés 0,4 ml de chloroforme et 0,5ml d'H₂SO₄. Le test positif est indiqué par l'apparition de deux phases et une couleur marron à l'interface (**Kablan et al., 2008**).

II.2.7. Anthraquinones

Un volume de 1 ml de NH₄OH à 10% est mélangé avec 0,5 ml d'extrait, en maintenant l'agitation. La coloration violette indique la présence des anthraquinones (**Oloyede, 2005**).

II.3. Analyses quantitatives

II.3.1. Dosage de polyphénols totaux

a. Principe

La teneur phénolique totale est habituellement déterminée colorimétriquement avec un spectrophotomètre en utilisant l'essai de Folin-Ciocalteu. Les composés phénoliques réagissent avec le réactif de Folin-ciocalteu. Le mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMO₁₂O₄₀) est réduit, lors de l'oxydation des polyphénols, en un mélange d'oxyde bleu de tungstène (W₈O₂₃) et molybdène (Mo₈O₂₃). La coloration produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présente dans les extraits végétaux (**Boizot et Charpentier, 2006**).

b. Protocol

La teneur en phénols totaux des extraits (aqueux et méthanolique) des plantes qui font l'objet d'analyse a été déterminée par la méthode de **Singleton et Rossi (1965)**.

Une quantité de 200µl des extraits de chaque plante est mélangé avec 1ml du réactif de Folin–Ciocalteu fraîchement préparé (10 fois dilué) et 0,8ml de carbonate de sodium à 7,5 % Na₂CO₃. L'ensemble est incubé à température ambiante pendant 30 minutes et la lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 765nm. Une courbe d'étalonnage (y=ax+b) a été réalisée en parallèle par l'acide gallique à différentes concentrations dans les mêmes conditions que les échantillons (**Singleton et Rossi, 1965**).

Les résultats ont été exprimés en milligrammes équivalent d'acide gallique par gramme du poids sec de la plante en poudre en appliquant la formule suivante:

$$C=(c \times V) / m$$

- **C** : La teneur en phénols totaux (mg d'acide gallique / g de matière sèche).
- **c** : La concentration de l'acide gallique établie à partir de la courbe d'étalonnage (mg/ml).
- **V** : Volume de l'extrait méthanolique ou aqueux
- **m** : Le poids de la matière sèche (g).

II.3.2. Dosage de flavonoïdes

a. Principe

Le dosage des flavonoïdes contenus dans les extraits de *Crocus sativus* a été effectué par une méthode basée sur la formation de complexe entre les composés phénoliques et le trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ (méthode colorimétrique). Les complexes produits sont de couleur jaune absorbent dans le visible à 420 nm. Le flavonoïde utilisé comme référence dans cette méthode est la quercétine (**Bahorun et al., 1996**).

b. Protocol

Mettre 0,5ml d'extrait dans un tube à essai ; Ajouter 0,5 ml de solution éthanolique de chlorure d'aluminium à 2 % ; laisser incuber 1h à température ambiante. Lire les absorbances à partir du spectrophotomètre UV-visible à 420 nm (**Bozin, 2008**).

On effectue la même opération pour la quercétine à différentes concentrations, en introduisant 0,5 ml de ces dernières dans une série de tubes, on ajoute de 0,5 ml d' $AlCl_3$ à 2%. Le blanc est représenté par le solvant utilisé additionné à l' $AlCl_3$. La concentration des flavonoïdes est déduite à partir de la courbe d'étalonnage établie avec la quercétine, elle est exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait (mg ER/g d'extrait) (**Bozin, 2008**).

Le flavonoïde utilisé comme référence dans cette méthode est la quercétine à différentes concentrations (0-0,1mg/ml), dans les mêmes conditions de dosage. La concentration des flavonoïdes est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine et est exprimée en microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait (μ g EQ/mg d'extrait) (**Meziti, 2009**).

II.4. Activités biologiques

II.4.1. Activité antioxydante

II.4.1.1. Test de piégeage du radical DPPH

a. Principe

Le test DPPH, qui utilise une réaction d'oxydoréduction avec le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl radical, a été utilisé pour déterminer la capacité anti-oxydante des extraits. Le radical a une couleur violette en raison de l'électron non apparié d'azote et, après réaction avec l'atome d'oxygène d'un piègeur de radicaux de la réduction de DPPH-H (2,2- diphényl-1-picrylhydrazin) est formé, qui est jaune (**Villano et al., 2007**). Le changement de couleur peut être suivie par spectrophotométrie à 517nm et de cette façon le potentiel antioxydant d'une substance ou un extrait de plante peut être déterminée (**Molyneux, 2004 ; Popovici, 2009**).

b. Protocol

Dans notre étude on a suivi la procédure faite par **Al-Nadaf *et al.*, (2018)** comme elle est décrite ici, 50 µl d'extrait et de différents dilutions qui sont comprises entre 0 et 10 mg/ml, ainsi que les standards le vitamin c (entre 0 et 1 mg/ml), et le contrôle sont ajoutées à 1950 µl d'une solution méthanolique du DPPH (0,04 mg/ml). Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 20 min et la décoloration par rapport au contrôle négatif contenant uniquement la solution de DPPH est mesurée à 517 nm.

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

II.4.1.2. Test de FRAP**a. Principe**

Le test de réduction du fer, est présentée comme nouvelle méthode d'évaluation "antioxydant." essai simple, rapide et reproductibles (**Benzie et Strain, 1996**), Il est universel peut être appliquer aussi bien chez les plantes et que les plasmas et dans les extraits organique et aqueux (**Li *et al.*, 2007**). Cette méthode correspond à la réduction d'un complexe tripyridyltriazine ferrique [(Fe(III)-TPTZ)₂] en un complexe tripyridyltriazine ferreux [(Fe(II)-TPTZ)₂] par un antioxydant (RH), à un pH bas pour maintenir la solubilité du fer. (Fe (II) - TPTZ a une couleur bleu intense et peut être contrôlé à 700 nm (**Szőllősi *et al.*, 2002**).

b. Protocol

L'activité réductrice du fer de nos extraits est déterminée selon la méthode décrite par **Oyaizu (1986)**, basée sur la réduction du Fe³⁺ présent dans le complexe K₃Fe(CN)₆ en Fe²⁺.

- 0,25 ml de l'extrait à différentes concentrations est mélangé avec 0,625 ml d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 0,625 ml d'une solution de ferricyanure de potassium K₃Fe(CN)₆ à 1%.
- L'ensemble est incubé au bain marie à 50°C pendant 20 minutes ensuite ;
- 0,625 ml d'acide trichloroacétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction ;
- 0,625 ml du l'ensemble sont mélangés à 0,625 ml d'eau distillée et 0,125ml d'une solution de chlorure ferrique fraîchement préparé à 0,1%.

La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée qui permet de calibrer l'appareil (UV-VIS spectrophotomètre). Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons.

Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (Hubert, 2006).

II.4.2. Activité antimicrobienne

II.4.2.1. 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 ensemercer en stries la surface de la gélose nutritive préalablement coulée et solidifiée dans les boîtes de Pétri quelques colonies des souches conservées à 4°C (milieu gélose nutritif pour les bactéries). Les boîtes de Pétri renfermant chacune une souche de bactérie sont incubées à 37°C pendant 24 h (Bouchouka, 2016) (Figure 13).



Figure 13 : Revivification des souches (Zobiri et Hassouna, 2021).

II.4.2.2. Préparation des disques

Des disques de 6 mm de diamètre sont découpés du papier Wattman N° 6 et stérilisés dans un autoclave pendant 20 min à 120°C (Yin *et al.*, 2013).

II.4.2.3. Préparation d'extrait

10 mg d'un extrait de *Crocus sativus* a été préparé dans 1 ml de DMSO (Vora *et al.*, 2018) (Figure 14).

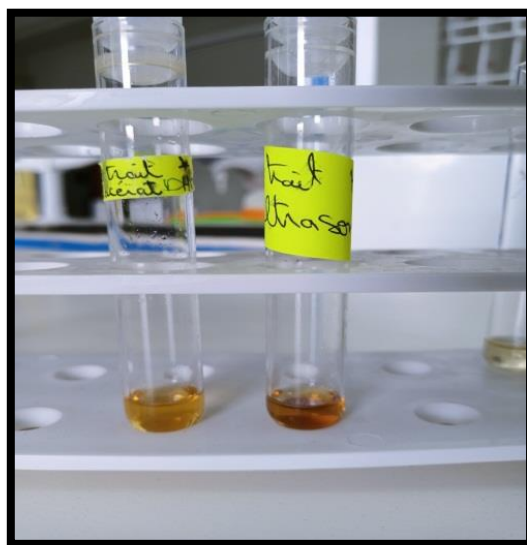


Figure 14 : Préparation des extraits de macération et d'ultrasons (Zobiri et Hassouna, 2021).

II.4.2.4. Préparation de l'inoculum

A partir des cultures jeunes préparées, on prélève quelques colonies des bactéries dans 5 ml d'eau physiologique stérile à 0,9 %. On agite ensuite les tubes au vortex pendant quelques secondes (Ouis, 2015 ; Reghioua, 2006).

II.4.2.5. Préparation des milieux de culture avec des suspensions microbiennes

Cette étape consiste à liquéfier le milieu de culture Mueller-Hilton dans un bain marie, puis, on coule aseptiquement les milieux en sur fusion dans des boîtes de Pétri à raison de 6 mm par boîte. On laisse refroidir et solidifier sur la pailleuse puis, on réalise l'ensemencement par ose bouclée stérile contenue des suspensions microbiennes et on verse en tournant la boîte (Hoekou *et al.*, 2012).

II.4.2.6. Dépôt le disque

Une fois le milieu de culture contenant les suspensions microbiennes solidifié, 2 comprimés de pipette stériles de 6 mm sont prélevés de manière stérile à l'aide de pinces stériles et il est infusé d'extrait de *Crocus sativus*. A testez, puis placez-le sur de la gélose pré-préparée (3 boîtes de chaque type) (Labioud, 2016) (Figure 15).

Un disque d'antibiotique (Gen10) est utilisé comme contrôle positif (3 boîtes) (Figure 15).



Figure 15 : Dépôt des disques d'extraits (Zobiri et Hassouna, 2021).

II.4.2.7. Incubation

On incube les boîtes de Pétri à 37°C pendant 24h pour les bactéries (Lahoum *et al.*, 2016).

II.4.2.8. Lecture des résultats

Les résultats sont lus en fonction de l'existence ou non de zones d'inhibition. La sensibilité de l'espèce est estimée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour des disques imprégnés de différentes concentrations d'extrait éthanolique de la plante (Abbassi et Touil, 2019).

II.5. 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 2010.

Chapitre II.

Résultats et discussion

I. Rendement d'extrait éthanolique

Le rendement se réfère à la masse spécifique de l'extrait après évaporation du solvant, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la plante qui y est soumise extraction. Ainsi, l'extrait de macération représente 17,5% de récolte et l'extrait de l'ultrason représente seulement 7%. Dans une étude concernant d'autres espèces *Pergularia tomentosa* de la famille asclépiade menée par **Belloum et Nani (2020)** le rendement d'extrait méthanolique de partie sous terrain est 9,78 %. Cette valeur est relativement plus faible à notre résultat de macération. D'autre part selon **Khalili et al., (2016)** le rendement de l'extrait éthanolique de racine de *Crocus caspius* par ultrasons donne un résultat de 10%, cette résultat est presque similaire par rapport notre rendement.

Les rendements varient d'une méthode d'extraction à une autre et d'une partie de la plante à une autre. Cette différence est expliquée par la diffusion du solvant dans la poudre des plantes dans l'étape de macération et ultrasons et aussi probablement à la nature et la polarité des solvants utilisés pour l'extraction (**Naczk et Shahidi, 2004 ; Barroso et al., 2014**). En général, les rendements les plus élevés sont obtenus avec les solvants polaires tels que l'eau, le méthanol et l'éthanol (**Markom et al., 2007 ; Iloki-Assanga et al., 2015**).

II. Tests phytochimiques

Les résultats de la mise en évidence de quelques métabolites secondaires dans l'extrait éthanolique telle que polyphénols, flavonoïdes, alcaloïdes, tanins, terpénoïdes, anthraquinones et saponines se traduisent dans le **Tableau (03)**.

Tableau(03): Résultats des tests phytochimiques d'extraits éthanolique

	Polyphénols	Flavonoïdes	Alcaloïdes	Tanins	Terpenoïdes	Anthraquinones	Saponines
Macération	+	+	+	+	+	+	+
Ultrasons	+	+	+	+	+	+	+

(+) : présence (-) : absence

L'examen phytochimique réalisé sur la partie sous terrain de *Crocus sativus* récoltée dans la région d'El-Oued, a révélé la présence de tous les métabolites étudiés.

Ces résultats sont comparables à ceux publiés par **Djeriri et Douzi, (2017)** qui ont montré la présence des flavonoïdes, tanins, terpénoïdes, alcaloïdes et composés réducteurs dans la fleur de *Crocus sativus*.

Une étude récente d'**Al-Faraji, (2017)** a révélé aussi la richesse de cette fleur en flavonoïdes, coumarines, alcaloïdes, tanins, stéroïdes, glycosides et les polyphénols. De même, les travaux de **Babaei (2014)** et **Hosseinzadeh et al., (2002)** ont noté la présence de flavonoïdes, de tanins et d'anthocyanines dans les extraits de pétales du *Crocus sativus*. Ses résultats concordent avec ceux retrouvés au niveau de notre échantillon de racine. **Hosseinzadeh et al., (2002)** ont montré aussi la présence des alcaloïdes et des saponines dans les extraits aqueux et éthanoliques des stigmates. De même, les travaux de **Karimi (2010)** ont montré la présence des composés phénoliques et flavonoïdes dans les stigmates du safran.

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 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**).

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

III. Résultats de l'étude quantitative

III.1. Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols totaux ont été déterminés par la méthode Folin-Ciocalteu. L'absorbance a été lue à une longueur d'onde de 765 nm. Les résultats obtenus sont indiqués dans la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (**Annexe 01**).

La quantité des polyphénols a été rapportée en milligramme d'équivalent de l'acide gallique par gramme de l'extrait (mg EAG/g E). À partir de la courbe d'étalonnage, la concentration des polyphénols totaux est $28,8 \pm 0,2$ mg EAG/g E dans la macération et $27,1 \pm 0,1$ mg EAG/g E dans l'ultrason. Les résultats obtenus sont presque similaire.

Par contre la teneur en polyphénols des travaux de **Karimi et al., (2010)** et **Goli et al., 2012** sur des extraits de *Crocus sativus* est $6,3 \pm 0,01$ mg EAG/g E et $3,42 \pm 0,2$ mg EAG/g E ,respectivement. Ces valeurs sont inférieures à ceux trouvé dans notre échantillon.

Le choix du système de solvant d'extraction est très important dans la détermination des teneurs en polyphénols totaux (Tirichine, 2010). La distribution des métabolites secondaires peut changer pendant le développement de la plante. Ceci peut être lié aux conditions climatiques hostiles (la température élevée, exposition solaire, sécheresse, salinité) qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les polyphénols. En effet, 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.*, 2002), 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).

L'augmentation de la température favorise l'extraction en améliorant à la fois la solubilité du corps dissous et le coefficient de diffusion. Cependant, une température trop élevée, peut également induire la dégradation de quelques composés phénoliques (YaQin *et al.*, 2008).

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) (Chirinos *et al.*, 2007; Drużyńska *et al.*, 2007 ; Nazck et Shahidi, 2004 ; Nazck et Shahidi, 2006 ; Yap *et al.*, 2009).

III.2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl₃). L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 420 nm. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage de la quercitrine (Annexe 02).

La quantité des flavonoïdes a été rapportée en milligramme d'équivalent de la quercétine par gramme de l'extrait (mg EQ/g E). D'après la courbe d'étalonnage obtenue lors du dosage des flavonoïdes, on constate que *Crocus sativus* présente un teneur en flavonoïdes de l'ordre de $1,6 \pm 0,2$ mg EQ/g E dans la macération et $2,4 \pm 0,3$ mg EQ/g E dans l'ultrason. Donc nos résultats sont différents selon la méthode utilisée.

Cette quantité est similaire à celle de stigma de la plante *crocus sativus* $2,9 \pm 0,02$ mg EQ/g E (Karimi *et al.*, 2010). En parallèle, notre résultat n'est pas en accord avec les résultats publiés par Khalili *et al.*, (2016) des extraits de partie arienne et souterraine de *Crocus caspius* $56,7 \pm 1,4$ et $11,6 \pm 0,4$ respectivement.

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

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).

IV. Evaluation de l'activité antioxydante

IV. 1. Test de piégeage du radical DPPH

Afin d'étudier l'activité antiradicalaire de notre extrait, nous avons utilisé la méthode basée sur le DPPH• (2,2-diphényl-1-picryl hydrazyl) comme un radical relativement stable, qui possède une bande d'absorbance à 517 nm. La capacité antioxydante de l'extrait de la plante étudiée a été déterminée et comparées aux activités des composés des étalons.

Les résultats obtenus pour le test de DPPH, exprimés en termes de concentration inhibitrice de 50 % des radicaux (IC₅₀), sont présentés dans la figure (16).

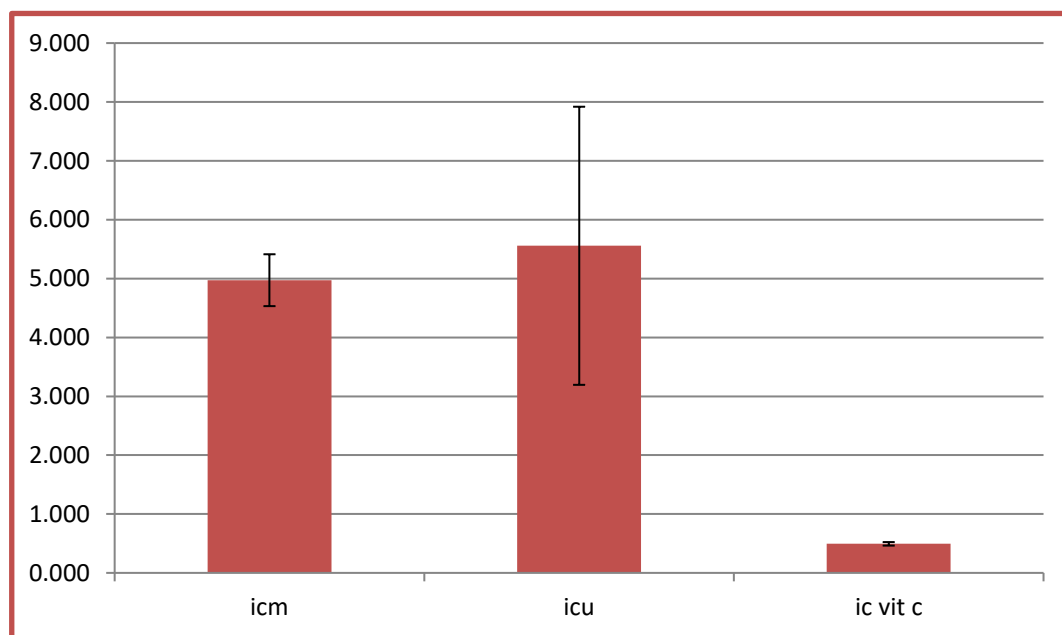


Figure 16: Résultats de concentrations inhibitrices 50 % de DPPH.

A des fins comparatives, un antioxydant standard est utilisé l'acide ascorbique, il a montré une activité anti radicalaire très puissante avec de IC₅₀ est 0,494 ± 0,03 mg/ml, et l'activité antioxydant de nos extraits est faible avec IC₅₀ de l'ordre de 4,972 ± 0,441 mg/ml par macération et de 5,557 ± 2,362 mg/ml par ultrasons.

D'après **Khalili et al., (2016)** l'extrait éthanolique de racines et partie aérienne de *Crocus caspius* un IC₅₀ de l'ordre de 906,1 ± 21,3 mg/ml, 380 ± 13,6 mg/ml. Ces valeurs sont plus élevées par rapport à nos résultats. Selon **Tlili, (2015)** l'extrait de feuille de *P. tomentosa* possède un IC₅₀ est 9,81±0,06 mg/ml., cette valeur est aussi relativement supérieure par rapport à nos résultats.

Notre extrait montré une activité antioxydante modéré par apport l'extrait méthanolique de *Crocus sativus* qui résultant par macération et ultrasons 24,52 ± 2,55 mg/ml, 24,58 ± 1,46 mg/ml, respectivement (**Stellut et al., 2021**).

Les capacités des extraits naturelles à piéger les radicaux libres, dépend d'un certain nombre de paramètres ; la dose, la structure, les substituant et le degré de polymérisation de la molécule (**Mohammedi, 2013**).

Pour le mécanisme de piégeage le radical, la réaction entre l'antioxydant et DPPH dépend de la conformation structurale de l'antioxydant. Certains composés réagissent rapidement avec DPPH, réduisant un nombre de molécules de DPPH égal au nombre de groupements hydroxyles (**Bondet et al., 1997**).

En effet, les composés phénoliques et plus particulièrement les flavonoïdes sont reconnus comme des substances potentiellement antioxydants ayant la capacité de piéger les espèces radicalaires et les formes réactives de l'oxygène (**Barreca et al., 2011**), l'effet scavenger des flavonoïdes(FLOH) est attribué à leur faible potentiel redox qui les rend thermodynamiquement capable de réduire les radicaux libres (R•) par un transfert d'atome d'hydrogène à partir des groupements hydroxyle. Cette réaction donne naissance au radical aroxyde (FLO•) et à la molécule radicalaire rendu stable (RH), le FLO• subira par la suite un réarrangement structural permettant la redistribution de l'électron célibataire sur le cycle aromatique et la stabilisation de radicaux aroxyde (**Javanovic et al., 1994**).

IV. 2. Test de FRAP

Ce pouvoir se traduit par la réduction du Fe³⁺ en Fe²⁺, en présence d'antioxydants dans l'échantillon testé. La quantité de Fe²⁺ 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 (**figure 17**).

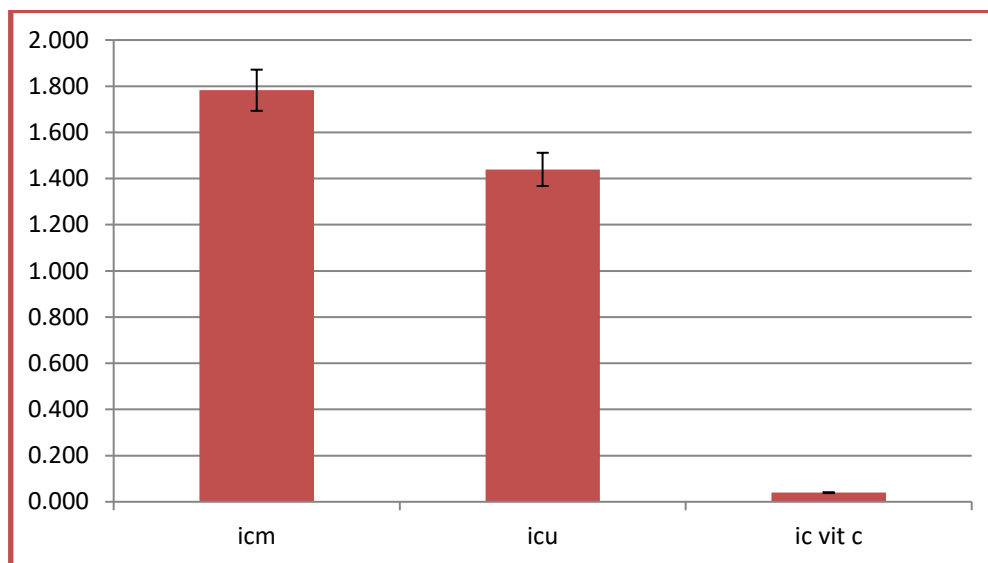


Figure 17 : Résultats de l'activité antioxydante par le teste FRAP

Les résultats obtenus dans la **figure17** montrent que l'acide ascorbique possède une activité antioxydante puissante avec une $A_{0,5}$ de l'ordre de $0,039 \pm 0,024$ mg/ml.

Concernant les extraits de *Crocus sativus*, l' $A_{0,5}$ égale à $1,783 \pm 0,646$ mg/ml pour macération et de $1,440 \pm 0,472$ mg/ml pour ultrasons. Alors le résultat obtenu par macération un peu plus élevé par rapport celle d'ultrasons.

Nos résultats sont incompatibles avec les travaux de **Stellut et al., (2021)** sur la même espèce qui a été trouvé par macération $535,83 \pm 10,30$ mg/ml et $506,68 \pm 21,8$ mg/ml par ultrasons. Selon **Khalili et al., (2016)** la valeur de ultrasons de racine de *Crocus cyprius* est égale $360,2 \pm 11,5$ mg/ml, cette résultat est plus élevé que nos résultats.

Il existe une variabilité de la capacité des extraits végétaux à différents modes d'extraction (ultrasons et macération) pour réduire le complexe tripyridyltriazine ferrique, cette variabilité est doutée à variabilité dans les composés phénoliques. Les propriétés réductrices sont généralement associées à la présence de réducteurs, qui ont la capacité de faire donner d'un électron à les radicaux libres et de les convertir en des formes plus stables (**Abirami et al., 2014**).

Cette variabilité des ces propriétés à cause de la quantité notable de polyphénols et de flavonoïdes de nos extraits qui peut jouer un rôle majeur dans l'inhibition antioxydante. Ainsi, l'activité pro-oxydante de ces substances est le résultat de leur capacité à réduire les métaux comme le Fe^{+3} pour donner Fe^{+2} lequel réagira avec O_2 ou H_2O_2 avec génération d'initiateurs de l'oxydation (**Kebieche, 2009**).

V. Evaluation de l'activité antimicrobienne

L'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait éthanolique de *Crocus sativus* a été réalisée par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide.

L'activité antimicrobienne de l'extrait est déterminée en terme de diamètre de zone d'inhibition produite autour des disques contenant l'extrait après 24h d'incubation à la température adéquate pour le développement des bactéries. Les résultats sont présentés dans la **figure 18**.

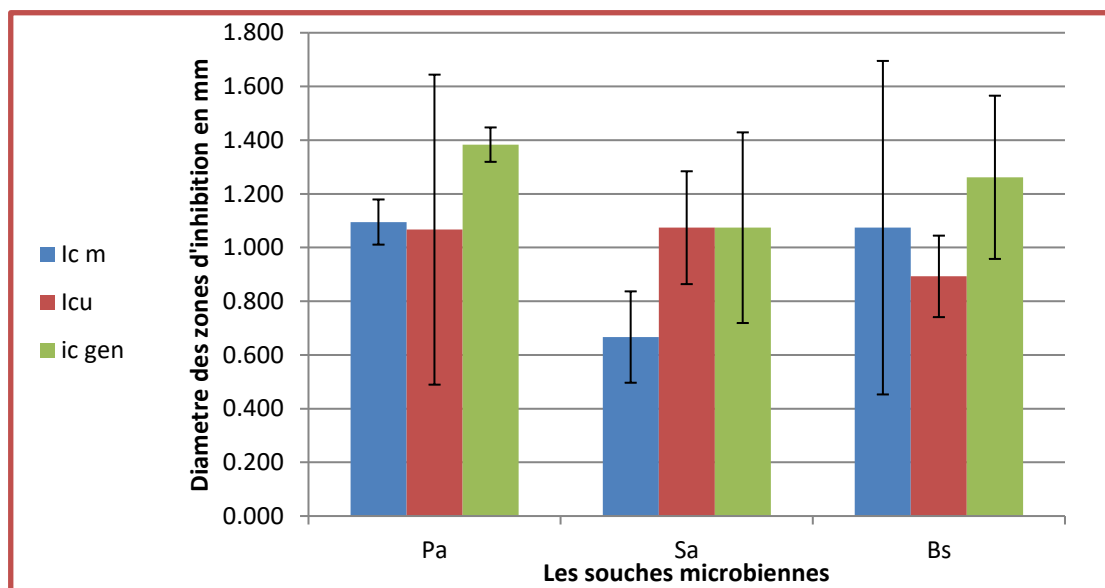


Figure 18 : Moyennes des diamètres des zones d'inhibition des extraits.

D'après ces résultats, Nous pouvons confirmer l'effet antibactérienne des racines de *Crocus sativus* contre les souches bactérienne *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas aeruginosa*. Tandis que l'antibiotique Gen10. Cette efficacité est probablement due à la présence des polyphénols, flavonoïdes qui sont des métabolites secondaires réputés pour leurs effets antimicrobiens (XIA *et al.*, 2011).

Notons que la plus grande zone d'inhibition par macération est $1,095 \pm 0,084$ mm a été mesurée contre *Pseudomonas aeruginosa*, suivie d'une zone d'environ $1,074 \pm 0,064$ mm contre *Bacillus subtilis*, une zone d'inhibition de $0,667 \pm 0,577$ mm a été observée contre *Staphylococcus aureus*.

Par contre, nous remarquons que la plus grande zone d'inhibition par ultrasons est $1,067 \pm 0,17$ mm a été mesurée contre *Pseudomonas aeruginosa* la zone d'inhibition ultérieure de *Staphylococcus aureus* est d'environ $1,053 \pm 0,210$ mm et la zone d'inhibition de *Bacillus subtilis* est de $0,893 \pm 0,355$ mm.

Selon la **figure (18)** nous avons conclu que l'extrait obtenue par macération de notre plante présente une activité plus efficace contre les souches examinées par rapport à l'extrait d'ultrasons.

Nos travaux confirment l'ensemble des résultats de **Lahlou et al., (2019)** qui montrent une activité antibactérienne contre *S. aureus* et *P. aeruginosa* significative par l'extrait de *C. sativus*. Aussi, **Mozhgan et al., (2020)** se trouve une bonne activité sur la même plante contre *S. aureus*.

D'autre part, les résultats montrent clairement un effet remarquable de l'extrait de *Satureja calamintha* (nabta) et *Ajuga iva* (chendgoura) contre *Bacillus subtilis* (**Bougandoura , 2011**).

Cette différence de résultats est due à la différence structurale entre les bactéries gram positives et les bactéries gram négatives (**David et Sudarsanam, 2013**), Cette différence est en relation avec la nature de leurs membranes (imperméables à la plupart des agents biocides) (**Faucher et Avril, 2002 ; Bouzid et al., 2011**).

Chez les bactéries à Gram+, le peptidoglycane est très épais et associé à des protéines pariétales exposées et à des structures polyosidiques (acides lipoteichoïques et acides teichoïques). En revanche chez les bactéries à Gram-, le peptidoglycane est très fin et associé à une enveloppe externe complexe définissant un espace périplasmique. Cette membrane externe est une bicouche lipidique asymétrique hydrophobe constituée de phospholipides, de protéines (porines) et de lipopolysaccharides (LPS). L'espace périplasmique est rempli d'enzymes qui dégradent les substances complexes pour qu'elles puissent traverser la membrane cytoplasmique, et inactivent les produits chimiques toxiques (antibiotiques). La résistance des bactéries à Gram- aux glycopeptides et aux macrolides est due à l'incapacité de ces molécules à franchir la membrane externe (**Cristani et al., 2007 ; Boukhatem et al., 2014**).

Le diamètre de la zone d'inhibition dépend principalement de nombreux facteurs, par exemple: capacité de diffusion de substances (présentes dans les extraits) dans le milieu de gélose, pouvoir antimicrobien des substances diffusées, la croissance et activité métabolique des micro-organismes dans le milieu (**Bandeira, 2006**), en plus en fonction de la date de la récolte il aura des variations très importantes dans la composition chimique et de l'activité (**Athamena, 2009**).

Conclusion

A l'heure actuelle, La découverte de ressources naturelles du règne végétal reste capitale pour la mise au point de nouveaux remèdes thérapeutique. Elles sont considérées comme une source de matière première essentielles pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments. C'est pour cette raison que le patrimoine végétal doit être absolument préservé dans sa diversité et dans son étendue.

Le travail que nous avons entrepris a pour objectif principal la valorisation de la plante *Crocus sativus* récolté dans la région d'El-Oued. Elle était choisie pour valoriser les racines d'une plante médicinale du Sahara algérienne et surtout dans notre région par les analyses qualitatives et quantitatives et l'étude de l'activité antioxydant et antibactérienne. Donc, ce travail se veut une contribution à une meilleure connaissance de cette espèce végétale.

L'extraction réalisée à partir des racines de notre plante en utilisant un mélange éthanol /eau (80/20) par deux méthodes : macération et ultrasons, les rendements obtenus sont d'ordre de 17,5 % et 7%, respectivement.

Le screening phytochimique a mis en évidence divers métabolites secondaires dans les racines de *Crocus sativus* : tanins, saponosides, terpénoides, alcaloïdes, anthraquinones, flavonoïdes et polyphénols. Les deux méthodes d'extraction ont donné les mêmes résultats.

Le dosage des phénols totaux des deux extraits éthanolique a révélé des teneurs considérables par macération ($2,88 \pm 0,2$ mg EAG/g E) et par ultrasons ($2,71 \pm 1$ mg EAG/g E). D'autre part, le dosage des flavonoïdes a montré que les deux méthodes macération et ultrasons présentent des teneurs modérées de l'ordre de $1,6 \pm 0,2$ mg EQ/g E et $2,4 \pm 0$, mg EQ/g E, respectivement.

L'étude de l'activité antioxydant par la méthode de réduction de fer et celle du piégeage de radical libre DPPH des extraits éthanoliques correspondant à l'espèce étudié a montré que tous nos extraits possèdent un pouvoir antioxydant. Il est à noter que le pouvoir réducteur de nos extraits par macération est moins supérieur par rapport l'extrait obtenue par ultrasons, Par ailleurs le pouvoir réducteur de deux extraits inférieur à celui de l'acide ascorbique. D'autre part, l'étude du pouvoir antioxydant de nos extraits par la méthode de piégeage du radical libre DPPH s'est montré modérée dont les valeurs de IC_{50} en particulier les extraits par macération ($4,972 \pm 0,03$ mg/ml) qui est inférieur par rapport le pouvoir de l'acide ascorbique ($0,494 \pm 0,441$ mg/ml).

L'activité antimicrobienne des extraits végétaux sur des microorganismes pathogènes s'est avérée importante, vu que cette plante a révélé une activité remarquable sur les trois souches testées, *S. aureus*, *P. aeruginosa* et *B. subtilis*. Les extraits ont révélé aussi des activités antimicrobiennes forte contre *P. aeruginosa* par les deux méthodes.

Ces résultats confirment que la *Crocus sativus* est une plante médicinale élaborée une importance non négligeable en médecine, En effet, les racines de la plante possèdent de nombreuses propriétés thérapeutiques. Ces résultats restent cependant initiaux partiels. Il serait donc judicieux à l'avenir d'approfondir l'étude phytochimique de cette plante en essayant d'identifier et de purifier les substances bioactives responsables à des activités testées.

Références bibliographiques

- Abbassi L et Touil H , 2019** . Contribution à l'étude phytochimique de feuilles de *Pergularia tomentosa* L dans la région d'El-Oued . Thèse de Master Académique en sciences biologiques ,Université Echahid Hamma Lakhdar El-oued , 72p.
- Abiramia A ., Nagarani G ., Siddhuraju P, 2014** . *In Vitro* Antioxidant, Anti-Diabetic, Cholin esterase And Tyrosinase Inhibitory potential Of Fresh Juice From Citrus Hystrix And C. Maxima Fruits ,Food Science And Human Wellness 3 : 16–25p.
- Akroum S, 2011** . Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels . Thèse de doctorat , Université Mentouri de Constantine ,125p.
- Albert L , 1998** . La santé par les fruits. Ed Veechi , Paris, 44-74 p.
- Al-Faraji A , 2017**. Effect of the saffron flower (*crocus sativus* l.) extracts toward the bacterium staphylococcus aureus that causes conjunctivitis pus . *ijabr*, 7(2), 296-298p.
- Al-Nadaf A ., Seder N., Rayyan W, 2018** . Wound healing; antimicrobial and anti-oxidant activity for Jordanian Juglans Regia L. unripe fruits, *Journal of Innovations in Pharmaceutical and Biological Sciences* , 5, 26-34p.
- Amor L, 2020**. Métabolismes secondaires des plantes. Cour de l'usage des étudiants de M1 Biodiversité et physiologie végétale, Universté Ferhat Abbas –SETIF 1, 3p.
- Arvy M et Gallouin F, 2003**. Epices, aromates et condiments. Belin Ed, 216-219p.
- Athamena , 2009** . Etude quantitative des flavonoides des graines de Cuminumcyminum et les feuilles de rosmarinusofficinalis et l'evaluationdel'activite biologique . Thèse de Magister en Biologie, Université El-Hadj Lakhdar , Batna , Algérie ,88 p.
- Babaei S ., Talebi M ., Bahar M ., Zeinali H , 2014** . Analysis of genetic diversity among saffron (*Crocus sativus*) accessions from different regions of Iran as revealed by SRAP markers. *Scientia Horticulturae* ,171 27–31p.
- Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., luyckx M., Vasseur J., Cazin M ., Cazin ., Pinkas M, 1996** .Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arznei. Forschung* , Vol. (46); 1086-1089 p .
- Bandeira M ., Teixeira M ., Abinader C ., Parente R ., Lima P, 2006**. Avaliacao *in vitro* da sensibilidade da Candida albicansaohidroxido de calico associadoao oleo de copaiba. *Review Dentstica* , 6, 12-22p .
- Barboni T, 2006** .Contribution de méthodes de la chimie analytique à l'amélioration de la qualité de fruits et à la détermination de mécanismes (EGE) et de risques d'incendie . Thèse de doctorat , Université de Corse Pascal Paoli ,292p .

- Barreca D ., Bellocco E ., Caristi C ., Leuzzi U ., Kumquat G ., 2011.** Fortunella Japonica SwingleJuice: Flavonoïd Distribution And Antioxidant Properties . Food Research International , Vol. (44): 2190-2197p .
- Barroso M ., Barros L ., Dueñas M ., Carvalho A ., Santos-Buelga C ., Fernandes I ., Ferreira I , 2014 .** Exploring the antioxidant potential of Helichrysum stoechas (L.) Moench phenolic compounds for cosmetic applications: Chemical characterization , microencapsulation and incorporation into a moisturizer . Industrial crops and products , 53, 330-336p.
- Basker D, 1999.** Saffron chemistry. Saffron: Crocus sativus.45-52p.
- Belguidom M, 2012 .** Une approche phytochimique pour différencier deux espèces de genre Zygophyllum . Mémoire de Master Académique , Université Kasdi Merbah Ourgla ,45p .
- Belloum N et Nani N , 2020 .** Contribution à l'étude phytochimique de racine de Pergularia tomentosa L dans la région d'ElOued . Thèse de Master Académique en sciences biologiques ,Université Echahid Hamma Lakhdar El-oued , 66p .
- Benmostafa I et Guellil Z , 2017.** Dosage des polyphénols de la fleur de crocus sativus L. Thèse de doctorat , 62p .
- Benzie I et Strain J , 1996 .**The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, 239(1), 70-76p .
- Berreghioua A , 2016.** Investigation phytochimique sur des extraits bioactifs de deux Brassicaceae médicinales du sud algérien : Moricandia arvensis et Zilla macroptera .Thèse de doctorat , Université Abou Bakr Belkaid –Tlemcen , 231 p.
- Beta T., Nam S ., Dexter J ., Sapirstein ., 2005 .** Phenolic Content and Antioxidant Activity of Pearled Wheat and Roller-Milled Fractions. *Journal of Cereal Science*, Vol. 82, n. 4, 390–393 p .
- Bhargava V, 2011.** Medicinal uses and pharmacological properties of Crocus sativus Linn (Saffron). *Int J Pharmacy Pharmaceutical Science*, 3(3), 22-26p .
- Blot N et Bernard G , 2012 .** Atlas illustré des Plantes médicinales et curatives. De Borée, Asie, 19p.
- Boizot N et Charpentier J , 2006 .** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour d'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques, *Le Cahier des Techniques de l'INRA*, 79-82p.

- Bondet V., Williams W., Berset C , 1997.** Kinetic And Mechanism Of Antioxidant Activity Using The Dpph Free Radical Method . *Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie* , 30 , 609-615p .
- Booth N ., Dejan N ., Richard B ., Stoci E , 2004 .** New lanthanide complexes of 4 methyl 7 hydroxycoumarin and their pharmacological activity .*Clinical Pharmacology and Therapeutics* , 50; 120-123p .
- Boubekri C , 2014 .** Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum Melongena* par des techniques électrochimiques . Thèse de doctorat en chimie , Université Mohamed Khider – Biskra , 27- 28p .
- Bouchouka E , 2016 .** Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes . Thèse de doctorat , Université Badji Mokhtar , Annaba , 24p .
- Boudjouref M, 2011.** Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris L.* Thèse de Magister en Biochimie, Université Ferhat Abbes, Sétif, Algérie, 99 p.
- Bougandoura N, 2011.** Pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits d'espèces végétales *Satureja calaminthas sp nepta (nabta)* et *Ajugaiva L.(chendgoura)* de l'ouest d'Algérie , Thèse de magister en Biologie , Université Abou BakrBelkaid-Tlemcen, 97p .
- Boukhatem M ., Ferhat M ., Kameli A ., Saidi F., Taibi H ., Teffahi D , 2014 .** Valorisation de l'essence aromatique du Thym (*Thymus vulgaris L.*) en aromathérapie anti infectieuse . *International Journal of Innovation and Applied Studies* , 8(4), 1418-1431p .
- Boutaghane N , 2013 .** Etude phytochimique et pharmacologique de plantes médicinales Algériennes *Genista ulicina Spach (Fabaceae)* Et *Chrysanthemum Macrocarpum (Asteraceae)*. Thèse Présentée pour obtenir le diplôme de Doctorat en sciences , Université de Constantine 1, 11-58p .
- Bouzid W., Yahia M ., Abdeddaim M ., Aberkane M ., Ayachi A , 2011.** Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de l'aubépine monogyne . *Lebanese Science Journal* , 12: 1p .
- Bozin B ., Mimica-Dukic N., Samojlik I ., Goran A ., Igc R , 2008 .** Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum L., Alliaceae*) . *Food chemistry* , 111(4), 925-929p .
- Bruneton J, 2009.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales . 4ème Edition Lavoisier, Paris , 1234p .

- Budic-Letoc I ., Lovric T., Pezo I ., Klujuzuric J , 2005 .** Study of dynamics of polyphenol extraction during traditional and advanced maceration processes of the babic grape variety . *Food Technology and Biotechnology* , 43(1), 47- 53p .
- Calvo-Flores F ., Dobado J ., Isac G ., Martin F, 2015 .** Lignin and Lignans as Renewable Raw Materials. Edition Wiley , Chemistry , Technologie and Application .Edition john wiley et sons , ltd, 315p .
- Cardon D, 2003 .**Le monde des teintures naturelles . Belin Ed , 234-239p .
- Carmona M ., Zalacain A ., Alonso G , 2006 .** The chemical composition of saffron: color, taste and aroma . *Bomarzo SL* , 57-62p .
- Chahine N , 2014 .** Effet protecteur du safran contre la cardiotoxicité de la doxorubicine en condition ischémique . Thèse de doctorat , Université de REIMS CHAMPAGNE-ARDENNE , 231p .
- Chalal A et Tighermine L , 2012 .** Activités anti-oxydantes et anti-enzymatiques de l'extrait éthanolique de *Rhamnus alaternus* . Thèse d'étude supérieure en Biologie Moléculaire et Cellulaire , Université Abderrahmane Mira de Bejaia , 7p .
- Chan K ., Iqbal S ., Khong N ., Ooi D ., Ismail M , 2014 .** Antioxidant activity of phenolics saponins rich fraction prepared from defatted kenaf seed meal. *LWT – Food Sci Technol* ,56 (1) , Doi:10.1016/j.lwt.2013.10.028 , 181-186p .
- 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, 138p .
- Chirinos R ., Rogez H ., Campos D ., Pedreschi R ., Larondelle Y , 2007 .** Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashu (*Tropaeolum Tuberosum* Ruiz et Pavón) tubers . *Journal of Separation and Purification Technology* , 55(2), 217-225p .
- Chryssanthi D ., Dedes P., Karamanos N ., Cordopatis P., Lamari F , 2011 .** Crocetin Inhibits Invasiveness of MDA-MB-231 Breast Cancer Cells via Downregulation of Matrix Metalloproteinases . *Planta medica* , 77(02) , 146-151p .
- Clifford M et Scalbert A , 2000 .** Ellagitannins-nature, occurrence and dietary burden , *Sei , Food Agric*, 80 , 1118-1125p .
- Collin S et Creast G , 2011 .** Polyphenol Et Procédé . 1ère Ed , Lavoisier : Paris .
- Cowan M, 1999.** Plant Products as antimicrobial agents .*Clinical Microbiology Reviews*, 12 (4) ; 564-582p .

- Cristani M ., D'arrigo M ., Mandalari G , 2007.**Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: implications for their antibacterial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 6300-6308p .
- Daglia M , 2011 .** Polyphenols as antimicrobial agents . *Current Opinion in Biotechnology* , 23;1-8p .
- Danja S ., Jonas G ., Nathalie W., Katharina O , 2016 .** *Bacillus subtilis* , iGEM team : Bonn - Freiburg , 2p .
- David B et Sudarsanam G , 2013 .**Antimicrobial activity of *Gymnemasylvestre* (Asclepiadaceae) . *Journal of Acute Disease* , 222-225p .
- Deina M ., Rosa A ., Casu V ., Cottiglia F ., Bonsignore L , 2003 .** Natural product: their chemistry and biological significance . *Journal of the American Oil Chemistry Society* , 80; 65-70p .
- Delgado M ., Aramburu A ., Díaz-Marta G , 2006 .** The chemical composition of saffron: color , taste and aroma , Bomarzo .
- Deo D , 2003 .** “GrowingSaffron–The World’s Most Expensive Spice”. *Crop & Food Research (New Zealand Institute for Crop & Food Research)* , 20(1) , 1-4p .
- Deramchi S , 2015 .** Etude phytochimique de deux plantes steppiques : *Punica Granatum* .L et *Ampélodesmos mauritanicus* . Mémoire de Master en Chimie , Université Ziane Achour de Djelfa , 20p.
- Djeriri R et Douzi F , 2017.** Tests phytochimiques sur la fleur de *crocus sativus* L. Thèse de master en biologie , université Abou BekrBelkaid , Tlemcen Algérie , 41p.
- Drużyńska B ., Stepniowska A ., Wolosiak R , 2007.** The influence of time and type of solvent on efficiency of the extraction of polyphenols from green tea and antioxidant properties obtained extracts . *Acta Sci , Pol, Technol , Aliment* , 6; 27-36p.
- Dupont G , 2007.** Abrégé de botanique systématique moléculaire . 14e édition révisée, Issy-les-Moulineaux : Elsevier Masson, 283p.
- El-Rhaffari L et Zaid A , 2004 .** Pratique de la phytothérapie dans le sud-est du Maroc (Tafilalet):Un savoir empirique pour une pharmacopée rénovée . *Origine des pharmacopées traditionnelles et élaboration des pharmacopées savantes* , 293- 318p.
- Falleh H ., Ksouri R ., Chaieb K ., Karray-Bouraoui N ., Trabelsi N ., Boulaaba M ., Abdelly C , 2008 .**Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, 331(5), 372-379p .
- Faucher J et Avril J , 2002.** Bactériologie générale et médicale. Tome 1, Ellipses (Ed.), Paris, 365p.

- Favier A , 2003 .** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique . L'actualité chimique, 108-115p.
- Fettah A et Laouz H , 2019.** "Etude phytochimique comparative des différents extraits de *Zygophyllum album* L de la région d'Ouargla et la région El Oued. Thèse de Master, Université Mohamed Khider de Biskra , 39p.
- Fouillaud M ., Venkatachalam M ., Girard V ., Caro Y ., Dufossé L , 2016 .** Anthraquinones and Derivatives from Marine-Derived Fungi: Structural Diversity and Selected Biological Activities . Academic Editor: Vassilios Roussis ,14(4) , <https://doi.org/10.3390/md14040064> , 64p .
- Ghedira K , 2005 .**Les flavonoïdes : structure, propriétés biologique. rôle prophylactique et emplois en thérapeutique . Phytothérapie , Vol: 4 , 162-169p.
- Ghnimi W , 2015 .** Etude phytochimique des extraits de deux Euphorbiacées: *Ricinus communis* et *Jatropha curcas* . Evaluation de leur propriété anti-oxydante et de leur action inhibitrice sur l'activité cetylcholinestérase . Thèse de doctorat ,Université de Lorraine (France) et Université de Carthage (Tunisie) , 26p .
- Gilani G et Anderson J , 2002 .** Phytoestrogens and health , Edition Aocs Press , 405p .
- Goli S ., Mokhtari F ., Rahimmalek M , 2012 .** Phenolic Compounds and Antioxidant Activity from Saffron (*Crocus sativus*L.)Petal . Journal of Agricultural Science , Vol. 4 , No. 10 ISSN 1916-9752 ,177p .
- Grigg D ,1974.** The Agricultural Systems of the World. Cambridge University Press, 287p, ISBN 0-521-09843-2.
- Guinebert E ., Durandb P ., Prost M ., Grinand R ., Bernigault R , 2005 .**Mesure de la résistance aux radicaux libres . Sixièmes Journées de la Recherche Avicole , 554-558p .
- Hadi M , 2004 .** La quercétine et ses dérivés: molécules à caractères pro-oxydants ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques . Thèse de doctorat , Université Louis Pasteur Strasbourg , 155p .
- Hale A , 2003 .**Screening Potato Genotypes for Antioxidant Activity, Identification of the Responsible Compounds, and Differentiating Russet Norkotah Strains Using Aflp and Microsatellite Marker Analysis . Ed, Office of Graduate Studies of Texas A&M University, 260 p.
- Harborne J , 1989 .** Methods in plant biochemistry.I: Plant phenolics . Academic Press .
- Haslam E , 1989 .** Plant polyphenols: Vegetable tannis revisited . University Press, Cambridge , 230p .

Hill T, 2004. The Contemporary Encyclopedia of Herbs and Spices: Seasonings for the Global Kitchen. Wiley, ISBN 0-471-21423-X, 272p.

Hoekou Y., Batawila K., Gbogbo K., Karou D., Ameyapoh Y., Souza C, 2012. Evaluation des propriétés antimicrobiennes de quatre plantes de la flore togolaise utilisées en médecine traditionnelle dans le traitement des diarrhées infantiles. International Journal of Biological and Chemical Sciences, 6(6), 3089-3097p.

Hoffman L ,2003. Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes ; analyse de l'interaction de la caféol-coenzyme A-3-O-méthyltransférase (CCoAOMT) avec son substrat et caractérisation fonctionnelle d'une nouvelle acyltransférase, l'HydroxycinnamoylCoA : shikimate/quinate hydroxycinnamoyl Trnsférase (HCT). Thèse de doctorat en Biologie moléculaire et cellulaire, Université Louis Pasteur Strasbourg I, 245p.

Hopkins P, 2003. Familial hypercholesterolemia—improving treatment and meeting guidelines."International journal of cardiology 89(1); 13-23p.

Hosseinzadeh H etYounesi H ,2002.Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Crocus sativus* L. stigma and petal extracts in mice. BMC pharmacology, <http://sa.toponavi.com/48473-90534> .Consulté le 18/05/2021.21:35 pm, 2(1), 7p .

Hubert J, 2006. Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja. Etude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaines, Thèse de Doctorat à l'Institut Nationale Polytechnique de Toulouse, Ecole Doctorale des Sciences Ecologiques, Vétérinaires, Agronomiques et Bioingénieries.

Iloki-Assanga S., Lewis-luján L., Lara-Espinoza C., Gil-Salido A., Fernandez-Angulo D., Rubio-Pino J., Haines D, 2015. Solvent effects on phytochemical constituent profiles and antioxidant activities, using four different extraction formulations for analysis of *Bucidabuceros* L. and *Phoradendron californicum*. BMC Res, Notes, 8, 396,1-14p.

Imran M., Ahmad N., Anjum F., Kamran-Khan M., Mushtaq Z., Nadeem M., Hussain S, 2015. Potentiel protective properties of flax lignin secoisolariciresinol diglucoside. Nutrition journal, 14, 1 – 7p.

Javanovic S., Steenken S., Tosic M., Marjanovic B .,Simic M, 1994.Flavonoids As Antioxidants. Journal Of The American Chemical Society, 116, 4846-4851p.

Jost J ., Jost-Tse Y ,2016. L'automédication chez les animaux dans la nature. Editions connaissances et savoirs, 23p.

Kablan B., Adiko M. , Abroguad, 2008.Evaluation in vitro de l'activité antimicrobienne de *Kalanchoe crenata* et de *Manotes longiflora* utilisées dans les ophtamies en côte d'Ivoire. *Pharmacognosie*. 6 : 282-288p.

Karimi E., Oskoueian E ., Hendra R., Jaafar H,2010. Evaluation of *Crocus sativus* L. Stigma Phenolic and Flavonoid Compounds and Its Antioxidant Activity. *Molecules*,doi:10.3390/molecules15096244, 15, 6244-6256p.

Kayser M., Bienz K., Eckert Ph ., Zinkernagel M ,2005. Medical Microbiology. Edition Thieme, 698p.

Kebieche M,2009. Activité Biochimique Des Extraits Flavonoïdiques De La Plante *Ranunculus Repens* L : Effet Sur Le Diabète Expérimental Et L'hépatotoxicité Induite Par L'epirubicine .Thèse De Doctoratum Constantine,69p.

Khalili M., Fathi H., Ebrahimzadeh M ,2016. Antioxidant activity of bulbs and aerial parts of *Crocus caspius*, impact of extraction methods. *Pak J PharmSci*, 29(3), 773-777p.

Klenkar J et Molnar M, 2015.Natural and synthetic coumarins as potential anticancer agents.*Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7(7), 1223-1238p.

Klimczak I., Malecka M., Szlachta M., Gliszczynska-Swiglo A, 2007. Effect of storage on the content of polyphenols; vitamin C and the antioxidant activity of orange juices. *Journal of Food Com position and Analysis*, 20; 313-322p.

Krief S, 2003. Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées (Doctoral dissertation, Museum national d'histoire naturelle-MNHN PARIS),17p.

Labiod R,2016. Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide. Thèse de Doctorat En biochimie, universite badji mokhtar,Annaba, 115p.

LahlouY., El Amraoui D., Bamhaoud T,2019.The Antibacterial Activity Screening of the Extracts Of Some Moroccan Medicinal Plants .*International Journal of New Technology and Research (IJNTR)*.2454-4116, Volume-5, Issue-10,33p.

Lahmar I., Manova D., Yotova L, 2015.Enzymes screening from crude extract. of *pergularia tomentosa* l, 100, livre 4, 184-190p.

- Lahoum A., Aouiche A., Bouras N., Verheecke C., Klenk H., Sabaou N., Mathieu F, 2016.** Antifungal activity of a Saharan strain of *Actinomyces* sp. ACD1 against toxigenic fungi and other pathogenic microorganisms. *Journal de Mycologie Médicale*, MYCMED-605, 1- 8p.
- Lech K., Witowska J., Jarosz M, 2009.** Saffron yellow: characterization of carotenoids by high performance liquid chromatography with electrospray mass spectrometric detection. *Journal of mass spectrometry*, 44(12), 1661-1667p.
- Li H., Cheng K., Wong C., Fan K., Chen F., Jiang Y, 2007.** Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food chemistry*, 102(3), 771-776p.
- Lu Y., Zhang C., Bucheli P., Wei D, 2006.** Citrus Flavonoids in Fruit and Traditional Chinese Medicinal Food Ingredients in China. *Journal of Plant Foods for Human Nutrition*, 61(2); 57-65p.
- Lugasi A., Hovari J., Sagi K., Biro L, 2003.** The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta Biologica Szegediensis*, Vol. 47, n. 1-4, 119-125p.
- Makhloufi A, 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 Abou-Baker Belkaid, Tlemcen. Algérie, 136p.
- Markom M., Hasan M., Daud W., Singh H., Jahim J, 2007.** Extraction of hydrolysable tannins from *Phyllanthus niruri* Linn.: Effects of solvents and extraction methods. *Separation and purification technology*, 52(3), 487-496p.
- Mauro N, 2006.** Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+)-anatoxine-a et la (±)-camptothécine, thèse doctorat, Université Joseph Fourier Grenoble, 13-16-28p.
- Mcgee H, 2007.** *On Food and Cooking: The Science and Lore of the Kitchen*. Scribner, ISBN 0-684-80001-24, <http://books.google.com/books?ie=UTF-8&hl=en&id=iX05JaZXRz0C>, 22p.
- Medjadji A, 2012.** Contribution à l'étude phytochimique et l'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits de la fleur du figuier de Barbarie (*Opuntia ficus indica*) de la région de tlemcen. Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme de master en biologie, Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, 91p.

- Meziti A, 2009.**Activité Antioxydant Des Extraits Des Graines De NigellaSativa L'étude In Vitro Et In Vivo. Mémoire En Magister En Molécules Bioactives, Université El-Haj Lakhdar Batna, 71p.
- Milcent R et Chau F , 2003.** Chimie organique hétérocyclique : Structure fondamentale, chimie et biochimie des principaux composés naturels. Ed, Francoischau EDP Paris ,France, 846 p.
- Moghaddasi M, 2010.** Saffron chemicals and medicine usage. Journal of medicinal plants research, 4(6), 427-430p.
- Mohammedi Z et Atik F, 2011.** Impact of solvent extraction type on total polyphénols content and biological activity from Tamarixaphylla (L.)Karst .International Jouranl of Pharma and Bio Sciences, 2(1); 609-615p.
- Mohammedi Z, 2013.** Etude phytochimique et activités biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud-Ouest de l'Algérie .Doctoral dissertation, 113p.
- Molyneux P, 2004.** The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrasyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin, Journal of Science and Technology, 26(2), 211-219p.
- Mozhgan E .,Moslem J ., Javad F .,Soodabeh E, 2020 .**Effects of Ultrasound-Assisted and Direct Solvent Extraction Methods on the Antioxidant and Antibacterial Properties of Saffron (Crocus sativus L.)Corm Extract . Food Analytical Methods,<https://doi.org/10.1007/s12161-020-01855-8> , 11p.
- Nait Sidi Ahmed A, 2012.**Mise en place d'un procédé d'extraction et de pré-purification de molécules bioactives à partir d'une culture énergétique « Salix miyabeana SX67». Université de Sherbrooke (Québec) Canada ,6p.
- Nazck M et Shahidi F, 2004.** Extraction and analysis of phenolics in food. J Chromatogram A, 1054(1-2); 95-111p.
- Nazck M. et Shahidi F ,2006.** Phenolics in cereals, fruits and vegetables: occurrence, extraction and analysis. Journal of Pharmaceutical and Bio medical Analysis, 41;1523-1542 p.
- Oloyede O, 2005.**Chemical Profile of Unripe Pulp of Carica papaya .Pakistan Journal of nutrition, 4 : 379-381p.
- Ouis N, 2015.** Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, des fenouils et de persil. Thèse de doctorat, Université Ahmed Ben Bella-Oran, Alger,223p.

- Oyaizu M, 1986.** Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. The Japanese journal of nutrition and dietetics, 44(6), 307-315p.
- Palomares C ,2015 .***Le safran, précieuse épice ou précieux médicament* .Doctoral dissertation, Université de Lorraine, 89-96p.
- Paris R et Moyse H, 1969.** Matière médicinale, Collection de précis de pharmacie. Edition Massou, 2eme édition, Tome II, Paris, 518p.
- Park H et Cha H ,2003.** Flavonoids from leaves and exocarps of the grape Kyoho. Korean journal of biological society,7; 327-330p.
- Pietta P, 2000.** Flavonoids as antioxidants. Journal of Natural Products, vol.63, 1035–1042p.
- Pitsikas N, 2016.** Constituents of Saffron (*Crocus sativus* L.) as Potential Candidates for the Treatment of Anxiety Disorders and Schizophrenia .Molecules, 21(3), 303p.
- Popovici C., Saykova I., Tylkowski B, 2009.** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. Revue de génie industriel, 4, 25-39p.
- Psotová J., Lasovsky J., Vicar J, 2003.** Metal-Chelating Properties, Electrochemical Behavior, Scavenging And Cytoprotective Activities Of Six Natural Phenolics . Biomedical Papers, Vol. 147, n. 2, 147–153p.
- Rahimi M, 2015.** Chemical and Medicinal Properties of Saffron. Bull, Env,Pharmacol,Life Sci, 4, 69-81p.
- Rahmouni S et Reghis S, 2016.** Etude phytochimique et évaluations des activités anti-oxydantes et antibactériennes des espèces : Lavandulasteochas, Glycyrrhizzaglabra L., *Crocus sativus* L. et *Linum usitatissimum* L. Mémoire de master en Métabolisme secondaire et molécules bioactives ,Université des Frères Mentouri Constantine.
- Rakotonanahary M, 2012.** *Peumus boldus* M. De la botanique à la thérapeutique : État des connaissances en 2012 .Thèse présentée pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie diplôme d'état, Université Joseph Fourier, 16, 19, 27, 28p.
- Reghioua S., Boughachiche F., Zerizer H., Oulmi L., Kitouni M., Boudemagh A., Boulahrouf A, 2006.** Activité antibactérienne d'actinomycètes rares isolés d'échantillons de sol aride du Sud-est Algérien. Pharmacologie, 8, 147-152p.
- Saffidine K ,2015.** Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de *Carthamus Caeruleus* L. et de *Plantago major* L. Thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas, Sétif, 8-64p.

- Sahraoui W , 2015** .Les composés phénoliques . Laboratoire de pharmacognosie ,4p.
- Sahraoui W , 2015** .Les dérivés hydroxy anthracéniques laxatifs .Laboratoire de pharmacognosie ,9p.
- Santos-Buelga C et Scalbert A , 2000**. Proanthocyanidins as tannin-like compounds-nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health .Journal of Science, Food and Agriculture, 80; 1094-1117p.
- Sarni-Manchado P et Cheynier V, 2006**. Les polyphénols en agroalimentaire. Lavoisier, Editions Tec et Doc, 398p.
- Saxena B, 2010**. Botany, Taxonomy and Cytology of *Crocus sativus* series. AYU (An international quarterly journal of research in Ayurveda), 31(3), 374p.
- Scalbert A. 1991**. Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, 30(12), 3875-3883p.
- Schlesier K., Harwat M., Bohm V., Bitsch R ,2002** .Assessment of antioxidant activity by using different *in vitro* methods. Free Radical Res, 36(2); 177–87p.
- Shahidi F et Naczek M, 2003**. Phenolics in food and nutraceuticals.CRC press.
- Sicard D, 2012**. Caractérisation par microscopie à force atomique des arrangements protéine/sucre impliquant la lectine PA-IL de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* . Thèse de doctorat , Ecole Centrale de Lyon, <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00904559/>. Consulté le 24/04/2021 à 9:17am , 141p.
- Singleton V et Rossi J, 1965**. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture, 16, 144-153p .
- Small E, 2016**. Saffron (*Crocus sativus*)-the eco-friendly spice .Biodiversity, 17(4),162-170 p.
- Spigno G et De Faveri D, 2007**. Antioxidants from grape stalks and marc: influence of extraction procedure on yield, purity and antioxidant power of the extracts. Journal of Food Engineering, 78, 793-801p.
- Srivastava R., Ahmed H., Dixit R, 2010**. *Crocus sativus* L.: a comprehensive review. Pharmacognosy reviews, 4(8) ,200p.
- Stalikas C , 2007** .Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. J, Sep, Sci, 30, 3268–3295p.
- Stelluti S., Caser M ., Demasi S., Scariot V, 2021**. Sustainable Processing of Floral Bio-Residues of Saffron (*Crocus sativus* L.) for Valuable Biorefinery Products . Plants 2021, 10, 523 , <https://www.mdpi.com/journal/plants> ,4p.

- ST-PIERRE F, 2012.**caractérisation physico-chimique de bois et d'écorces de *Betulaalleganiensis*et *Acer saccharum*de différents vigueurs. Mémoire du grade de Maître èssciences, Université Laval, 76p.
- Sun L., Zhang J., Lu X., Zhang L ., Zhang Y, 2011.** Evaluation to the antioxidant activity of total flavonoids extract from persimmon (*Diospyros kaki* L.) leaves. *Food ChemToxicol*,49: 2689-2696p.
- Szóllósi R et Varga I, 2002.** Total antioxidant power in some species of Labiatae: Adaptation of FRAP method. *Acta Biologica Szegediensis*, 46(3-4), 125-127p.
- Tátraaljai D., Major L., Földes E., Pukánszky B, 2014.** Study of the effect of natural antioxidants in polyethylene: Performance of β -carotene. *PolymDegradStab*, Doi: 10.1016, 102(1); p33-40,.
- Tirichine H, 2010.** Etude ethnobotanique, activité antioxydante et analyse phytochimique de quelques cultivars de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) du Sud-Est algérien. Thèse de Magister en Biologie,Université d'Oranes-Es Senia, Oran Algérie, 88 p.
- Tlili M, 2015.** Contribution à la caractérisation physico-chimique et biologique des extraits de *Pergularia tomentosa* issue de quatre sites sahariens différents (Sahara septentrional). Mémoire de magister en biologie. Université Kasdi Merbah. Ouargla, 98p.
- Vanamala J., Reddivari L., Yoo K., Pike L., Patil B, 2006.** Variation in the content of bioactive flavonoids in different brands of orange and grapefruit juices .*Journal of Food Com position and Analysis*, 19; 157-166p.
- Verma S et Bordia A, 1998.** Antioxidant property of saffron in man.*Indian journal of medical sciences*, 52(5), 205-207p.
- Villano D., Fernandez-Pachon M., Moya M .,Troncoso A., Garcia-Parilla M,2007.** Radical scavenging ability of phenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta*, 71, 230–235p.
- Vora J., Srivastava A., Modi H, 2018.**Antibacterial and antioxidant strategies for acne treatment through plant extracts. *Informatics in Medicine Unlocked*, 13, 128-132p.
- Wu P., Ma G., Li N., Deng Q., YinY., Huang R, 2015.** Investigation of *In vitro* and *In vivo* antioxidant activities of flavonoids rich extract from the berries of *Rhodomyrtustomentosa* (Ait.)Hassk .*Food Chem*, 173; 194-202p.
- XIA E., DENG G., GUO Y., LI H , 2011.**Biological activities of polyphenols from grapes. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(2) : 622-646p.
- Yadav R et Agarwala M, 2011.** Phytochemical analysis of some medicinal plants. «*Journal of phytology*, 3(12); 10-14p.

Yap C., Ho C., Wan-Aida W., Chan S., Lee C., Leong Y, 2009. Optimization of Extraction Conditions of Total Phenolic Compounds from StarFruit (*Averrhoacarambola* L.)Residues.SainsMalaysiana, 38(4); 511-520p.

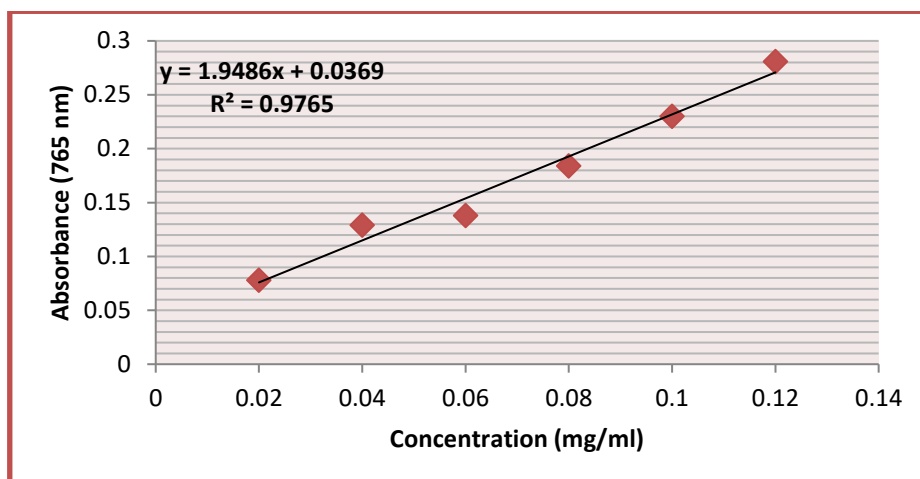
Ya-Qin M., Xing-Qian Y., Zhong-Xiang F., Jian-Chu C., Gui-Hua X., Dong-Hong L, 2008. Phenolic Compounds and Antioxidant activity of extracts from ultrasonic treatment of Satsuma Mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) Peels, J, Agric, Food Chem, 56(14) ,5682-5690p.

Yin N., Syahriel A., Phin C, 2013. Phytochemical constituents from leaves of *elaeisguineensis* and their antioxidant and antimicrobial activities. Int J PharmPharm Sci,5(4), 137-140p.

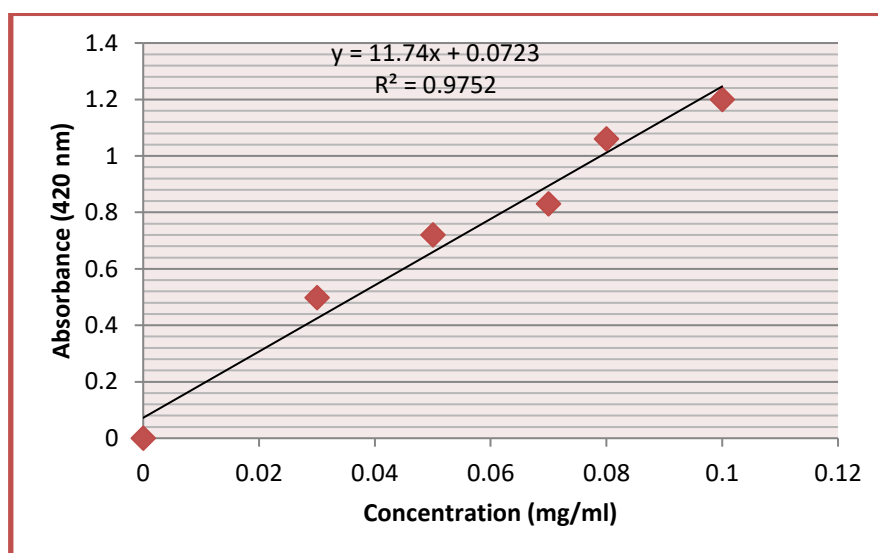
Zerargui F, 2015. Activité antioxydante des extraits de racines *Tamuscommunis* L. et caractérisation des substances bioactives, Thèse de doctorat en Biochimie, Université Ferhat Abbas Sétif 1, 42p.

Zerriouh M, 2015. Contribution à l'étude phytochimique et activité antidiabétique de *hammadascoparia* (Pomel), « Remth ». Thèse de Doctorat en Biologie, Université Abou BekrBelkaid –Tlemcen, 29p.

Annexes



Annexe 01: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.



Annexe 02: Courbe d'étalonnage de la quercitrine pour le dosage des flavonoïdes.