

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UNIVERSITE de TLEMCEM
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences
de la Terre et de l'Univers



Département de Biologie

Laboratoire des Produits Naturels "LAPRONA"
Laboratoire de Microbiologie Appliquée à L'agroalimentaire au Biomédical
et à L'environnement (LAMAABE)

MEMOIRE

Présenté par

BOUKHIAR Sarra Khaoula

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER en Science Biologique

Option : Microbiologie et Contrôle de Qualité

Thème

Quantification des phénols totaux et des anthocyanes et effets scavenger du radical DPPH et antimicrobien des extraits hydro-méthanoliques (Fleurs et Stigmates) de *Crocus sativus* (Safran)

Soutenu le Mardi 23 Juillet 2019, devant le jury composé de :

Présidente	M ^{me} ATIK-BEKKARA F.	Professeur	Université de Tlemcen
Examinatrice	M ^{me} LOUKIDI B.	M.C.A	Université de Tlemcen
Examineur	Mr. REBIAHI S.A.	M.C.A	Université de Tlemcen
Encadreur	Mr. BELYAGOUBI L.	M.C.B	Université de Tlemcen
Co-encadreur	M ^{me} BELYAGOUBI-BENHAMMOU N.	M.C.A	Université de Tlemcen

Année universitaire 2018-2019

ملخص

الزعفران (*Crocus sativus*) زَعْفَرَان: جَادِيّ: نَبَات بَصَلِيّ زَهْرُهُ أَحْمَرٌ إِلَى الصُّفْرَةِ () ، وهو نبات طبي وأثمن التوابل ، من فصيلة سوسنيات التي استخدمت على نطاق واسع في صناعة المواد الغذائية بفضل خصائصها الحسية (رائحة وصبغ) ، وصناعة الأدوية وتستخدم أيضا في الطب التقليدي بسبب خصائصه العلاجية.

يركز عملنا على القياس الكمي للطيف من مجموع الفينولات والأنثوسيانين في المستخلصات المائية والميثانولية للميسم وأزهار الزعفران المحصودة من منطقة عين فزة. كما تم دراسة تفاعل مضادات الأكسدة ومضادات الميكروبات في هذه المستخلصات.

يُظهر تحديد مجموع الفينولات نسبة أعلى من الفينولات في مستخلص الميسم ، بقيمة تساوي 97.9938 ± 10.5484 ملغ EAG / غ MS ، تليها مستخلص الزهور 2.2551 ± 69.1872 ملغ EAG / غ MS. في المقابل ، فإن نسبة الانثوسيانين في الزهور (0.1176 ± 11.5265 ميكرومول / غ) أعلى مقارنة بالميسم.

سجلت دراسة نشاط مضادات الأكسدة في مستخلص الزهرة بواسطة التقنية الارجاعية للجذور الحرة DPPH أفضل قدرة تقليل بتركيز EC_{50} يساوي 0.4728 ± 5.5402 ملغ / مل.

تم تحديد النشاط المضاد للميكروبات على ثلاث سلالات بكتيرية هي المكورات العنقودية الذهبية و الكلبسيلا الرئوية و مكورة دقيقة بطريقتين: طريقة نشر القرص وطريقة التمديد الجزئي في السائل عن طريق تحديد الحد الأدنى للتركيزات المثبطة والمبيدة (CMI و CMB).

ثبت أن مستخلص الأزهار نشط على *Micrococcus luteus* حيث تبلغ قيمة CMI 250 ميكروغرام / مل.

انطلاقاً من هذه النتائج ، يمكننا إعتبوا الزعفران مصدر طبيعي لمركبات مضادات الأكسدة ومضادات الميكروبات ذات الإمكانيات العلاجية العالية.

الكلمات المفتاحية: *Crocus sativus* ، الميسم ، الزهور ، مجموع الفينولات ، الانثوسيانين ، نشاط مضادات الأكسدة ، النشاط المضاد للميكروبات.

Résumé

Le safran (*Crocus sativus*), une plante médicinale et épice la plus précieuse, de la famille des Iridacées qui a été largement utilisée dans l'industrie agroalimentaire grâce à ses propriétés organoleptiques (arôme et colorant), l'industrie pharmaceutique et aussi utilisée dans la médecine traditionnelle en raison de ses caractères thérapeutiques.

Notre travail porte sur la quantification par dosage spectrophotométrique des phénols totaux et des anthocyanes des extraits hydro-méthanoliques des stigmates et des fleurs du safran récolté de la région d'Ain Fezza. L'étude des activités antioxydante et antimicrobienne de ces extraits a été aussi envisagée.

Le dosage des phénols totaux montre une teneur plus élevée en phénols dans l'extrait des stigmates, avec une valeur égale à 97.9938 ± 10.5484 mg EAG/g MS, suivi par l'extrait des fleurs 69.1872 ± 2.2551 mg EAG/g MS. Par contre, la teneur en anthocyanes dans les fleurs (11.5265 ± 0.1176 $\mu\text{mol/g}$) est plus importante que celle dans les stigmates.

L'étude de l'activité antioxydante de l'extrait des fleurs par le test du piégeage du radical DPPH a enregistré une meilleure capacité réductrice avec une concentration EC_{50} égale à 5.5402 ± 0.4728 mg/ml.

L'activité antimicrobienne a été déterminée sur trois souches bactériennes *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* et *Micrococcus luteus* via deux méthodes : la méthode de diffusion des disques et la méthode de microdilution en milieu liquide en identifiant les concentrations minimales inhibitrices et bactéricides (CMI et CMB). L'extrait des fleurs s'est avéré actif sur *M. luteus* dont la valeur de la CMI est de 6250 $\mu\text{g/ml}$.

Selon nos résultats, nous considérons que le safran est une source naturelle en composés antioxydants et antimicrobiens à fort potentiel thérapeutique.

Mots clés : *Crocus sativus*, Stigmates, Fleurs, Phénols totaux, Anthocyanes, Activité antioxydante, Activité antimicrobienne.

Abstract

Saffron (*Crocus sativus*), a medicinal plant and the most precious spice of the iridaceae family, which has been widely used in the food industry thanks to its organoleptic properties (aroma and colouring), the pharmaceutical industry and also used in traditional medicine because of its therapeutic characteristics.

Our study is concerned with the evaluation by spectrophotometric assay of polyphenols and anthocyanins of hydromethanolic extract of stigmas and flowers harvested from the region of Ain Fezza. We were also interested to study of antioxidant and antimicrobial activities of these extracts.

The determination of total phenolics shows a higher content in the stigmas extract, with a value equal to 97.9938 ± 10.5484 mg GAE/g DM, followed by the flower extract 69.1872 ± 2.2551 mg GAE/g DM. On the other hand, the anthocyanin content in the flowers (11.5265 ± 0.1176 $\mu\text{mol/g}$) is greater than that in the stigmas.

The study of the antioxidant activity of the flower extract by the DPPH radical scavenging test recorded a better reducing capacity with an EC_{50} concentration equal to 5.5402 ± 0.4728 mg/ml.

The antimicrobial activity was determined on three bacterial strains *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* and *Micrococcus luteus* via two methods: the disk diffusion method and the liquid microdilution method by identifying minimum inhibitory and bactericidal concentrations (MIC and CMB). The extract of the flowers was active on *M. luteus* whose MIC value is 6250 $\mu\text{g/ml}$.

According to our results, we consider that saffron is a natural source of antioxidant and antimicrobial compounds with high therapeutic potential.

Keywords: *Crocus sativus*, Stigmas, Flowers, Total phenolics, Anthocyanins, Antioxidant activity, Antimicrobial activity.