

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLICUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة عمّار تليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT
كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم علوم المادة
DEPARTEMENT Sciences de la Matière



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Matière

Filière : Chimie

Option : Chimie Organique appliquée

Par :

Mlle. GUENDOUZ Chaima

THEME

Investigation phytochimique aux propriétés antiradicalaire des extraits phénoliques de Safran local (région de Laghouat)

Soutenu publiquement devant le jury composé de :

Mme. HAMIA Chahrazed

MCB

Présidente

Mme. AMI Yasmine

MAA

Examinatrice

Mr. YOUSFI Mohamed

Pr

Encadreur

Année Universitaire 2019/2020

Remerciements

*Tout d'abord, je remercie **Dieu**, Tout-Puissant de m'avoir donné la force et la patience pour terminer ce travail, bien que les circonstances que nous avons traversées cette année et après une période de cinq mois de confinement due à Covid-19.*

*Je voudrais donc exprimer mes profonds remerciements et ma gratitude à mon promoteur **Pr. YOUSFI MOHAMED**, non seulement pour avoir accepté d'encadrer ce travail, mais aussi pour la confiance qu'il m'a témoignée dès le départ, pour son soutien tous au long de la réalisation de ce travail, pour ses précieux conseils et ses grands efforts.*

*Je tiens également à remercier **Mme. HAMIA Chahrazed** et **Mme. AMI Yasmine**, qui nous ont fait l'honneur de participer à notre jury de soutenance.*

*Je remercie également **Mr. HARRATH Mohamed** et tous les chercheurs du laboratoire des sciences fondamentales pour leur assistance très bénéfiques.*

*Je remercie **Mr. BENTAHAR Khaled** ingénieur agronome de nous avoir offert du safran.*

Je remercie également tous ceux qui ont contribué à ce résultat. Je pense surtout à tous les enseignants qui m'ont accompagné pendant mes années universitaires, et je n'oublie pas de remercier tous mes amis de promotion pour leur aide, et leur soutien moral.

Enfin, je remercie également toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Un grand merci à toutes et à tous

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à

Ma chère mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, que Dieu vous protège et vous donne une vie longue et heureuse.

Mon cher père, que Dieu ait pitié de lui, qui m'a aidé dans ce travail et qui, j'avais espéré, serait fier de moi et trouverait ici le résultat de nombreuses années de sacrifices et de difficultés pour m'aider à avancer dans la vie.

A mes chers frères et ma chère sœur pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral.

A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire.

A mes chers professeurs et tous ceux qui m'instruisent.

A mes chères amies avec qui le destin m'a rassemblé.

A toutes et tous mes collègues de la promotion que je n'oublierai pas.

CHAIMA

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des Figures

Liste des tableaux

Introduction générale.....02

Matériels et Méthodes

1. Produits chimiques.....08

2. Matière végétal.....08

3. Extraction des composés phénoliques.....09

4. Dosage des phénols totaux.....09

 4.1. Principe de la méthode.....09

 4.2. Protocole expérimental.....09

5. Dosage des flavonoïdes.....10

 5.1 Principe de la méthode.....10

 5.2 Protocole expérimental.....10

6. Evaluation de l'activité antiradicalaire par le test DPPH10

 6.1.1. Principe de la méthode.....10

 6.1.2. Protocole expérimental.....11

7. Détermination des principales caractéristiques du safran par ISO 3632.....12

 7.1. Principe de la méthode.....12

 7.2. Protocole expérimental.....13

 7.2.1. Teneur en eau et les composés volatils Hr (%).....13

 7.2.2. Teneur en composants principales ($E^{1\%}_{1cm}$)14

Résultats et Discussion

1. Rendements de l'extraction.....	16
2. Quantification des composés phénoliques.....	17
2.1. Dosage des phénols totaux.....	17
2.2. Dosage des flavonoïdes.....	19
3. Evaluation de l'activité antiradicalaire par le test DPPH.....	21
4. Détermination des principales caractéristiques du safran par ISO 3632.....	26
Conclusion générale.....	29
Références bibliographiques	

Liste des abréviations

BHA : 3, tertio-butyl-4, hydroxyanisole.

BHT : 3,5, dio-tertio-butyl-4, hydroxyanisol.

B : Bulbe.

C_{AS}:Concentration de l'acide ascorbique.

C_E:Concentration de l'extrait.

C_{E C.P} :Concentration d'extraits en composés phénoliques.

CRSTRA : Centre de recherche scientifique et technique sur les régions arides (Center of Scientific and Technical Research on Arid Regions).

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

E :Etamine.

EAG : Equivalent en acide gallique.

EQ : Equivalent en quercétine.

ERO : Espèces réactives oxygénées.

FDA : Administration des aliments et médicaments (Food and Drug Administration).

ISO : Internationale Standardisation Organisation.

MS :Matière sèche.

P :Pétale.

Sp :Sparthe.

St :Stigmate.

T :Tunique.

VCEAC :Capacité antioxydante equivalente en vitamine C (Vitamin C Equivalent Antioxydant Capacity).

Liste des Figures

Figure 1 : Les différentes parties du safran.....	08
Figure 2 : Réduction du radical libre DPPH.....	11
Figure 3 : Structure chimique de la crocine, la picrocrocine, et le safranal.....	12
Figure 4 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	17
Figure 5 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.....	19
Figure 6 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique.....	22
Figure 7 : Courbe de la variation du pourcentage d'inhibition PI% du radical DPPH en fonction de la concentration de l'acide ascorbique.....	24
Figure 8 : spectre des stigmates du safran en milieu aqueux.....	27

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classifications du safran selon la norme ISO 3632.....	13
Tableau 2 : Rendements des extraits de safran.....	16
Tableau 3 : Teneur des phénols totaux dans les extraits du safran.....	18
Tableau 4 : Teneur des flavonoïdes dans les extraits du safran.....	20
Tableau 5 : Valeurs de VCEAC μM des extraits du safran.....	22
Tableau 6 : Comparaison du pouvoir antiradicalaire des extraits avec l'acide ascorbique.....	24
Tableau 7 : Corrélation entre l'activité antiradicalaire et les teneurs en phénols totaux et flavonoïdes.....	26
Tableau 8 : Teneur en eau et en composés volatils Hr (%), et les longueurs d'onde, les teneurs en composés principaux ($E^{1\%}_{1\text{cm}}$).....	27

Introduction

générale

Le Safran (*Crocus sativus* L), saffron en anglais, son nom dérive du mot arabe "za'-faran", signifiant jaune. Le safran a une longue histoire qui couvre de nombreuses civilisations, continents et cultures. Bien que l'origine de la plante de safran ne soit pas tout à fait claire, on pense qu'elle est originaire de la Méditerranée orientale, et peut-être d'Asie mineure et de la Perse. Les Grecs savaient que l'épice était Crocus (comme mentionné par Homère dans l'Iliade), mais le nom était pré-grec et peut-être d'origine babylonienne-assyrienne. Une identification définitive de *Crocus sativus* datée d'environ 1700 à 1600 av. Comme une fresque dans le palais Minos à Knossos, en Crète. Une autre fresque d'environ 1500 av. J.-C. se trouve à Akrotiny sur l'île grecque de Santorin [1].

Le *Crocus sativus* est une plante monocotylédone, herbacée, pérenne et vivace qui a une floraison automnale et qui est inexistante à l'état sauvage. C'est une plante rustique, à cause de sa morphologie et de sa physiologie. Elle peut atteindre de 10 à 25 cm de hauteur. Sa fleur de couleur mauve est composée de 6 pétales, de 3 étamines jaunes et d'un pistil se divisant en 3 longs stigmates de couleur rouge vif brillant et velouté de 3 à 4 cm. Les stigmates ont un aspect brillant à l'ouverture de la fleur, fins à la base et plus larges à l'extrémité, très odorants et constituent le safran du commerce une fois desséchés. Les feuilles varient de 5 à 11 par bourgeon et se développeront avec ou après la fleur. Le safran se développe à partir de ses bulbes. Le bulbe, aussi appelé corne, de 3 à 5 cm de diamètre, est un organe souterrain qui accumule les substances de réserve nécessaires à la floraison et au bourgeonnement. Le safran a un pollen stérile, et la fleur du *Crocus sativus* ne produit pas de graines viables; sa multiplication végétative est propagée par les cormes, la plante étant dépendante de l'homme pour sa reproduction. On compte d'une à trois fleurs par bulbe et de deux à trois bulbes par plante [2].

Le safran est dérivé des stigmates de *Crocus sativus* Linnaeus, un membre de la famille des Iridacées. la classification taxonomique de *C. sativus* est selon la subdivision des angiospermes de la division des Spermatophytes, la sous-classe des Liliidae de la classe des Monocotylédones, et de l'ordre des Liliales, du genre Crocus qui comprend plus de 80 espèces de plantes bulbeuses de petites tailles [1].

Le safran pousse bien dans un climat continental tempéré comme il le fait dans un climat méditerranéen avec des hivers froids et des étés secs et dans des conditions d'humidité méditerranéenne sèche. La plante résiste à des températures extrêmes allant de 40 °C en été à -15 °C en hiver [3].

Aujourd'hui, le safran est cultivé dans différentes parties du monde. Les temps de semis varient d'un pays à l'autre en fonction des conditions agro-climatiques et du climat. Où les bulbes sont

plantés entre mi-juillet et septembre [4]. Le processus de floraison de la plante ne dure généralement que quatre à cinq semaines et la méthode traditionnelle de cueillette manuelle est toujours la seule méthode de récolte. Étant donné que le stigmate sec pèse environ 2 mg et que chaque fleur en a trois, environ 150 000 fleurs doivent être soigneusement cueillies pour produire 1 kg d'épices. Il faut beaucoup de temps pour cueillir les fleurs et séparer les stigmates. Équivaut à 370-470 heures de travail pour produire 1 kg de safran séché. Par conséquent, elle est considérée comme l'épice la plus chère au monde et s'appelle l'or rouge [1]. À l'heure actuelle, le prix du marché international du safran de première qualité varie de 15000 à 30000 EUR / kg [5]. Le safran est cultivé à petite échelle en Égypte, en Chine, en France, au Mexique, en Nouvelle-Zélande, en Turquie, en Afrique centrale et en Californie. La production de safran dépend fortement des conditions environnementales et des méthodes de culture [4].

Les principaux pays producteurs de safran sont l'Iran, le Maroc, l'Inde et la Grèce. Selon les dernières statistiques du commerce du safran en 2019, l'Iran est le plus grand producteur de safran au monde, fournissant 430 tonnes à 450 tonnes de safran produit dans le monde et il devrait atteindre 500 tonnes en 2020. L'Inde ne produit que 22 tonnes de safran par an en deuxième place. Les autres pays producteurs de safran selon leur part dans la production mondiale de safran comprennent la Grèce (7,2 tonnes), l'Afghanistan (6 tonnes), le Maroc (2,6 tonnes), l'Espagne (2,3 tonnes) l'Italie (1 tonne) la Chine (1 tonne) l'Azerbaïdjan (0,23 tonne) [6].

Le bassin méditerranéen est la région de distribution du safran, et le Maroc est l'un des principaux producteurs. Par conséquent, la culture du safran peut prospérer dans toute l'Afrique du Nord sans aucun doute. La culture du safran a commencé à se développer en Algérie, alors que le CRSTRA poursuivait un projet pilote en 2009-2012, les résultats encourageants du premier projet ont conduit à la proposition d'un deuxième projet de mise en œuvre en 2013-2016. Afin de diffuser la culture du safran dans différentes régions d'Algérie, davantage de producteurs à travers le pays ont commencé à le cultiver, ainsi que d'élargir l'horizon de la production et de la consommation de safran en Algérie en raison de l'intérêt croissant du monde pour l'utilisation de produits d'origine végétale [7].

Le safran est principalement utilisé comme épice dans les aliments et dans l'industrie avec de multiples applications:

Industrie alimentaire: le safran contient des niveaux élevés de manganèse, de vitamine C, de fer, de potassium et de vitamine B6. Selon la loi de la FDA (Food and Drug Administration) des États-Unis, le safran est autorisé en tant que colorant naturel, et son utilisation comme arôme naturel n'est pas limitée. Il est utilisé dans la préparation d'aliments tels que les saucisses, la

margarine, le beurre, le fromage, les liqueurs, les plats de viande, les produits laitiers, les gâteaux et desserts, les gelées, les boissons, les chocolats, les soupes, le riz et de nombreux autres aliments. Cette substance précieuse ajoute une couleur dorée et un goût fort et aromatique à de nombreux aliments [3].

Cosmétiques et parfums: En raison des nombreuses propriétés fonctionnelles du safran, ce produit est utilisé dans la préparation de nombreux types de cosmétiques. Le safran est une substance utile pour nettoyer la peau. Il contient des ingrédients antibactériens pour le traitement de l'acné. Il augmente également la circulation dans la peau, crée une peau radieuse et élimine les coups de soleil sur la peau, conduisant au rajeunissement de la peau [3].

Propriétés thérapeutiques: Le traitement de la dépression est l'une des propriétés les plus importantes du safran en médecine traditionnelle depuis l'Antiquité. Les avantages du safran en tant qu'antidépresseur sont bien documentés. Certaines autres utilisations thérapeutiques du safran comprennent les antioxydants, le soulagement de la toux, la bronchite et l'obstruction hépatique, la réduction du cholestérol, la stimulation de l'appétit, la lutte contre les troubles neurologiques et l'asthme, la réduction des coliques, le renforcement du cœur, l'amélioration de l'humeur, la réduction d'anxiété et du stress, anti-tumoral, rappel de mémoire et d'apprentissage, neuroprotecteur, ayant des propriétés analgésiques, anti-inflammatoires, anticonvulsivantes, sédatives, antidiabétiques et anti-cancérigènes, réducteur de pression artérielle, réducteur de lipides, protecteur de la rétine et traitement de l'insomnie. Ainsi, le safran, en tant qu'herbe médicinale importante, est un bon candidat avec de nombreux potentiels prometteurs à considérer pour la conception de nouveaux médicaments [3].

Autres industries: Le safran est utilisé dans la teinture (par exemple, pour la coloration des ceintures de soie traditionnelles) [3].

Les multiples utilisations du safran sont dues à ses composants chimiques. L'analyse chimique du stigmate de *C. sativus* a montré la présence d'environ 150 composés volatils et non volatils. Cependant, moins de 50 composants ont été identifiés à ce jour [8].

Les trois principaux composés bioactifs du safran sont la crocine, les esters glucosyliques de la crocétine d'environ 6 à 16%, sont des caroténoïdes hydrosolubles et sont responsables de la couleur caractéristique du safran. La picrocrocine, environ 1% à 13%, est un glycoside de safran, qui est responsable du goût amer de l'épice et est un précurseur du safranal. Le safranal représente environ 30 à 70% de l'huile essentielle, le principal composant de l'huile essentielle distillée, qui est un mono-terpène aldéhyde, responsable de son arôme distinctif.

Le safran contient également divers composants chimiques avec environ 10% d'humidité, 12% de protéines, 5% de matières grasses, 5% de minéraux, 5% de fibres brutes et 63% de sucres, y compris l'amidon, les sucres réducteurs, le pentosane, les gommages et la pectine, et dextrine (% m/m). Les effets des vitamines riboflavine (B2) et thiamine (B1) ont également été déterminés dans le safran. Les plages de tous les composants chimiques peuvent varier considérablement en raison des conditions de croissance et du pays d'origine [9].

Malheureusement, la production limitée de safran et son prix extrêmement élevé en ont fait un sujet de fraude fréquent depuis l'Antiquité. Aujourd'hui, une série de méthodologies analytiques ont été développées pour garantir l'authenticité et la qualité du safran. Le safran est certifié sur le marché du commerce international selon les normes de l'Organisation internationale de normalisation (ISO) 3632 depuis 1993 (ISO 3632-1, 2011; ISO 3632-2, 2010) [9].

La plante *C. sativus* est couramment cultivée pour produire la partie la plus précieuse de la fleur, qui est l'épice safran des stigmates. Cependant, pour récolter 1 kg de safran séché, environ 350 kg de pétales, 1500 kg de feuilles, des centaines de bulbes et d'autres sous-produits sous forme de sparthes et de tuniques ne sont actuellement pas utilisés et sont jetés. Cependant, la grande quantité de sous-produits tels que les résidus (environ 90%) rend la culture inestimable en termes de biomasse ainsi que ses utilisations dans les industries de l'alimentation et de la santé, et rend souhaitable la recherche de nouvelles utilisations. Des études récentes ont été menées pour prouver l'effet des antioxydants et l'importance des résidus [10].

Notre organisme est équipé de tout un système complexe de défenses antioxydants enzymatiques et non enzymatiques, localisé dans les compartiments intra- et extracellulaires. Un antioxydant est une substance qui inhibe ou retarde significativement l'oxydation d'un substrat, alors qu'elle présente une concentration très faible dans le milieu où elle intervient, les mécanismes de l'action d'un antioxydant peuvent comprendre; Le piégeage direct des espèces réactives de l'oxygène ERO, L'inhibition des enzymes et la chélation des traces métalliques responsables de la production d'ERO, La protection des systèmes de défense antioxydants.

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques, tel que le BHA(E320), BHT(E321), et PG(E310) sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels. Cependant, il a été montré que ces antioxydants de synthèse pouvaient être toxiques ou carcinogènes. Par conséquent, et vue le désir des consommateurs de retourner à l'utilisation des produits naturels, la recherche des sources naturelles d'antioxydants a provoqué l'intérêt des grands laboratoires spécialisés

Plusieurs substances peuvent agir en tant qu'antioxydants *in vivo* ont été proposés. Elles incluent le bêta-carotène, l'albumine, l'acide urique, les œstrogènes, les polyamines, les flavonoïdes, l'acide ascorbique, les composés phénoliques, la vitamine E, le BHT et le BHA. Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles ont également une capacité de lier les acides gras libres [11].

Ces dernières années, la culture du safran a commencé à se développer dans toute l'Algérie, d'où notre intérêt pour cette plante. Dans ce travail, nous nous intéressons à l'évaluation des déchets à l'échelle du laboratoire des extraits de safran local. Cette évaluation consiste à doser la teneur en phénols totaux, en flavonoïdes, et d'évaluer l'activité antiradicalaire des extraits hydrométhanolique et hydroacétonique de bulbes, de sparthes, de tuniques, de pétales, et d'étamines de la plante *C. sativus*. Nous avons également déterminé la qualité d'épice, selon la norme ISO 3632, Il s'agit de déterminer si les conditions agricoles de la région de Laghouat ont un impact sur la qualité du safran et de comparer avec d'autres travaux, car à notre connaissance aucune étude n'a été entreprise relative à la valorisation de safran et notamment leur déchets.

Matériels et Méthodes

1. Produits chimiques :

Les produits chimiques utilisés dans ce travail, sont d'un grade analytique élevé de marque Sigma-Aldrich : Ether de pétrole, méthanol, acétone, Na_2SO_4 anhydre, acétate d'éthyle, l'acide gallique, bicarbonate de sodium Na_2CO_3 , réactif Folin- Denis, la quercétine, chlorure d'aluminium AlCl_3 , l'acide ascorbique, le DPPH (diphénylpicryl-hydrate), eau distillée.

2. Matière végétale :

Nous avons travaillé sur différentes parties du safran local, récolté en octobre 2019, dans la région d'Esseridja à Laghouat, en Algérie.

Le safran a été séparé en six parties (Fig.1): bulbe, tunique, sparthe, pétale, étamine et stigmate. Les pétales et les étamines ont été séchés à l'air à l'ombre, et les stigmates au four.

Pour simplifier, nous attribuons des symboles pour nos échantillons B pour les bulbes, T pour les tuniques, Sp pour les sparthes, P pour les pétales, E pour les étamines et St pour les stigmates.

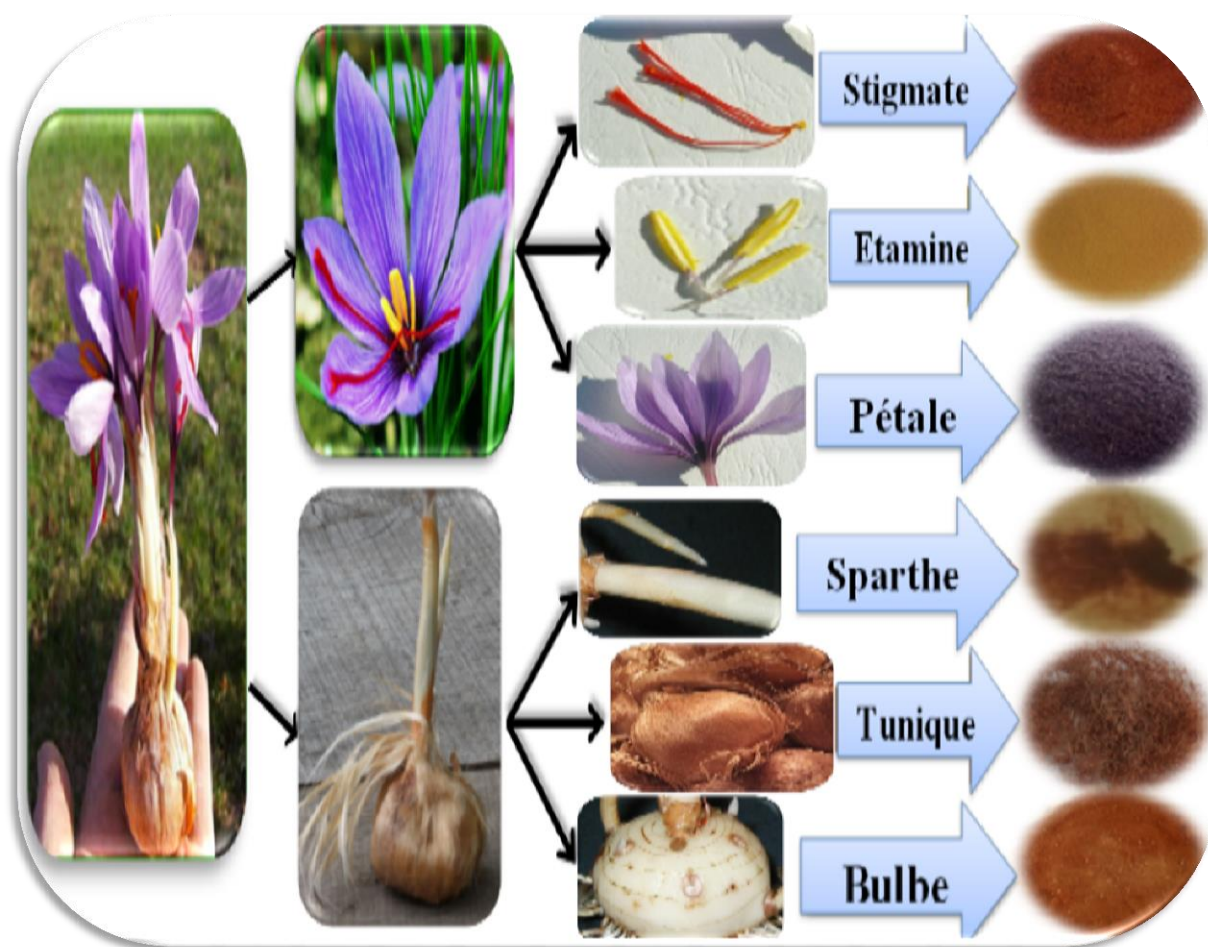


Figure (1) : Les différentes parties du safran.

3. Extraction des composés phénoliques :

Les trois parties de safran, les bulbes, les tuniques, les sparthes sont séchés dans une étuve à 103 °C, jusqu'à l'obtention d'une masse constante. Les pétales et les étamines sont pré-séchés.

Les cinq parties sèches de safran ont été broyées et tamisées. L'extraction a été effectuée en macérant 1 g des sparthes, et 2 g des tuniques, des étamines, des pétales, et des tourteaux de bulbes en utilisant deux systèmes de solvants de volume 100 ml à savoir : méthanol / eau (8: 2, V/V), acétone / eau (7: 3, V/V), pendant 24 h à température ambiante. Les extraits ont été filtrés à l'aide de papier filtre. Puis évaporés sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif. Ensuite la fraction aqueuse a été lavée par de l'éther de pétrole pour éliminer les pigments et en suite les composés phénoliques sont extraits par de l'acétate d'éthyle. Les solvants ont été séchés par du sulfate de sodium anhydre puis évaporés dans un évaporateur rotatif. Les extraits sont conservés au réfrigérateur jusqu'au moment de l'analyse, après avoir ajouté une quantité connue de méthanol à chaque extrait.

Concernant les bulbes, les lipides sont d'abord extraites en macérant une masse de bulbes broyés et tamisés dans un volume connu d'éther de pétrole pendant 24 h à température ambiante, puis l'extrait est filtré à l'aide de papier filtre, et les résidus sont séchés à l'air pour obtenir des tourteaux de bulbes.

4. Dosage des phénols totaux :

4.1. Principe de la méthode :

La méthode colorimétrique de Folin-Denis, décrite par Joslyn (1970) et Bassène (2012) a été utilisée et légèrement modifiée. Elle est basée sur la réduction de l'acide phosphomolybdique et tungstique en milieu alcalin, en présence des phénols pour donner une coloration bleue dont l'intensité est mesurée à 760 nm [12].

4.2. Protocole expérimental :

Pour quantifier les phénols totaux dans nos extraits, une courbe d'étalonnage de l'acide gallique a été réalisée. Pour la réalisation de la courbe d'étalonnage, différentes concentrations de l'acide gallique allant de 0,06 à 0,3 mg/ml ont été préparées. Par la suite, un volume de 500 µl du réactif Folin-Denis (dilué 10 fois par l'eau distillé) est mélangé avec 100 µl de chaque solution préparée, puis 2ml d'une solution aqueuse de bicarbonate de sodium Na_2CO_3 (2%) ont été ajoutés au mélange. Les tubes sont ensuite agités et maintenus à l'obscurité pendant 30 mn à température ambiante.

L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 760 nm contre un blanc, par un spectrophotomètre UV/Vis (Shimadzu 1800).

Les extraits des échantillons ont été traités selon les étapes du protocole suivi lors de la préparation de la courbe d'étalonnage, et les résultats sont exprimés en mg en équivalent d'acide gallique dans 100 g de la matière sèche. Chaque essai est répété 3 fois.

5. Dosage des flavonoïdes :

5.1. Principe de la méthode :

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement carbonyle CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium. Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et aluminium). Ceci traduit le fait que le métal (Al) capte deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons [13]. La teneur en flavonoïdes des extraits obtenus est déterminée par la méthode de La Maison et Carnet (1990). Le dosage des flavonoïdes nécessite aussi l'établissement d'une courbe d'étalonnage d'un flavonoïde de référence (la quercétine par exemple).

5.2. Protocole expérimental :

Pour la préparation de la gamme d'étalon, une série de dilution allant de 0,006 à 0,03 mg/ml de solution de la quercétine (préparé dans le méthanol). Par la suite, dans un tube à essai on met un volume de 1ml de la quercétine et 1ml d'une solution aqueuse de chlorure d'aluminium (2%). Les tubes sont ensuite agités et maintenus à l'obscurité pendant 20 mn à température ambiante.

La lecture est effectuée à 409 nm par spectrophotomètre UV/Vis (Shimadzu 1800), et les valeurs des absorbances trouvées pour chaque solution sont utilisées pour tracer la courbe d'étalonnage.

Pour les échantillons, les mêmes étapes ont été suivies sauf qu'à la place de la quercétine on introduit les extraits des échantillons, et les résultats sont exprimés en mg équivalent en quercétine par 100 g de matière sèche. Chaque essai est répété 3 fois.

6. Evaluation de l'activité antiradicalaire par le test DPPH :

6.1.1. Principe de la méthode :

Pour étudier l'activité anti-radicalaire des différents extraits, nous avons opté pour la méthode qui utilise le DPPH (1,1-diphényl picryl-hydrayl), le radical DPPH est l'un des substrats les plus utilisés souvent pour l'évaluation rapide et directe de l'activité anti-radicalaire en raison de sa

stabilité en forme radicale et la simplicité de l'analyse [14]. L'activité anti-radicalaire est déterminée par la diminution de l'absorbance d'une solution alcoolique de DPPH· à 517 nm, qui est due à sa réduction à une forme non radicalaire DPPH-H par les antioxydants (AH) donneurs d'hydrogènes présent dans l'extrait végétal ou par une autre espèce radicalaire comme le montre l'équation suivante (Fig 2) [15],[16].

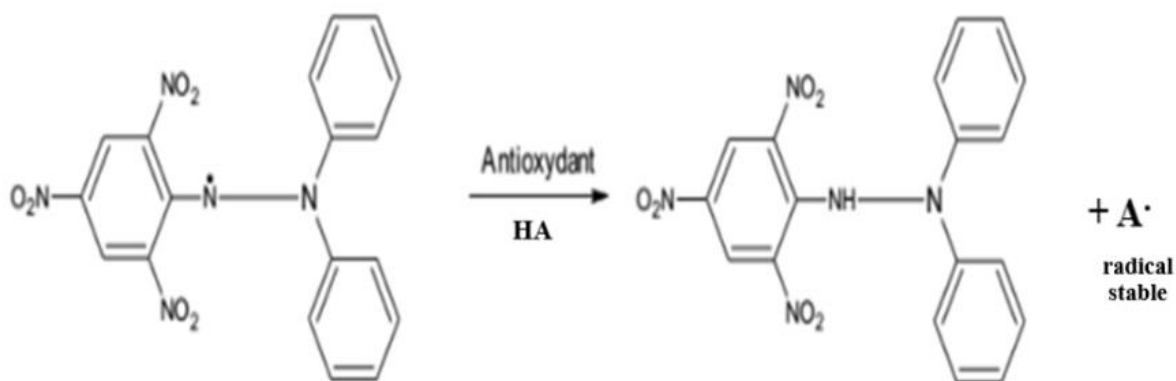


Figure (2) : Réduction du radical libre DPPH.

6.1.2. Protocole expérimental :

L'acide ascorbique a été pris comme un antioxydant de référence, car il est utilisé comme antioxydant en industrie agro-alimentaire. Pour la réalisation de la courbe d'étalonnage, une série de dilution allant de 0,00312 à 0,0156 mg/ml de solution d'acide ascorbique (préparée dans l'eau). Ensuite, 1ml de chaque solution préparée est placé dans un tube à essai, 1 ml de DPPH 250 µM est ajouté (préparé dans le méthanol, agité pendant 1 h), puis les tubes sont agités. Après 30 min d'incubation, à température ambiante et à l'obscurité, la décoloration par rapport au contrôle contenant 1 ml méthanol et 1 ml la solution de DPPH a été suivie par spectrophotométrie à l'aide d'un spectrophotomètre UV/Vis (Shimadzu 1800) contre un blanc à une longueur d'onde de 517 nm.

Les extraits d'échantillons sont traités de la même manière que l'acide ascorbique. Chaque essai est répété 3 fois.

Le pourcentage d'inhibition (PI%) des radicaux libres de DPPH· est calculé par la relation suivante :

$$PI (\%) = 1 - \frac{A_{\text{Echan}}}{A_{\text{Contr}}} \cdot 100$$

A_{Contr} : Absorbance de la solution DPPH en absence de l'antioxydant (acide ascorbique ou extrait).

A_{Echan} : Absorbance en présence de l'antioxydant (acide ascorbique ou extrait)

La courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (absorbance en fonction de la concentration de l'acide ascorbique exprimée en μM), nous a permis de calculer l'activité anti-radicalaire des extraits exprimée en $\mu\text{M/g}$ (VCEAC) Vitamine C Equivalent Antioxidant Capacity.

7. Détermination des principales caractéristiques du safran par ISO 3632 :

7.1. Principe de la méthode :

Pour l'évaluation de la qualité du safran conformément à la norme ISO 3632, la couleur, le goût et l'arôme sont déterminés en quantifiant la teneur des principaux composants ; crocine, picrocrocine et safranal (Fig3), par spectrophotométrie UV-Vis à des longueurs d'ondes 257, 330 et 440 nm respectivement. La picrocrocine est un composant de l'huile essentielle de safran qui caractérise le goût amer des épices. L'arôme du safran provient du terpène-aldéhyde safranal. La couleur de l'épice est déterminée par la composition des crocines, à savoir les crocines cis et trans-caroténoïdes glycosidiques hydrosolubles, les esters glucosyliques de crocétine [5].

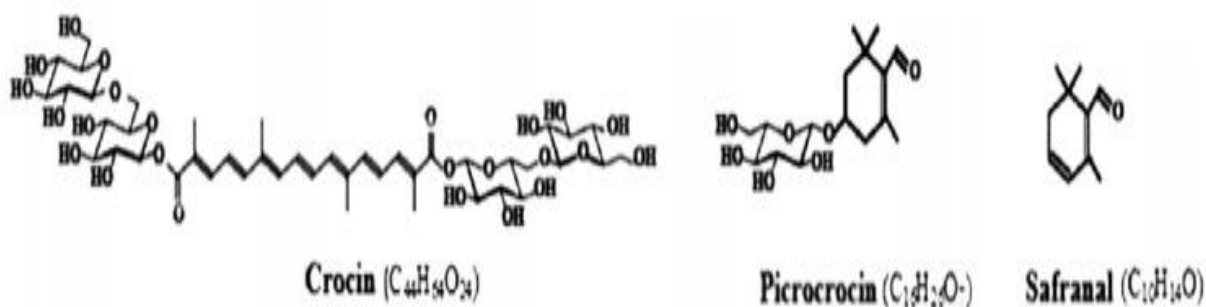


Figure (3): Structure chimique de la crocine, la picrocrocine, et le safranal.

Afin de normaliser la classification du safran dans le monde, la norme internationale ISO 3632 est mise à jour tous les trois ans, ce qui entraîne une classification du safran dans seulement trois catégories (Tableau 1) [5],[17].

Tableau 1 : Classifications du safran selon la norme ISO 3632.

Caractéristiques	Spécifications		
	Catégories		
	I	II	III
Humidité et teneur en matières volatiles (fraction massique), Hr (%),%,max.			
Safran en filament	12	12	12
Safran en poudre	10	10	10
Saveur amère, $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 257nm, sur matière sèche, min. (à cette longueur d'onde, l'absorbance de la picrocrocine est maximale)	70	55	40
Safranal, $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 330nm, sur matière sèche : min. max. (à cette longueur d'onde, l'absorbance du safranal est maximale)	20-50	20-50	20-50
Pouvoir colorant, $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 440nm, sur matière sèche, min. (à cette longueur d'onde, l'absorbance de la crocine est maximale)	200	170	120

7.2. Protocole expérimental :

L'analyse qualitative des épices a été réalisée selon la norme ISO 3632 (ISO 3632-1, 2011; ISO 3632-2, 2010), sur l'échantillon de stigmaté issu de la production 2019.

7.2.1. Teneur en eau et les composés volatils Hr (%) :

Les stigmatés pré-séchés ont été pesés ($m_i \sim 0,98$ g), puis placés dans une étuve à 105 °C pendant 16 h. Après l'avoir sorti de l'étuve, ils sont repesés. La teneur en eau et les composés volatils sont calculés comme suit:

$$\text{Hr (\%)} = \frac{m_i - m_f}{m_i} \cdot 100$$

7.2.2. Teneur en composants principales ($E_{1cm}^{1\%}$) :

Pour quantifier la picrocrocine, le safranal et la crocine, des stigmates secs ont été broyés et tamisés. On prélève 0,05 g de poudre dans 100 ml d'eau distillée sous agitation à l'obscurité pendant une heure, puis on prend 2 ml de la solution pour préparer une solution de 20 ml dans l'eau distillée.

Les résultats sont obtenus en réalisant un spectre UV-Visible de 200 à 800 nm, à l'aide d'un spectrophotomètre UV / Vis (Shimadzu 1800), avec une cuve en quartz de 1 cm et de l'eau pure pour la correction du blanc. Deux spectres ont été effectués sur la solution.

La teneur en composants ($E_{1cm}^{1\%}$) de chaque échantillon a été calculée par la formule suivante:

$$E_{1cm}^{1\%} = \frac{A \cdot V \cdot d}{m \cdot (100 - Hr)}$$

A : absorption spécifique de la solution d'essai.

V : volume de la solution préparée (ml).

d : dilution de l'extrait.

m : la masse de la prise d'essai (g).

Hr : teneur en eau et en composés volatils (%).

Les résultats expérimentaux ont été comparés aux données de la littérature sur la qualité du safran.

Résultats

Et Discussion

1. Rendements de l'extraction :

Les valeurs des rendements des extraits d'acétate d'éthyle obtenus par extraction liquide-liquide sont reportées dans le tableau 2. On remarque que les rendements des extraits dépendent de la nature (structure, polarité) du solvant d'extraction utilisé. Les extraits hydrométhanolique ont montré les rendements les plus élevés que les extraits hydroacétonique. Le rendement le plus élevé est enregistré dans les Sparthes avec une valeur de 4,32% (m/m) en utilisant le solvant hydrométhanolique. Par contre la valeur du rendement le plus faible est enregistrée dans l'extrait hydroacétonique des bulbes avec une valeur 0,35 % m/m. Si on compare nos résultats avec ceux obtenus par Iliass Lahmass et al., [10]-[18], on remarque que pour les sparthes nos valeurs sont plus élevées (4,32% contre 1,8% par Iliass Lahmass et al, 2018, et plus faibles par rapport aux résultats de Iliass Lahmass et al, 2017 de 7,9%), par contre les rendements enregistrés dans notre étude sont plus faibles pour les bulbes et les tuniques par rapport à ceux trouvés par Iliass Lahmass et al, 2018 de 4,62% et 1,67 % , et par Iliass Lahmass et al, 2017 de 5,7% et 4,2% respectivement. Toutes fois ces différences en rendement d'extraction peuvent être dues à plusieurs facteurs comme les solvants utilisés, le protocole d'extraction et les conditions environnementaux où pousse la plante (sol, eau, climat..).

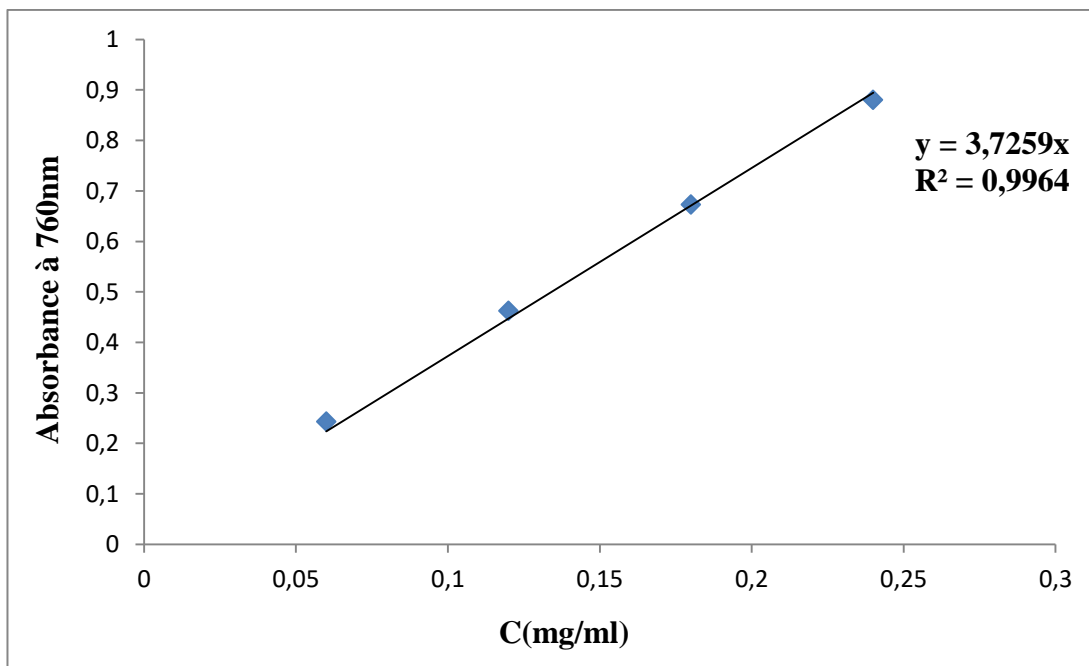
Tableau 2: Les rendements des extraits de safran.

Échant	Rendements des extraits de safran (%)	
	Méthanol/eau	Acétone/eau
B	0,49	0,35
T	0,85	0,71
Sp	4,32	2,64
P	2,90	3,46
E	2,11	2,71

2. Quantification des composés phénoliques :

2.1. Dosage des phénols totaux :

A partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (fig 4), nous avons calculé les quantités des phénols totaux en mg en équivalent de l'acide gallique par 100 grammes de matière sèche (mg/100g EAG) dans les différentes parties du safran (B, T, Sp, P, E).



Figure(4) : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Les résultats sont donnés dans le tableau 3. A partir des résultats des tableaux 2 et 3, on constate que les teneurs en phénols totaux des extraits hydrométhanolique (Sp, P, E, T, B) évoluent dans le même sens avec leurs rendements ce qui n'est pas valable pour les extraits hydroacétonique. Une remarque qui attire l'attention est que les rendements d'extraction d'acétate d'éthyle pour les deux systèmes de solvants utilisés sont très élevés par rapport aux teneurs en phénols totaux, ce qui indique que ces extraits renferment d'autres composés que les phénols.

Tableau 3 : Teneur des phénols totaux dans les extraits du safran.

Échant	Teneur en composés phénoliques par l'acide gallique (mg/100g)	
	Méthanol/eau	Acétone/eau
B	24,76 ± 0,02	20,84 ± 0,01
T	30,98 ± 0,01	28,37 ± 0,01
Sp	182,19 ± 0,06	137,50 ± 0,07
P	62,27 ± 0,02	31,26 ± 0,01
E	55,87 ± 0,03	97,56 ± 0,05

Nous remarquons que la teneur la plus élevée en phénols totaux est enregistrée dans l'extrait hydrométhanolique des Sparthes (182,19mg/100g), et elle diminue à 137,50mg/100g lors de l'utilisation du solvant hydroacétonique, les Sparthes sont toujours les plus riches en phénols totaux quel que soit le solvant d'extraction utilisé.

D'une manière générale, les extraits hydrométhanolique sont plus riches en phénols totaux que les extraits hydroacétonique, à l'exception de l'extrait hydroacétonique d'étamines, où la teneur en phénols totaux est presque le double que celle de l'extrait hydrométhanolique.

Ainsi, nous pouvons classer les échantillons en fonction de leur teneur en phénols totaux du plus riche au moins riche comme suit: les extraits hydrométhanolique de sparthes, de pétales, d'étamines, de tuniques, de bulbes. Le même classement est observé dans les extraits hydroacétonique avec un petit changement d'ordre entre les pétales et d'étamines.

Les quantités des phénols totaux dans notre étude pour les bulbes, les tuniques, les pétales et les sparthes sont inférieures à celles publiées par Iliass Lahmass et al, 2017, et Iliass Lahmass et al, 2018. A titre d'exemple Iliass Lahmass et al, 2017 ont trouvé des valeurs de 85 mg EAG/g d'extrait de tuniques, et 42 mg EAG/g d'extrait de pétales, et de 37 mg EAG/g d'extrait de sparthes, Sachant qu'ils ont utilisé de l'acétate d'éthyle comme solvant, et ont trouvé les valeurs suivantes dans les extraits méthanoliques; 94 mg EAG/g dans les pétales, 63 mg EAG/g dans les

bulbes, 50 mg EAG/g dans les tuniques, et 49 mg EAG/g dans les sparthes. Les valeurs trouvées par Iliass Lahmass et al, 2018 dans les extraits éthanoliques sont de 21,36 µg / mg dans les Sparthes, 15,2 µg / mg dans les tuniques, et 12,90 µg / mg dans les bulbes.

Pour les résultats d'Iliass Lahmass et al, 2017, nous notons que les extraits d'acétate d'éthyle sont classés en sens opposé pour nos échantillons. Nous pouvons observer que le classement des extraits dans notre travail est identique à celui publiée par Iliass Lahmass et al, 2018. Ces différences de teneur en phénols totaux pourraient être dues à plusieurs facteurs tels que les solvants utilisés, le protocole d'extraction et les conditions environnementales (sol, eau, climat, etc.).

2.2. Dosage des flavonoïdes :

Le dosage des flavonoïdes totaux a été réalisé par la méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) en utilisant la quercétine comme étalon. La figure (5) représente la courbe d'étalonnage de la quercétine. A partir de cette courbe, nous avons calculé les teneurs en flavonoïdes dans les six échantillons de safran. Les résultats sont exprimés en mg de flavonoïdes en équivalent de la quercétine par 100g de matière sèche (EQ mg/100g).

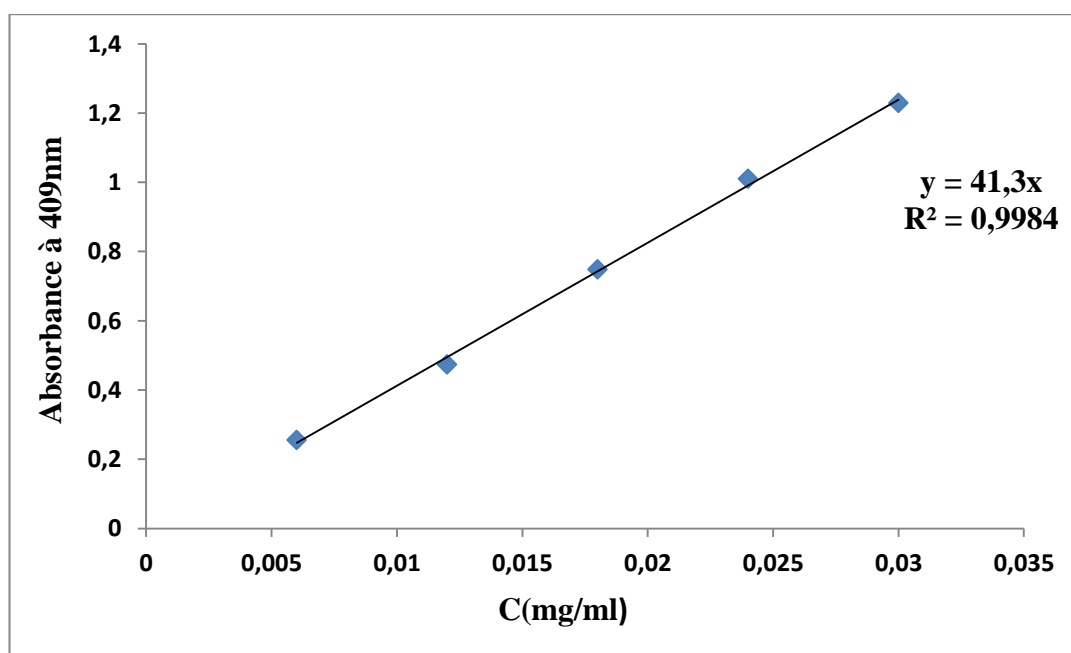


Figure (5) : Courbe d'étalonnage de la quercétine.

Les valeurs des quantités en flavonoïdes sont consignées dans le tableau 4 :

Tableau 4 : Teneur des flavonoïdes dans les extraits du safran.

Échant	Teneur des flavonoïdes par quercétine (mg/100g)	
	Méthanol/eau	Acétone/eau
B	9,59 ± 0,01	10.60 ± 0,02
T	8,64 ± 0,02	9,17 ± 0,02
Sp	129,27 ± 0,12	82,10 ± 0,13
P	146,73 ± 0,12	79,80 ± 0,04
E	37,55 ± 0,03	130,85 ± 0,02

D'après le tableau 4, on remarque que l'extrait hydrométhanolique de pétales renferme la plus grande quantité en flavonoïdes 146,73mg/100g, par contre la valeur de la quantité en flavonoïdes la plus faible est enregistrée dans l'extrait hydrométhanolique des tuniques avec une valeur 8,64 mg /100g.

À l'exception des extraits hydrométhanolique des sparthes et des pétales, les extraits hydroacétonique renferment les plus grandes quantités en flavonoïdes.

Nous pouvons classer par ordre croissant les échantillons en fonction de leurs quantités en flavonoïdes comme suit: les extraits hydrométhanolique de tuniques, de bulbes, d'étamines, de sparthes, de pétales; pour les extraits hydroacétonique de tuniques, de bulbes, de pétales, de sparthes, et d'étamines.

On note que pour les extraits hydrométhanolique et hydroacétonique des pétales et les extraits hydroacétonique des étamines, les quantités en flavonoïdes sont supérieures à celles des phénols totaux ce qui n'est pas logique, car les phénols totaux englobent toutes les classes des composés phénoliques. Pour affiner les résultats relatifs aux quantités des flavonoïdes et vu que les extraits concernés sont colorés en jaune et par conséquent cette coloration interfère avec la coloration jaune en présence de $AlCl_3$ ce qui va augmenter la valeur de l'absorbance de l'extrait et par

conséquent accroit la concentration en flavonoïdes, nous avons éliminé l'absorbance due à la coloration initiale des extraits en question par la lecture de l'absorbance de l'extrait et cela en ajoutant à 1 ml d'extrait 1ml d'eau sans $AlCl_3$. Bien que les extraits absorbent sans $AlCl_3$, malheureusement les teneurs en flavonoïdes restent toujours élevées. On peut expliquer ce résultat par le fait que les extraits renferment d'autres composés que les flavonoïdes réagissent avec $AlCl_3$ et augmentent les valeurs des absorbances et par conséquent les teneurs en flavonoïdes.

Nous avons enregistré des teneurs en flavonoïdes plus faibles dans nos extraits que celles publiées par Elias Lahmas et al. , 2017, qui ont trouvé des valeurs de 293, 166, 126 mg EQ/g, pour les extraits d'acétate d'éthyle de tuniques, de pétales, et de sparthes respectivement, par contre dans les extraits méthanolique ils ont trouvé des valeurs de 133, 103, 70, et 27 mg EQ/g pour les sparthes, les tuniques, les bulbes, et les pétales respectivement. La différence entre nos résultats et ceux publiés, peut être due au solvant utilisé, au protocole d'extraction et aux conditions environnementales.

3. Evaluation de l'activité antiradicalaire par le test DPPH :

L'évaluation de l'activité anti-radicalaire de nos extraits a été déterminée par le test du radical libre DPPH, un test de routine simple et rapide basé sur la diminution de la couleur du radical en présence de l'extrait phénolique.

A l'aide de la courbe d'étalonnage qui représente la variation de l'absorbance du radical DPPH en fonction de la concentration de l'acide ascorbique exprimée en μM pris comme antioxydant de référence (figure 6), nous avons évalué l'activité anti-radicalaire des différents extraits. L'activité anti-radicalaire est exprimée par la valeur VCEAC ($\mu M/g$ de la matière sèche), qui est définie comme la concentration exprimée en μM d'une solution de la vitamine C ayant la même activité antioxydante qu'une solution $1 \mu M$ de l'extrait testé.

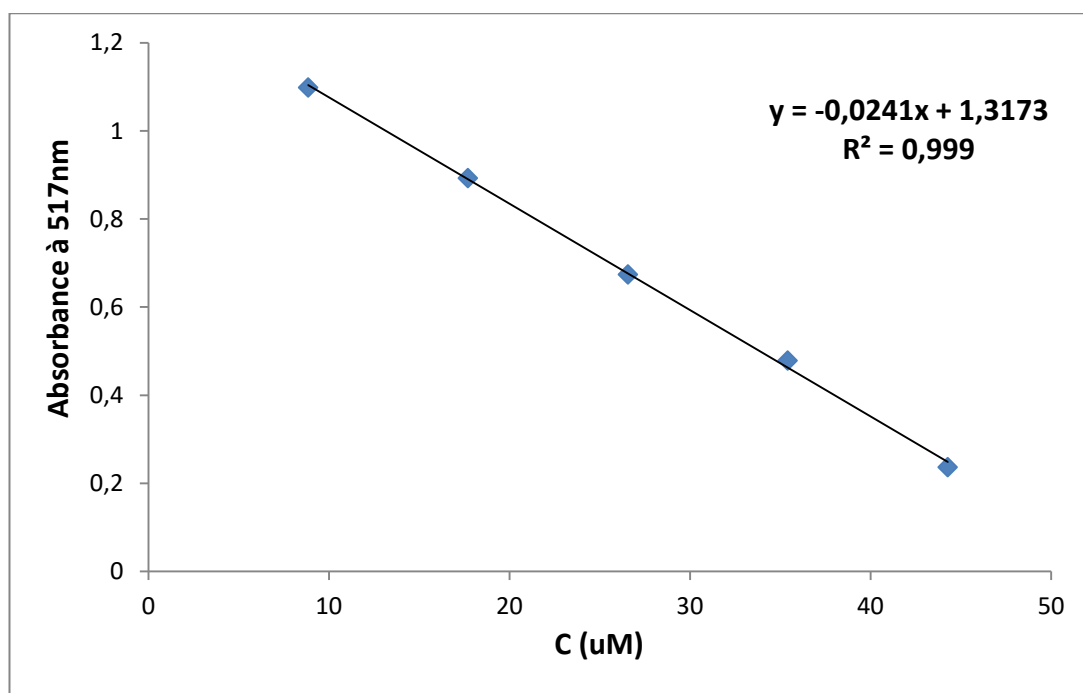


Figure (6) : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique.

Les résultats sont donnés dans le tableau 5.

Tableau 5 : Valeurs de VCEAC µM des extraits du safran.

Échant	l'activité anti-radicalaire par le Test DPPH	
	Méthanol/eau	Acétone/eau
	VCEAC (µM/g)	
B	0,78 ±0,01	0,62 ±0,02
T	0,95 ±0,02	1,07 ±0,07
Sp	3,40 ±0,08	2,87 ±0,07
P	1,13 ±0,048	0,64 ±0,02
E	0,96±0,01	1,69±0,13

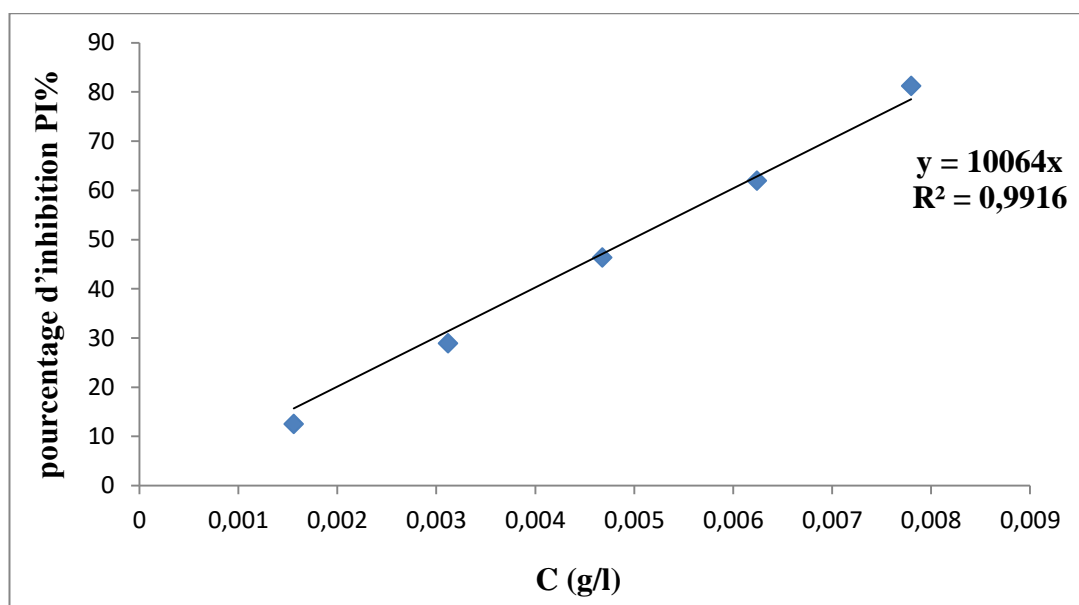
Plus la valeur du VCEAC est grande plus l'extrait est un antioxydant puissant. On remarque que les valeurs de VCEAC varient de 0,62 à 3,40 $\mu\text{M/g}$. L'échantillon de Sparthes a enregistré l'activité antioxydante la plus importante quel que soit le solvant d'extraction utilisé avec des valeurs de VCEAC égales à 3,40 et 2,87 $\mu\text{M/g}$ respectivement, par contre l'extrait hydroacétonique des bulbes a enregistré la plus faible valeur de VCEAC avec une valeur de 0,62 $\mu\text{M/g}$ ce qui lui affecte la plus faible activité antiradicalaire.

La majorité des extraits hydrométhanolique ont montré des activités antioxydantes plus élevées, à l'exception des extraits d'étamines et des tuniques où leurs activités étaient plus importantes dans le solvant hydroacétonique, avec des valeurs VCEAC de 1,69 et 1,07 $\mu\text{M/g}$ respectivement.

Les valeurs de VCEAC nous permettent de classer nos extraits par leurs pouvoirs antiradicalaires. Pour les extraits hydrométhanolique le classement par ordre décroissant est comme suit : les sparthes, les pétales, les tuniques, les étamines et en fin les bulbes. En revanche, pour les extraits hydroacétonique, le classement est presque le même avec une permutation de place entre les étamines et les pétales. Notons que les extraits hydrométhanolique de pétales et d'étamines donnent le même pouvoir anti-radicalaire.

Nous n'avons pas pu comparer nos résultats avec d'autres études, car les méthodes utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante dans les articles existant à notre disposition sont différentes (concentration de l'acide ascorbique et le DPPH, le facteur exprimant l'activité antiradicalaire).

Afin de comparer le pouvoir antiradicalaire des extraits étudiés avec l'acide ascorbique, nous avons tracé la courbe de la variation du pourcentage d'inhibition PI% (valeur moyenne) du radical DPPH en fonction de la concentration de l'acide ascorbique exprimée en g/l (Figure 7). A partir de cette courbe, nous avons calculé la concentration de l'acide ascorbique équivalente à celle de l'extrait et possédant la même valeur du PI% (Tableau 6).



Figure(7) : La courbe de la variation du pourcentage d'inhibition PI% du radical DPPH en fonction de la concentration de l'acide ascorbique.

Tableau 6 : Comparaison du pouvoir antiradicalaire des extraits avec l'acide ascorbique.

Echantillon		B	T	Sp	P	E
PI %	Méthanol/eau	44,98	57,74	68,82	67,33	29,83
	Acétone/eau	35,74	65,23	57,49	35,94	59,19
C _{AS} (mg/l)	Méthanol/eau	4,47	5,74	6,84	6,69	2,96
	Acétone/eau	3,55	6,48	5,71	3,57	5,88
C _E (mg/l)	Méthanol/eau	67,5	54,25	163,5	503,25	107,00
	Acétone/eau	48,25	50,75	114,5	229,25	251,50
R=C _E /C _{AS}	Méthanol/eau	15,10	9,46	23,91	75,22	36,10
	Acétone/eau	13,60	7,83	20,04	64,20	42,76
C _{E C.P} (mg/l)	Méthanol/eau	2,07	2,65	5,22	5,20	2,83
	Acétone/eau	2,49	4,83	5,58	5,24	4,93
R' = C _{AS} /C _E	Méthanol/eau	2,15	2,16	1,31	1,29	1,05
	Acétone/eau	1,42	1,34	1,02	0,68	1,19

On définit un rapport C_E/C_{AS} qui est un facteur qui nous aide à comparer l'activité antioxydante de nos extraits par rapport à l'acide ascorbique. Les résultats sont mentionnés dans le tableau 6. D'après les valeurs de ce rapport, il est clair que les valeurs des concentrations de l'acide ascorbique donnant la même valeur de PI% sont supérieures à celles des extraits, ce qui montre que tous les extraits sont moins efficaces que l'acide ascorbique envers le radical DPPH. Les extraits hydroacétonique et hydrométhanolique des tunique sont les plus antiradicalaires par rapport aux autres, ils sont presque 8 et 9 fois moins efficaces que l'acide ascorbique respectivement, car les valeurs de R sont les plus petites. Si on classe les extraits selon leurs activités antiradicalaires par rapport à l'acide ascorbique, on peut les classer comme suit : tunique, bulbes, sparges, étamines et pétales dans les deux systèmes de solvants utilisés pour l'extraction. Rappelons que la comparaison de l'activité antiradicalaire entre les extraits a montré que ceux des sparges étaient les meilleurs (3,40 ; 2,87 $\mu\text{M/g}$).

Pour évaluer la contribution des composés phénoliques seulement, nous avons exprimé les concentrations en phénols totaux au lieu de ceux des extraits bruts et cela en considérant que ces composés sont les seuls constituants des extraits bruts. Nous avons refait les calculs des concentrations, puis nous avons calculé le rapport R' qui est l'inverse de R (tableau 6). D'après les valeurs de R', nous remarquons que la majorité des extraits possèdent des activités antiradicalaires équivalentes à l'acide ascorbique car les valeurs de R' sont proches de 1, par contre deux extraits hydrométhanolique des tunique et des bulbes ont enregistré des activités antiradicalaires deux fois plus que l'acide ascorbique, l'extrait hydroacétonique des pétales est le plus faible que l'acide ascorbique.

Nous avons cherché des corrélations entre les teneurs des phénols totaux, en flavonoïdes, et l'activité anti-radicalaire exprimée par VCEAC (Tableau 7).

Pour les extraits hydrométhanolique et hydroacétonique, les valeurs des coefficients de corrélation entre les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes étaient proches, avec des valeurs R^2 étant de 0,63 et 0,50, respectivement.

Les meilleures valeurs des coefficients de corrélations ont été enregistrées entre les teneurs en phénols totaux et l'activité antiradicalaire et cela quelque soit le solvant utilisé pour l'extraction (les extraits hydrométhanolique et hydroacétonique). Les valeurs des coefficients de corrélation trouvées sont égales à 0,98 et 0,96 dans les extraits hydrométhanolique et hydroacétonique respectivement. Ces bonnes corrélations entre les teneurs en phénols totaux et l'activité antiradicalaire de nos extraits montrent que ces composés sont responsables à l'activité

antiradicalaire. Résultats attendus car les composés phénoliques sont très connus par leur efficacité à neutraliser les radicaux libres.

Tableau 7 : Corrélation entre l'activité anti-radicalaire et les teneurs en phénols totaux et flavonoïdes.

Corrélation	Corrélation entre l'activité anti-radicalaire et les teneurs en phénols totaux et flavonoïdes	
	Méthanol/eau	Acétone/eau
Teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes	0,63	0,50
Teneurs en phénols totaux et l'activité anti-radicalaire	0,98	0,96
Teneurs en flavonoïdes et l'activité anti-radicalaire	0,55	0,23

4. Détermination des principales caractéristiques du safran par ISO 3632 :

Pour évaluer la qualité du safran; la teneur en eau permet d'évaluer le séchage et la bonne conservation des stigmates, la picrocrocine, la saveur amère, le safranal, l'odeur caractéristique de l'épice et la crocine, sa couleur rouge sang. La teneur en eau, les composés volatils Hr (%) et les principales caractéristiques ont été déterminées selon la norme internationale (ISO 3632-1, 2011; ISO 3632-2, 2010) par une méthode spectrophotométrique d'extrait aqueux de safran, qui donne le spectre des stigmates du safran en milieu aqueux.

A partir de ce spectre, nous pouvons déterminer les longueurs d'ondes et les absorbances maximales et d'identifier les principaux composés de l'extrait aqueux des stigmates et de calculer les teneurs en ces composés.

Les résultats de la teneur en eau et en composés volatils Hr (%), et les longueurs d'onde, les teneurs en composés principaux sont indiqués dans le tableau 7.



Figure (8) : Le spectre des stigmates du safran en milieu aqueux.

Tableau 8 : La teneur en eau et en composés volatils Hr (%), et les longueurs d'onde, les teneurs en composés principaux ($E^{1\%}_{1cm}$).

Principaux composants	Picrocrocine	Safranal	Crocine
Teneur en eau et les composés volatils Hr(%)	5,27		
Longueur d'onde (nm)	258	324	440
Teneur en composants principales ($E^{1\%}_{1cm}$)	76	53,41	175,87

Selon le tableau 1, l'échantillon de safran analysé répond aux spécifications ISO pour la catégorie II concernant l'humidité et les principales caractéristiques spectrales.

Comme le montre le tableau 7, la teneur en humidité est inférieure à 12% et 10% est le maximum fixé par l'ISO pour les stigmates de safran, et pour les principaux composants; la

teneur en picrocrocine $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (258 nm) est égale à 76 supérieure à 70, c'est-à-dire qu'elle représente la catégorie I, la teneur en safranale $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (324 nm) est 53.41 au-dessus de la gamme de la norme ISO (20-50), la teneur en crocine $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (440 nm) est égale à 175,87 ; Plus de 170 (norme ISO).

A noter que les longueurs d'onde de la picrocrocine et du safranal sont respectivement égales à 258 et 324 nm et ne sont pas les mêmes longueurs d'onde spécifiées par ISO 3632 qui donne respectivement; 257 et 330 nm. Par conséquent, bien que la valeur de la picrocrocine représente la première catégorie, et que la valeur du safranal soit supérieure à la gamme. Selon la norme ISO 3632, le safran est classé par son contenu de la crocine qui correspond à la deuxième catégorie.

La méthode de mesure spectrophotométrique d'extraits aqueux de safran est inappropriée pour quantifier le safranal. Les cis crocines absorbent à la même longueur d'onde (323 nm) que le safranal et ce dernier étant peu soluble dans l'eau (molécule apolaire), seule une partie de ce composé est quantifiée par cette technique [17].

La classification de la norme ISO 3632 semble insuffisante car elle est non efficace quant à l'évaluation du pouvoir colorant du safran et les variations de la picrocrocine et du safranal n'ont aucun impact sur la catégorie finale du safran [17].

Conclusion

générale

Le présent travail nous a permis de doser les phénols totaux, les flavonoïdes dans les extraits hydrométhanoliques, et hydroacétoniques des différentes organes de safran local (les bulbes, tuniques, sparthes, étamines, et les pétales), et d'évaluer leurs activités antiradicalaires par le test DPPH, et la détermination de la qualité d'épice, conformément à la norme ISO 3632.

Les résultats ont montré que les meilleurs teneurs en phénols totaux ont été remarquées dans les extraits hydrométhanolique et hydroacétonique de sparthes respectivement. Les valeurs des quantités sont égales à 182,19 et 137,50 mg EAG/100g de matière sèche.

Les teneurs en flavonoïdes dans les extraits hydrométhanolique de pétales et hydroacétonique d'étamines étaient importantes avec des quantités égales de à 146,73 et 130,85mg EQ/100g de matière sèche.

Les faibles teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes ont été enregistrées dans les échantillons de bulbes (24,76 ; 20,84 mg EAG/100g) et de tuniques (9,17 ; 8,64 mg EQ/100g) respectivement, quel que soit le solvant utilisé pour l'extraction.

L'activité antiradicalaire, a été évaluée par un seul test, la capacité de piégeage des radicaux libres du DPPH[•]. Dans ce test, les extraits de sparthes ont montré leurs puissantes efficacités à piéger le radical, avec des valeurs de VCEAC de 3,402 et 2,872 $\mu\text{M/g}$ de matière sèche dans les extraits d'hydrométhanolique et d'hydroacétoniques respectivement. En revanche, les activités antiradicalaires des extraits de bulbes étaient faibles.

La comparaison de l'activité antioxydante de nos extraits avec l'acide ascorbique, montre que les extraits bruts hydroacétonique et hydrométhanolique des tuniques sont les plus antiradicalaires par rapport aux autres, ils sont presque 8 et 9 fois moins efficaces que l'acide ascorbique respectivement.

En tenant compte que les extraits renferment que des composés phénoliques, la majorité des échantillons montrent des activités antiradicalaires comparables avec l'acide ascorbique et par fois sont deux fois plus puissantes (tuniques et des bulbes).

D'après les résultats obtenus dans cette étude, on peut dire que les déchets de safran contiennent des composés phénoliques et une forte activité antiradicalaire.

L'étude de la teneur en humidité et des principaux composants des stigmates permet une évaluation générale de la qualité aromatique, du goût et de la couleur du safran, selon la norme ISO 3632, le safran est classé dans la deuxième catégorie; sa teneur en crocine égale à 175,87.

La présente étude est préliminaire et contribue à une meilleure connaissance des ressources en safran dans une substance d'importance biologique, en particulier les composés phénoliques, et assure le contrôle de la qualité du safran et la traçabilité des produits alimentaires, ce qui est une tâche importante pour protéger la santé des consommateurs.

Les résultats sont très intéressants et encourageants, ce qui nous oblige à recommander l'intérêt pour la culture du safran dans un cadre large et organisé afin d'utiliser des stigmates pour ses effets thérapeutiques et d'utiliser les sous-produits (déchets) dans l'industrie alimentaire comme antioxydants.

En perspective, il est intéressant d'utiliser d'autres techniques et solvants pour extraire les composés phénoliques, et d'évaluer l'activité antioxydante de différents organes du safran par d'autres méthodes de laboratoire, FRAP (paramètres antioxydants de réduction des ions ferriques), ORAC (capacité d'absorption des radicaux oxygène) et ABTS (sel d'ammonium de Acide 2,2'-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6sulfonique), en plus d'évaluer l'activité antioxydante des stigmates et des feuilles, car nous ne l'avons pas étudié. Étant donné que l'ISO 3632 n'est pas efficace pour déterminer la qualité de notre échantillon de safran, la meilleure méthode consiste à analyser les principaux composés du safran au moyen d'une chromatographie liquide haute performance. Plus d'échantillons de stigmates devraient être collectés dans toute l'Algérie, afin de mieux comprendre l'impact des différences régionales telles que les facteurs climatiques, la température, l'altitude et l'irrigation sur la qualité du safran, afin de valoriser notre production pour un classement mondial probable.

Références

1. Winterhalter, P. and M. Straubinger, Saffron—renewed interest in an ancient spice. *Food Reviews International*, 2000. **16**(1): p. 39-59.
2. Chahine, N., Effet protecteur du safran contre la cardiotoxicité de la doxorubicine en condition ischémique, 2014, Reims.
3. www.behinexir.com
4. Khan, M., et al., Saffron, in *Medicinal Plants of South Asia* 2020, Elsevier. p. 587-600.
5. Mykhailenko, O., et al., Standard operating procedure of Ukrainian Saffron Cultivation According with Good Agricultural and Collection Practices to assure quality and traceability. *Industrial Crops and Products*, 2020. **151**: p. 112376.
6. www.statista.com
7. Bengouga, K., et al., The Saffron (*Crocus sativus* L.) Cultivation Introduction in Mountainous Oases of Algeria. *Acta Horticulturae et Regioteecturae*, 2020. **23**(1): p. 8-11.
8. Pitsikas, N., Constituents of saffron (*Crocus sativus* L.) as potential candidates for the treatment of anxiety disorders and schizophrenia. *Molecules*, 2016. **21**(3): p. 303.
9. Melnyk, J.P., S. Wang, and M.F. Marcone, Chemical and biological properties of the world's most expensive spice: Saffron. *Food research international*, 2010. **43**(8): p. 1981-1989.
10. Lahmass, I., et al., Determination of antioxidant properties of six by-products of *crocus sativus* l.(saffron) plant products. *Waste and Biomass Valorization*, 2018. **9**(8): p. 1349-1357.
11. Yagoub, A., Sedki, A., Evaluation de l'activité antioxydante des déchets de l'arachide (*Arachis hypogaea* L.), 2018.
12. Dieng, M., et al., Dosage des polyphénols et activité anti-oxydante de feuilles et d'inflorescences mâles de *Borassus aethiopum*, Mart.(Arecaceae). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 2015. **9**(2): p. 1067-1071.
13. Ribéreau-Gayon, J., et al., *Traité d'oenologie: Sciences et techniques du vin*. 1972.
14. Bozin, B., et al., Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae). *Food chemistry*, 2008. **111**(4): p. 925-929.
15. Maisuthisakul, P., M. Suttajit, and R. Pongsawatmanit, Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. *Food chemistry*, 2007. **100**(4): p. 1409-1418.

16. da Silva Pinto, M., F.M. Lajolo, and M.I. Genovese, Bioactive compounds and quantification of total ellagic acid in strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.). *Food chemistry*, 2008. **107**(4): p. 1629-1635.
17. Bergoin, M., Application du concept de raffinage végétal au safran du Quercy (*Crocus sativus*) pour la valorisation intégrée des potentiels aromatiques et colorants, 2005.
18. Lahmass, I., et al., The waste of saffron crop, a cheap source of bioactive compounds. *Journal of Functional Foods*, 2017. **35**: p. 341-351.

الملخص :

تم تقدير كمية المركبات الفينولية وتقييم الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلصات الميثانول والأستون المائية من البصيلات و القشور و الساق و البتلات و الأسدية للزعفران. أظهرت النتائج أن مستخلصات الساق تحتوي على أعلى كميات من إجمالي الفينولات (182.19 مغ مكافئ حمض الغاليك/100غ). بينما تم تسجيل أكبر كمية من مركبات الفلافونويد في المستخلص الميثانولي للبتلات (146.73 مغ مكافئ الكرسيتين/100غ) ، أظهر اختبار DPPH لنشاط الجذور الحرة أن مستخلصات الساق تحتوي على نشاط مضاد للأكسدة عالي. تم التعبير عن نشاط مضادات الأكسدة بالمعامل VCEAC والذي تتراوح قيمته بين 0.62 و 3.40 ميكرومول/غ من المادة الجافة. من بين جميع المستخلصات المدروسة أظهر المستخلص الميثانولي للقشور أفضل نشاط مضاد للجذور الحرة. باعتبار أن مكونات المستخلصات هي مركبات فينولية فقط، سجلت أغلب العينات نشاط مضادا للجذور الحرة مكافئا لحمض الاسكوربيك. صنفت مياسم الزعفران وفقاً لمعيار ISO 3632 ضمن الفئة الثانية. تظهر النتائج أن المستخلصات من بقايا الزعفران هي مصدر غني بالمركبات الفينولية الطبيعية و بالتالي يوصى باستخدامها في الصناعات الغذائية كمضادات للأكسدة و كذا استخدام المياسم في المجال الصيدلاني.

الكلمات المفتاحية:الزعفران ،المستخلصات الفينولية ،النشاط المضاد للجذور الحرة ،مراقبة الجودة.

Résumé :

Le contenu en composés phénoliques et l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits hydrométhanoliques et hydroacétoniques des bulbes, des tuniques, des sparthes, des pétales et des étamines du safran ont été investigués. Les résultats montrent que les extraits des sparthes renferment les quantités les plus élevées en phénols totaux (182,19 mgEAG/100g). Alors que la plus grande quantité de flavonoïdes a été enregistrée dans l'extrait hydrométhanolique de pétales (146,73 mgEQ/100g). Le test DPPH de l'activité antiradicalaire montre que les extraits des sparthes possèdent une grande activité antioxydante. L'activité antiradicalaire est exprimée en VCEAC, dont sa valeur varie entre 0,62 et 3,40 µM/g de matière sèche. Parmi tous les extraits étudiés, l'extrait hydrométhanolique de tuniques a montré la meilleure activité antiradicalaire. Supposons que les composés phénoliques sont les seuls constituants des extraits, la majorité des échantillons ont enregistrés une activité antiradicalaire équivalente à l'acide ascorbique. Les stigmates du safran ont été classés selon la norme ISO 3632 en catégorie II. Les résultats montrent que les extraits des déchets du safran sont une source riche en composés phénoliques naturels, ce qui recommande leurs utilisations dans l'industrie agro-alimentaire comme antioxydant, ainsi d'utiliser les stigmates en raison de leurs effets thérapeutiques.

Mots clés : Safran, composés phénoliques, activité antiradicalaire, contrôle de qualité.

Abstract:

The content of phenolic compounds and the evaluation of the antioxidant activity of hydromethanolic and hydroacetic extracts from the bulbs, tunics, sparths, petals and stamens of saffron were investigated. The results show that the extracts of the sparths contain the highest amounts of total phenols (182.19 mgEAG / 100g). While the greatest amount of flavonoids was recorded in the hydromethanolic extract of petals (146.73 mgEQ / 100g), the DPPH test for free radical activity shows that the extracts of the sparths have a high antioxidant activity. The antioxidant activity is expressed in VCEAC, the value of which varies between 0.62 and 3.40 µM/g of dry matter. Among all the extracts studied, the hydromethanolic extract of tunics showed the best anti-free radical activity. Suppose that phenolic compounds are the only constituents of the extracts, the majority of samples recorded anti-free radical activity equivalent to ascorbic acid. The saffron stigmas have been classified according to ISO 3632 in category II. The results show that the extracts from the waste of saffron are a rich source of natural phenolic compounds, which recommends their uses in the food industry as an antioxidant, as well as to use the stigmas because of their therapeutic effects.

Keywords: Saffron, phenolic compounds, anti-free radical activity, quality control.