

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE ABOU BAKR BELKAID-TLEMCEEN  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA  
VIE, DES SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



*Laboratoire de physiologie, physiopathologie et Biochimie de la nutrition*



*Mémoire pour l'obtention du diplôme de master en biologie  
Option : Alimentation et nutrition*

**THEME**

**Dosage des polyphénols de la fleur de *crocus*  
*sativus L.***

Présenté par : M<sup>elle</sup> BENMOSTEFA IHSEN

M<sup>me</sup> GUELLIL ZAKIA

Soutenu le : 21 / 06 / 2017

devant le jury suivant:

Présidente : Pr MERZOUK H.      Professeur, Université de Tlemcen.

Promotrice : Dr LOUKIDI B.      MCA, Université Tlemcen.

Examineur : Dr AZZI R.      MCA, Université de Tlemcen

Année Universitaire : 2016/2017.

# REMERCIEMENTS

*Nous remercions **le Dieu le tout puissant** pour nous avoir donné le courage et la volonté pour achever ce modeste travail.*

*Nous remercions chaleureusement **Mme Loukidi. B** Maître de conférences à l'université de Tlemcen notre encadreur, qui a guidé judicieusement nos recherches. Nous gardons en mémoire ses qualités d'encadreur et ses conseils bienveillants. Nous tenons à lui exprimer notre profonde reconnaissance et gratitude. Nous vous remercions pour nous avoir donné la chance de travailler avec vous sur un sujet aussi passionnant, d'être toujours présente et prête à aider vos étudiants, d'être rigoureuse et enthousiaste.*

*Nous exprimons toute notre reconnaissance à **Mme Merzouk H**, professeur à l'université de Tlemcen de nous avoir fait l'honneur de présider le jury ce travail. Nous la remercions également pour sa compréhension. Trouvez ici l'expression de nos sincères remerciements.*

*Nous remercions également **Mr AZZI R**, Maître de conférences à l'université de Tlemcen, de l'intérêt qu'il a bien voulu porter à ce travail et l'aide précieuse qu'il nous a prodiguée et aussi d'avoir accepté de faire partie du jury de ce travail. Qu'il soit assuré de notre profonde gratitude.*

*Un grand merci à **Mr Chikhi issA** (propriétaire de la safranière de Ain Fezza) et **Mr Bouchenak khelladi Abdelghani**, pour nous avoir mis à notre disposition le safran et pour leur générosité.*

*Enfin, nous tenons à remercier vivement tous les enseignants de la faculté des Sciences de la nature et de la vie, de la terre et de l'univers qui ont contribué à notre formation.*

# DEDICACES

*Je m'incline devant Dieu tout puissant qui m'a  
ouvert la  
porte du savoir et m'a aidé pour réaliser ce modeste  
travail que je dédie :*

*A mes chers parents pour leur endurance et leurs  
sacrifices sans limites, avec tant d'Amour et  
D'affection, que dieu les protège.*

*A mes chers frères «Mohemd et Abd el nour ».*

*A Tous mes proches.*

*A mes amis «Zakia ; Meriem ».*

*A Mr Chikhí issa à qui nous a fourni la matière  
essentielle de notre travail qui est la fleur du  
safran*

*A Tous mes enseignants surtout mon encadreur Mme  
Loukidi qui m'a dirigé dans ce labeur.*

*Ainsi tous ceux qui m'ont aidé dans la réalisation de  
ce mémoire.*

Ihsen

# DEDICACES

*Je m'incline devant Dieu tout puissant qui m'a ouvert la  
Porte du savoir et m'a aidé pour réaliser ce modeste  
Travail que je dédie :*

*A mes chers parents pour leur endurance et leurs  
Sacrifices sans limites, avec tant d'Amour et  
D'affection, que dieu les protège.*

*A mon mari « Karim ».*

*A mes chers frères « Salih et Ilyes ».*

*A ma chère sœur « Sarah ».*

*A mon neveu « Sidi mohamed » et ma nièce « Nihel ».*

*A ma grande mère et ma tante « Amina ».*

*En reconnaissance de leur affection toujours constante ;*

*A mes beaux-parents, mes beaux-frères « Bachir et Oussama »  
, et mes belles sœurs « Saliha et Fatima »*

*A Tous mes proches.*

*A mes amis « Ihsen, Afef ».*

*A Mr Chikhí issa à qui nous a fourni la matière essentielle de notre travail qui  
est la fleur du safran*

*A Tous mes enseignants surtout mon encadreur Mme Loukidí qui m'a dirigé  
dans ce labeur.*

*Ainsi tous ceux qui m'ont aidé dans la réalisation de ce mémoire.*

*Zakia*

# SOMMAIRE

## Table des matières

Liste des abréviations .....	7
Liste des tableaux .....	7
Liste des figures .....	8
Introduction générale .....	10
Synthèse bibliographique .....	11
I.1 Historique .....	12
I.2 Caractère botanique .....	12
I.3 Description de la plante .....	13
I.4 Distribution géographique.....	15
I.5 La culture de safran.....	15
I.6 Récolte et rendement du safran.....	16
I.7 .Composition chimique du safran.....	18
1) La crocine.....	18
2) La picrocrocine.....	18
3) Le safranal.....	19
I. 8. Les usages du safran.....	21
I.8.1 safran en thérapeutique.....	21
Anti cancer et activité antitumorale.....	21
Activité antitussive.....	22
Activité anticonvulsivante.....	22
Stress oxydatif.....	22
Effets antinociceptifs et anti-inflammatoires .....	22
Activité anxiolytique.....	22
Pression sanguine.....	23
Effets sur le flux sanguin oculaire et la fonction rétinienne.....	23
Effet sur le comportement d'apprentissage et la potentialisation à long Terme.....	23
Anti Alzheimer.....	23
I.8.2 Autres utilisation.....	23
Le safran comme teinture.....	23
Le safran comme parfum.....	24

<b>Safran en nourriture.....</b>	<b>24</b>
<b>I.8.3 Côté cuisine.....</b>	<b>24</b>
<b>II. Radicaux libres et antioxydants.....</b>	<b>25</b>
<b>II. 1. Généralités.....</b>	<b>25</b>
<b>II. 2. Les radicaux libres et le stress oxydatif.....</b>	<b>25</b>
<b>II. 2.1. Définition et terminologie.....</b>	<b>25</b>
<b>II. 2.2. Différents types de radicaux libres.....</b>	<b>26</b>
<b>II. 2.3. Formation des radicaux libres.....</b>	<b>26</b>
<b>II. 2.4. Rôle physiologique des radicaux libres.....</b>	<b>28</b>
<b>II. 2.5. Le stress oxydatif.....</b>	<b>28</b>
<b>II. 2.6. Conséquences du stress oxydatif.....</b>	<b>29</b>
<b>II. 3. Les systèmes de défenses : les antioxydants (AO).....</b>	<b>29</b>
<b>II .3.1. Définition.....</b>	<b>29</b>
<b>II .3.2. Différentes sources d'antioxydants .....</b>	<b>29</b>
<b>II. 3.3. Mode d'action des Antioxydants.....</b>	<b>29</b>
<b>II. 3.4. Le dispositif anti-radicalaire de protection.....</b>	<b>29</b>
<b>II. 3.5. Les réactions de défense .....</b>	<b>30</b>
<b>III. Matériel et Méthode.....</b>	<b>32</b>
<b>III. 1.Matériel végétal.....</b>	<b>33</b>
<b>III. 1.1.Récolte et préparation.....</b>	<b>33</b>
<b>III. 2. Préparation des extraits.....</b>	<b>33</b>
<b>➤ Infusion en milieu hydroalcoolique .....</b>	<b>33</b>
<b>➤ Décoction en milieu hydroalcoolique.....</b>	<b>34</b>
<b>➤ Macération en milieu hydroalcoolique.....</b>	<b>34</b>
<b>III. 2.2. Rendement des extraits d'Crocus sativus L.....</b>	<b>34</b>
<b>III. 3.Dosage des composés phénoliques.....</b>	<b>34</b>
<b>III. 3.1. Dosage des polyphénols totaux.....</b>	<b>34</b>
<b>III 3.2. Dosages des flavonoïdes.....</b>	<b>34</b>
<b>III 3.3. Dosages des tanins condensés.....</b>	<b>35</b>
<b>III. 4.Evaluation de l'activité antiradicalaire (piégeage du radical libre DPPH) Principe de la méthode DPPH.....</b>	<b>35</b>
<b>Résultats et interprétations.....</b>	<b>37</b>
<b>.1.Etude phytochimiques.....</b>	<b>38</b>
<b>.1.1 Rendement d'extraction.....</b>	<b>38</b>

.1.1 Rendement d'extraction.....	38
.1. 2Test phytochimiques.....	38
.2.Dosage des composés phénoliques.....	38
.2 .1.Dosage des polyphenols totaux.....	38
.2.2. Dosage des flavonoïdes.....	39
.2.3Dosage des tanins condensés.....	41
.3.Etude de l'activité antioxydante.....	42
Discussion.....	46
Conclusion	
Référence bibliographique	

### **Liste des abréviations**

HPLC	High-Performance Liquid Chromatography
AND	Acide désoxyribonucléique
C. sativus	Crocus sativus
RLO	Radicaux libres de l'oxygène
AO	Antioxydants
PMN	Polymorphonucléaires
SOD	Superoxyde dismutase
GSH-Px	Glutathion peroxydase
UV/VIS	Radiation ultraviolette/ Visible
DPPH	Diphénylpicrylhydrazyl
V	Volume

### **Liste des tableaux**

Tableau 01 : aspect, rendement en extrait sec et solvant de solubilité des différentes modes d'extraction.

Tableau 02 : Les valeurs  $IC_{50}$  des extraits : infusion, décoction, macération (fleur et stigate) et l'acide ascorbique.



## Liste des figures

Figure 01 : une page du papyrus d'Ebers

Figure 02 : aspect général de *Crocus sativus L*

Figure 03 : Les étapes de la culture du safran: récolte manuelle de la fleur, émondage (récupération des stigmates), et séchage des stigmates

Figure 04 : Structure chimique de la crocine

Figure 05 : Structure chimique de la picrocrocine.

Figure 06 : Structure chimique du safranal

Figure 07 : Formation de la crocétine et de la picrocrocine à partir de la zéaxantine

Figure 08 : Radicaux libres : métabolites dérivés de l'oxygène

Figure 09 : Production mitochondriale et prise en charge de l'anion superoxyde

Figure 10 : Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés

Figure 11 : Antioxydants neutralisant les RLO

Figure 12: Stratégies de conception de systèmes AO susceptibles de prévenir la formation des RLO ou de permettre leur destruction

Figure 13 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols

Figure 14 : La teneur en polyphénols totaux dans les trois extraits obtenus par infusion, macération et décoction

Figure 15 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes.

Figure 16 : La teneur en flavonoïdes totaux

Figure 17 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins

Figure 18 : la teneur en tanins condensés

Figure 19 : pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations en acide ascorbique

Figure 20 : pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'extrait de stigmate obtenu par infusion

Figure 21 : pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'extrait de fleur obtenu par infusion

Figure 22 : pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'extrait de stigmate obtenu par macération

Figure 23 : pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'extrait de fleur obtenu par macération

Figure 24 : pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'extrait de stigmate obtenu par décoction

Figure 25 : pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'extrait de fleur obtenu par décoction

# **Introduction**

### Introduction :

Le safran est une épice utilisée depuis plus de 3 000 ans. *Crocus sativus L.*, plante dont est extrait le safran, 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. Il ne s'agit pas d'une plante sauvage car elle doit tout à la main de l'homme qui a su la cultiver, la choyer, et l'importer tout autour du bassin méditerranéen.

Le safran est également désigné par l'appellation « or rouge », appellation hautement justifiée puisque, vendue entre 30 et 40 euros le gramme, la précieuse épice suit le cours de l'or, étant la plus chère au monde. Son coût de revient élevé n'est pas dû à sa rareté mais à la cherté de la main d'œuvre. En effet, il faut 150 000 fleurs de crocus pour obtenir seulement 1 kg de safran sec (**Palomares, 1988**).

Cette épice historique, réputée depuis l'Antiquité pour son usage culinaire, est bien moins connue du grand public pour son emploi dans les domaines de la médecine et de la pharmacie. Pourtant, les anciens (égyptiens, perses, grecs et romains), n'ont cessé de l'utiliser, de la cultiver pour ses nombreuses vertus pharmaceutiques.

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, nous avons estimé nécessaire d'explorer les constituants de cette plante cultivée dans notre région de la wilaya de Tlemcen. Nous allons l'examiner de plus près en commençant par nous pencher sur ses origines et son histoire. Nous établirons ensuite l'intérêt botanique de la plante *Crocus sativus L.*, et de ses différentes parties pour ensuite nous attarder et nous focaliser sur les stigmates et les pétales en particulier, à l'origine même de la drogue végétale utilisée en thérapeutique (**Palomares, 1988**).

La fleur de *Crocus sativus* est délicate et fragile et dégage un parfum "miellé" lors de sa récolte. Une caractérisation des composés volatils présents dans la fleur a été effectuée en vue d'une valorisation aromatique et thérapeutique des déchets floraux (**Bergoin, 2005**). C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail de recherche sur la composition chimique des fleurs du *Crocus sativus L.* pour établir une valeur des métabolites secondaires de ces derniers.

Cette étude comporte deux parties :

-La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique, qui constitué de deux chapitre l'un sur la présentation de la plante étudiée (*Crocus sativus.L*). Et l'autre sur les métabolites secondaires.

- La seconde partie concerne la partie expérimentale pour étudier la composition pyto-chimique de la fleur du *Crocus sativus.L*. Cette approche comprend les métabolites secondaires.

Enfin nous avons terminés notre travail par une conclusion générale qui résumera l'ensemble de cette étude et présentera les perspectives qu'elle apporte concernant l'étude de a composition des fleurs du *Crocus sativus.L*.

- 1- Bergoin, M. (2005). *Application du concept de raffinage végétal au safran du Quercy (Crocus sativus) pour la valorisation intégrée des potentiels aromatiques et colorants* (Doctoral dissertation).
- 2- Palomares, C (1988). *Le safran, precieuse epice ou precieux medicament*. Thèse de doctorat. Université de Lorraine Université Mentouri de Constantine.

# **Synthèse**

# **Bibliographique**

**I.1. Historique (figure 1) :**

L'histoire du safran, épice tirée de la fleur de *Crocus sativus*, remonte à la plus haute antiquité, que ce soit au niveau de sa culture ou de son usage. Il traverse plusieurs sociétés, continents et civilisations (Algrech, 2001).

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

Il était alors considéré comme un cadeau des dieux capable de guérir les maladies et de soigner les blessures. Trafiquer le safran était un crime puni de mort. Sa réputation d'être l'épice la plus chère au monde lui a valu son surnom d'Or Rouge. Il est désormais cultivé dans plusieurs pays d'Europe dont l'Espagne, la Grèce et même la France (Abdullaev, 2002).

Le nom "safran" est dérivé du latin safranum, lui-même inspiré de l'arabe "zaafarân" dont la racine exprime une notion essentielle, la couleur jaune. Le nom de genre "Crocus" vient du grec Krokos, qui veut dire "filament", par allusion aux stigmates de la plante. Le terme "sativus", quant à lui, signifie "cultivé", car le *Crocus sativus*, par sa reproduction végétative, ne peut se multiplier sans la main de l'homme (Dupont, 2001).

Le *Crocus sativus* présente 3 stigmates par fleur qui atteignent plusieurs centimètres de long. Il est stérile et ne survit que grâce à la multiplication de ses bulbes réalisée par l'homme (Abdullaev, 2002).

Depuis plus de 3 000 ans, le safran est considéré comme une panacée, selon les médecines Ayurvédiques, mongoles, chinoises, égyptiennes, grecques et arabes. Les premiers écrits médicaux remontent au temps de l'antiquité égyptienne, vers 1550 avant J.-C. par le biais du papyrus d'Ebers. Ce traité, répertoriant plus de sept-cent substances tirées du règne végétal, en fait ainsi le socle de la pharmacopée égyptienne. Les vertus attribuées au safran y étaient déjà inventoriées notamment pour ses effets stimulants, euphorisants, digestifs et antispasmodiques (Lazérat & Souny, 2009).

**I.2. Caractère botanique :**

Le caractère botanique du *Crocus* en France a été décrit par de nombreux auteurs, (Ursat, 1913; Pierlot, 1925; Priy, 1994). Le *Crocus sativus* fait partie de la grande famille des Iridacées 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; sa classification taxonomique est la suivante (Winterhalter & Straubinger, 2000):

Division : Spermatophyte

Sous-division : Angiosperme

Classe : Monocotylédone

Sous-classe : Liliidae

Ordre : Liliales

Famille : Iridaceae

Genre : Crocus

La famille des *Iridaceae* comprend 1 800 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.

Parmi les 85 espèces appartenant au genre crocus, le safran est l'espèce la plus fascinante.

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

### **I.3-Description de la plante (figure 2):**

*Crocus sativus* est une plante inconnue à l'état sauvage qui a eu besoin de la main de l'homme pour subsister. Triploïde et stérile, il se reproduit par multiplication végétative grâce à son corme, organe de réserve ressemblant à un bulbe (Arvy & Gallouin 2003).

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 corme, 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 de une à trois fleurs par bulbe et de deux à trois bulbes par plante (Winterhalter & Straubinger, 2000).



Figure 1 : une page du papyrus d'Ebers (NLM (National Library of Médecine 2015).

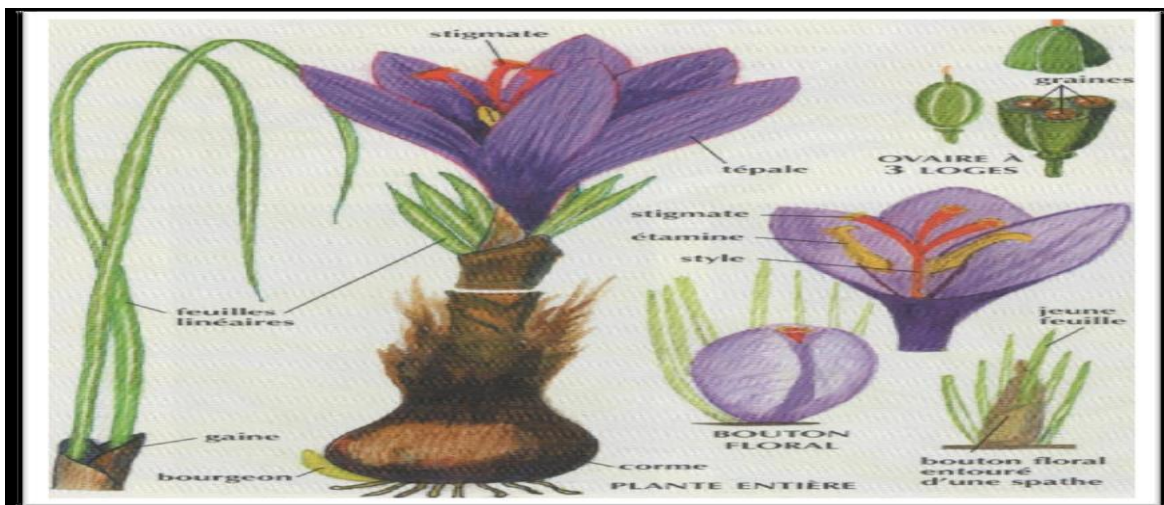


Figure 02 : aspect général de *Crocus sativus* L (Arvy M., Gallouin F. 2003)



#### **I. 4. 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**).

#### **I.5. Culture du safran :**

Le *Crocus sativus* possède une végétation inversée, c'est-à-dire que les feuilles de safran sortent de terre en septembre et la plante fleurit en octobre, puis se dessèche en mai de l'année suivante. C'est donc en automne, quand tous les autres végétaux s'endorment pour l'hiver, que le safran fleurit. Il entre en dormance au printemps et son feuillage disparaît complètement quand éclatent les bourgeons de la plupart des plantes (Douglas & Perry, 2003).

L'espèce cultivée est le *Crocus sativus* et il n'existe pas à notre connaissance de variétés sélectionnées. La qualité du matériel végétal de départ sera déterminée par le calibre du bulbe et son état sanitaire. Pour une bonne production dès la première année il faudra prendre des bulbes de gros calibres (5 à 8 cm de diamètre). En dessous les bulbes ne donneront des fleurs que les années suivantes, il s'agit alors de bulbilles.

Le lieu de culture est très important la texture du sol doit être légère, perméable, aérée, pauvre en matières minérales mais riche en matières organiques, de pH neutre, aux alentours de 6,5 - 7. Quant à l'humidité et à la température, le sol devra être frais, humide, légers et très bien drainés. Le crocus préfère les sols de nature silico-calcaire ou argilo-calcaire, fertiles et assez profonds, sain, sans fumier frais ni herbes fraîchement enfouies.

Les principaux ennemis du safran Sont l'eau en excès et un terrain imperméable. Le terrain doit être exposé sud, sud-est sans ombre d'arbres à feuilles persistantes ou de bâtiment car cette plante a besoin de lumière pour se développer.

Le safran est une plante de jours courts, pouvant supporter des conditions climatiques très sévères, adaptée aux régions à hiver froid et été chaud et sec; il peut résister à des températures inférieures à -10 °C ou supérieures à +40 °C durant plusieurs jours (Molina et al., 2005).

C'est une culture d'altitude variant entre 650 et 1200 m. *Crocus sativus* aime la chaleur et le plein soleil, il exige un climat méditerranéen continental, avec des hivers frais, des étés chauds et secs.

**I.6. Récolte et rendement du safran(figure 3) :**

La récolte exige une main-d'œuvre qualifiée et les stigmates nécessitent d'être immédiatement et délicatement prélevés, séchés, puis conservés à l'abri de l'humidité et de la lumière.

Les fleurs apparaissent 4 à 6 semaines après la plantation et la floraison s'étale sur plusieurs semaines. La fleur de crocus à safran est fragile et elle est d'une durée de vie très limitée (entre 24 et 48 heures). Elle se fane très vite sous l'action du soleil, et ses pistils perdent de leur arôme ainsi que de leur pouvoir de coloration. L'opération de ramassage des fleurs de safran est très délicate. L'ensemble de la fleur est récolté manuellement en coupant la fleur à la base de sa corolle avant son ouverture, tôt le matin avant l'arrivée des chaleurs du jour, afin d'éviter la fanaison des stigmates qui survient quelques heures après l'ouverture de la fleur, une fois celle-ci exposée aux rayons solaires. La récolte est ramassée dans des paniers rigides pour éviter l'entassement et la cassure des stigmates. Le safran récolté quand les fleurs sont entièrement ouvertes est considéré de second choix à cause de la perte de sa qualité organoleptique, une fois exposé au soleil (Kafi et al. 2002).

Après la récolte, vient l'émondage des fleurs, ou, en langage plus familier : l'épluchage, est l'action de séparer les trois stigmates des autres organes de la fleur de crocus (Ursat. 1913). L'objectif est de couper le style ni trop haut ni trop bas afin de garantir une qualité optimale. Ceci est réalisé le jour même, juste après la récolte. Selon les safraniers, cette action se fait avec les doigts, une paire de ciseaux ou bien une pince à épiler. Les précautions prises lors de la récupération des stigmates conditionnent la qualité du produit. Une fois les stigmates isolés, ils sont séchés dans l'ombre à l'air libre, le safran perd 4/5 de son eau. Le poids frais moyen des stigmates de 100 fleurs est près de 3g et le poids sec est près de 600 mg. En effet, il faut cueillir environ 150 000 fleurs de *Crocus sativus* pour récolter un kilo de stigmates frais; et près de cinq kilos de stigmates frais pour faire un kilo de safran sec utilisable en tant qu'épice (Negbi, 1999).

En fin conservation et conditionnement, le safran étant très hygroscopique, il doit être conservé après séchage dans un endroit sec pour éviter l'humidité qui lui fait perdre son arôme et le noircit. L'idéal est de mettre les stigmates dans un pot en verre fermé par un bouchon de liège afin d'empêcher l'oxygène de passer et ainsi d'éviter une oxydation (Ursat .1913).



**Figure 3 : Les étapes de la culture du safran: récolte manuelle de la fleur, émondage (récupération des stigmates), et séchage des stigmates ([www.kashmirkesarkingdom.com](http://www.kashmirkesarkingdom.com)) (Plombières, 2013) .**

---

## I.7.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, gentibiose, xylose et ramones.
- ✓ Eau (9 à 14%)
- ✓ Cellulose (4 à 7%)
- ✓ Polypeptides (11 à 13 %)
- ✓ Lipides (3 à 8 %) : campesterol, stigmastérol et  $\beta$ -sitostérol.
- ✓ Matières minérales (1 à 1.5 %)
- ✓ Vitamines : B2 ou riboflavine (56,4 à 138  $\mu\text{g/g}$ ) et B1 ou thiamine (4,0 à 0,9  $\mu\text{g/g}$ ).
- ✓ Divers, non azotés (40%)
- ✓ Acides gras : acides palmitique, stéarique, oléique, et linoléique.
- ✓ Caroténoïdes :  $\alpha$ ,  $\beta$ , et  $\gamma$ -crocétine, crocine (10%), picrocrocine (4%),  $\alpha$  et  $\beta$ -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

**1) La crocine** (C<sub>44</sub> H<sub>64</sub> O<sub>24</sub>) : est un diester formé par la crocétine liée à chaque extrémité par un diholoside, le gentiobiose. Elle appartient à la famille des C<sub>20</sub>-caroténoïdes, rouge et soluble dans l'eau. C'est le métabolite biologiquement actif du safran et responsable de sa couleur. En effet, l'application principale du safran concernant ses propriétés antioxydantes et antitumorales, proviennent essentiellement de la crocine (Gutheil et al. 2012) (figure 4).

**2) La picrocrocine** (C<sub>16</sub> H<sub>26</sub> O<sub>7</sub>) : est un glycoside inodore et incolore, responsable de la saveur amère du safran. Le clivage des doubles liaisons adjacentes aux cycles de la zéaxanthine

entraîne la formation d'une molécule de crocétine et de deux molécules de picrocrocine (Schmidt et al., 2007). Elle constitue également le précurseur du safranal (Tarantilis et al., 1995). (Figure 05)

**3) Le safranal** (2, 6,6-triméthylcyclohexa-1,3- dienal) : est le composé majoritaire de la fraction volatile du safran (figure 06). C'est une molécule organique se présentant sous forme d'huile essentielle volatile. Il est peu ou pas présent dans les stigmates frais, sa concentration dépend des conditions de séchage et de conservation du safran. Le safranal est un produit d'hydrolyse de la picrocrocine. L'humidité dégrade la crocine et la picrocrocine, mais permet le développement de l'arôme du safran, le safranal. Les mécanismes de développement de l'arôme lors du séchage et les cinétiques de dégradation des métabolites secondaires lors du stockage du safran sont complexes et peu connus (**Rodel et Petrzika, 1991**).

Le safran sec est sensible aux fluctuations du pH et sa composition chimique se dégrade rapidement en présence de lumière et à l'air libre. À l'humidité, le safran perd son arôme et noircit. Une auto-oxydation dans le temps de la crocine et de la picrocrocine est observée pour des températures supérieures à 25 °C et à des taux d'humidité relative supérieurs à 23 %. Cette dégradation est expliquée par la fonction antioxydante protectrice des caroténoïdes. En effet, ils génèrent de l'oxygène sous forme singulet, initiant ainsi le processus d'auto-oxydation. C'est pourquoi, il doit être conditionné dans un récipient hermétique, et gardé dans un endroit sec et frais (**Tsimidou et Biliaderis, 1997**).

### **I.8.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 & Bordia, 1998 ; Chryssanthi et al., 2011**) :

#### **I.8.1 safran en thérapeutique :**

Diverses études pharmacologiques ont été décrites : le safran et ses constituants (Crocine, crocétine et safranale) 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**):

- ✚ Anticancer et activité antitumorale ;

les extraits de safran ont un effet antitumoral in vivo et in vitro, (Abdullaev & Frenkel, 1992; Escribano et al., 1996, Tavakkol-Afshari et al., 2008; Amin et al., 2011) contre plusieurs types de cancer dont: le cancer colorectal (Aung et al., 2007), le cancer hépatocellulaire (Amin et al., 2011) et le cancer de la prostate (D'Alessandro et al., 2013). Dans les extraits de safran, les caroténoïdes sont les principes actifs. Les mécanismes anticancéreux du safran ne sont pas encore bien élucidés mais plusieurs activités ont été proposés dont la promotion de l'apoptose, la réduction de la prolifération et de la synthèse d'ADN des cellules tumorales, la diminution de l'inflammation, la réduction du stress oxydatif et l'augmentation des enzymes anti oxydantes. Les extraits de safran s'avèrent non toxiques sur les cellules saines, mais sélectivement cytotoxiques pour les cellules cancéreuses (Abdullaev, 2001). 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 (Abdullaev et al., 2003). 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 (Nair et al., 1991).



#### ✚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**).

#### ✚Activité anticonvulsivante

Les activités anticonvulsivantes des constituants de la stigmatine de *C. sativus*, safranal et crocin, ont été évaluées chez des souris utilisant des convulsions induites par le pentylènetétrazole (PTZ) chez la souris. Le Safranal (0,15 et 0,35 ml / kg de poids corporel, i.p.) A réduit la durée de la crise, a retardé l'apparition des convulsions toniques et des souris protégées de la mort. Crocin (22 mg / kg, i.p.) n'a pas montré d'activité anticonvulsivante (**Rahimi, 2015**):

#### ✚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 (**Serrano-Díaz et al., 2012; Esmaeili et al., 2011; Karimi et al., 2010**). 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 (**Hosseinzadeh et al., 2009; Joukar et al., 2013; Qi et al., 2013**) et dans le cas des maladies cardiovasculaires (**Kamalipour & Akhondzadeh, 2011; Sachdeva et al., 2012**).

#### ✚Effets antinociceptifs et anti-inflammatoires :

Le stigmatine 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**)

#### ✚Activité anxiolytique :

Cette étude a été conçue pour enquêter sur les rongeurs, que les crocines possèdent ou non des propriétés anxiolytiques. Pour ce but, le test light \ dark a été sélectionné. L'un ou l'autre des crocins, à une dose qui n'a pas influencé l'activité motrice des animaux (50 mg / kg) ou le diazépam (1,5 mg / kg), a augmenté la latence pour entrer dans le compartiment sombre et prolongé le temps passé dans la chambre éclairée chez les rats. À l'inverse, des doses plus faibles de crocins (15 à 30 mg / kg) n'ont pas modifié de façon substantielle le comportement

Des animaux. Les résultats actuels indiquent que le traitement avec ces constituants actifs de *C. sativus* L. induit des effets anxiolytiques chez le rat (**Srivastava et al., 2010**)

#### ✚Pression sanguine :

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

#### ✚Effets sur le flux sanguin oculaire et la fonction rétinienne :

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

#### ✚Effet sur le comportement d'apprentissage et la potentialisation à long terme :

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

#### ✚Anti Alzheimer :

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

### I.8.2. Autres utilisations :

#### ✚Le safran comme teinture

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



#### ✚ Le safran comme parfum :

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

#### ✚ 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)**

#### ✚ 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 **(Hill, 2004)**

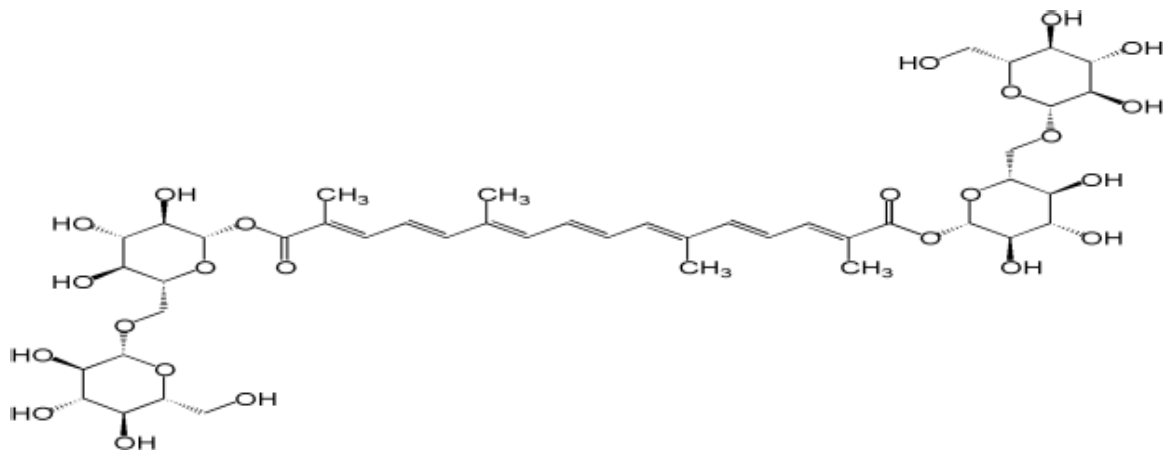


Figure 04. Structure chimique de la crocine

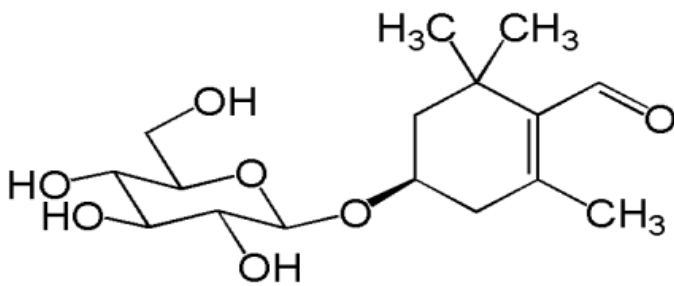


Figure 05 : Structure chimique de la picrocrocine.

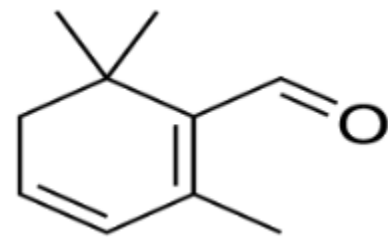


Figure 06 : Structure chimique du safranal

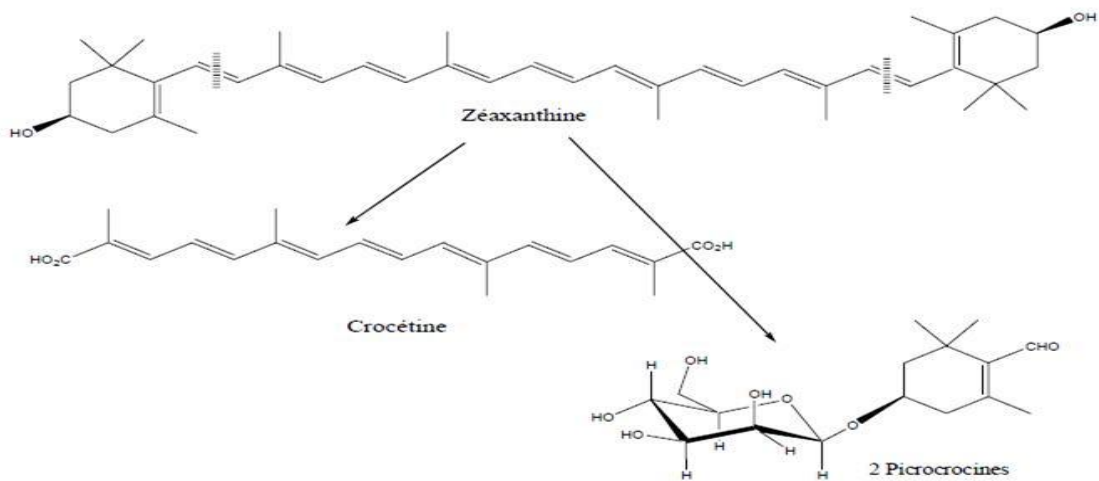


Figure 07 : Formation de la crocétine et de la picrocrocine à partir de la zéaxantine

## **II. Radicaux libres et antioxydants :**

### **II.1. Généralités :**

Il y a à peu près 3 milliards d'années, l'atmosphère de notre planète était anaérobie jusqu'à l'apparition de l'algue bleue-verte. L'oxygène (O<sub>2</sub>), sous forme gazeux, apparut ainsi lors de l'avènement de la photosynthèse (Blankenship & Hartman, 1998). Ce gaz, qui est indispensable à la plupart des espèces vivantes, fournit un énorme pouvoir métabolique pour la production d'énergie. Cependant, en raison de sa conformation chimique, la molécule d'O<sub>2</sub> peut, dans certaines circonstances, s'avérer toxique. Cette toxicité est induite par des éléments réactifs, instables et pro-oxydants : les radicaux libres de l'oxygène (RLO) ou espèces réactives de l'oxygène. Dérivés pour la plupart de l'O<sub>2</sub> et produits par divers mécanismes physiologiques ; ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable. Inopportunément, ils peuvent induire des dommages oxydatifs souvent irréversibles au niveau d'un grand nombre de substrats biologiques. Afin que les RLO n'exercent pas de façon incontrôlée leurs effets délétères, l'organisme dispose d'un vaste réseau de défense constitué par les Antioxydants (AO). Dans les circonstances quotidiennes normales, des RLO sont produits en permanence en faible quantité, et cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par les AO qui sont produits d'ailleurs en fonction des radicaux générés. La balance oxydants/antioxydants est alors en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en AO ou par suite d'une surproduction de RLO, le déséquilibre observé correspond au "stress oxydatif " (Halliwell, 2013).

### **II.2. Les radicaux libres et le stress oxydatif**

#### **II.2.1. Définition et terminologie :**

Un radical libre est une espèce chimique (atome ou molécule) contenant un électron non apparié. Il s'agit d'espèces chimiques très réactives, agressives et à durée de vie très courte. Ces radicaux cherchent dans leur environnement un électron pour s'apparier en déclenchant alors une série de réactions en chaînes attaquant les structures voisines et aboutissant à des lésions cellulaires irréversibles.

De manière générale, toute réaction biochimique faisant intervenir la molécule d'oxygène est susceptible d'être à l'origine d'une production de RLO (Hamanaka & Chandel 2010; Alfadda & Sallam, 2013).

### II.2.2. Différents types de radicaux libres :

Parmi les espèces radicalaires qui se forment dans les cellules, on distingue des composés qui jouent un rôle particulier en physiologie et dénommés radicaux primaires dérivant de l'oxygène (superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ), hydroxyl ( $OH^{\bullet}$ ); monoxyde d'azote ( $NO^{\bullet}$ ). Les autres RLO, dits radicaux secondaires, se forment par réaction de radicaux primaires sur les composés de la cellule. D'autres espèces dérivées de l'oxygène dites espèces réactives de l'oxygène, comme l'oxygène singulet ( $^1O_2$ ), le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) ou le nitroperoxyde ( $ONOOH$ ), ne sont pas des RLO, mais des espèces réactives précurseurs de radicaux (Favier et al., 2003) (figure 08).

### II. 2.3. Formation des radicaux libres :

1) Le radical superoxyde  $O_2^{\bullet-}$  est formé chimiquement par l'addition d'un électron supplémentaire à la molécule d' $O_2$ . Cette réaction peut se dérouler accidentellement dans la chaîne respiratoire mitochondriale suite à la fuite d'un électron de ses transporteurs qui se lie à l' $O_2$ . Les Polymorphonucléaires (PMN) et les macrophages forment la source essentielle d' $O_2^{\bullet-}$  dans les tissus. Ce radical est considéré comme un agent antibactérien. La production se fait par l'enzyme membranaire NADPH oxydase qui catalyse la réaction d'oxydation du NADPH par le dioxygène générant ainsi l' $O_2^{\bullet-}$ . Il est un radical de faible réactivité pourtant il peut attaquer les tissus et se dismuter spontanément en milieux aqueux pour donner  $H_2O_2$  et  $^1O_2$ . Ces derniers peuvent à leur tour causer des dommages cellulaires (Winterbourn & Kettle, 2013).

2) Le peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$  peut être produit par certaines bactéries pathogènes, par les phagocytes, par la voie de la NADPH oxydase ainsi que par dismutation de l' $O_2^{\bullet-}$ . Malgré que ce soit un faible oxydant, sa capacité à produire des dommages est élevée en raison de son habileté de diffuser librement à travers les membranes. Il a été proposé que le  $H_2O_2$  puisse agir comme un signal métabolique déclenchant des événements intracellulaires pré-inflammatoires (Dröge, 2002).

3) Le radical hydroxyl  $OH^{\bullet}$  est produit par une réaction entre le  $O_2^{\bullet-}$  et le  $H_2O_2$ . C'est une procédure complexe catalysée par les ions métaux  $Fe^{2+}$  ou  $Cu^{2+}$  et résumée par l'équation appelée réaction de Haber-Weiss. Le radical hydroxyl est le plus réactif chez l'homme. Il peut attaquer la membrane cellulaire et préférentiellement l'acide arachidonique (Chen & Schopfer, 1999). L'oxygène singulet  $^1O_2$  n'est pas un vrai radical. Molécule instable capable d'oxyder d'autres molécules, elle est très réactive avec les lipides membranaires produisant les peroxydes. L'oxyde nitrique ou monoxyde d'azote peut être produit par les macrophages et par l'endothélium vasculaire. C'est l' $O_2^{\bullet-}$  qui interagit avec le  $NO^{\bullet}$  et abouti au  $ONOO^-$  qui peut endommager les molécules biologiques (Howes, 2006) (figure 09).

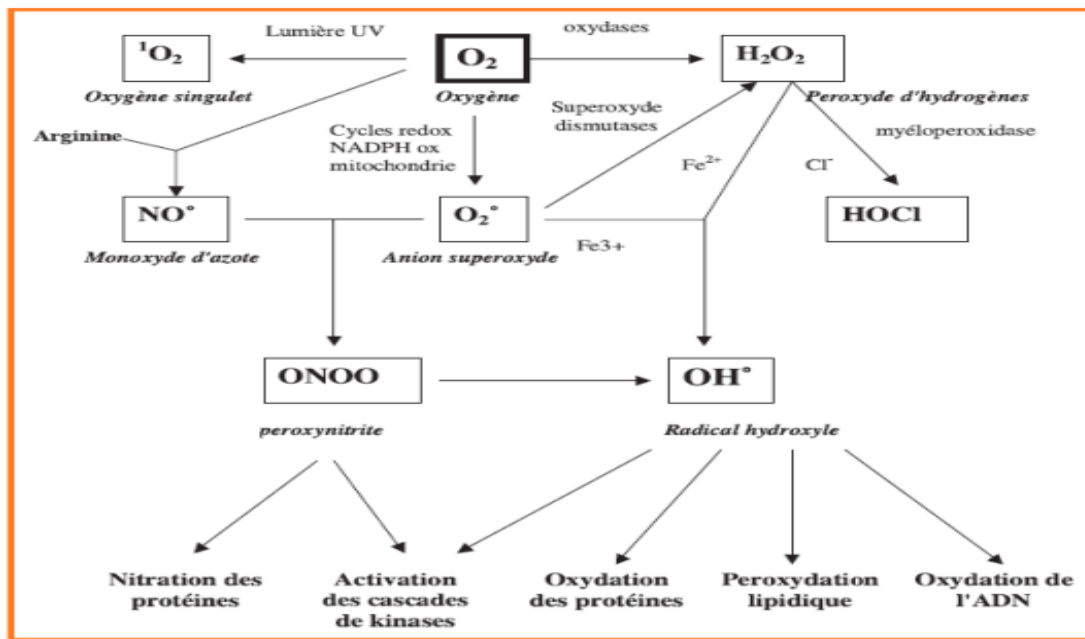


Figure 08: Radicaux libres : métabolites dérivés de l’oxygène (Favier et al., 2003).

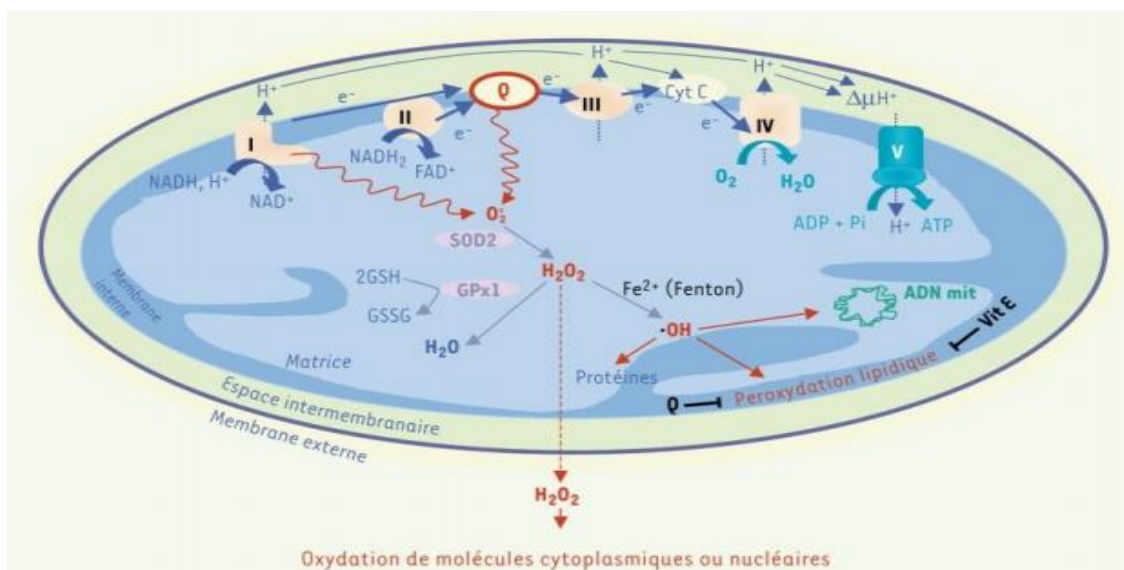


Figure 09 : Production mitochondriale et prise en charge de l’anion superoxyde (Carriere et al., 2006).

4) Parmi les sources importantes de RLO, l'oxydation des médicaments, des drogues ou des composés chimiques au niveau du cytochrome P450. Ce mécanisme est souvent incriminé pour expliquer la toxicité de l'alcool, des résidus de la fumée de cigarette, ou de nombreux médicaments.

5) Les cellules phagocytaires (PMN et macrophages) possèdent une enzyme membranaire, la NADPH oxydase spécialisée dans la fabrication du  $O_2 \bullet^-$ . Cette enzyme normalement dormante est activée lorsque la cellule phagocytaire est stimulée. La forte consommation d' $O_2$  qui en résulte est appelée "respiratory burst". Cette production de  $O_2 \bullet^-$  est à l'origine de la synthèse de molécules comme le  $H_2O_2$  ou l' $HOCl$ , indispensables à la destruction du matériel phagocyté. Cette voie est particulièrement stimulée au cours des processus inflammatoires.

#### **II.2.4. Rôle physiologique des radicaux libres :**

Le paradoxe des RLO provient du fait qu'ils constituent des espèces extrêmement dangereuses, susceptibles d'engendrer un nombre considérable de maladies, tout en étant des espèces indispensables à la vie. Ils remplissent en effet de très nombreuses fonctions utiles. Ils participent à la transduction de signaux cellulaires, à la défense immunitaire contre les agents pathogènes (phagocytose des bactéries par les macrophages), à la destruction par apoptose des cellules tumorales, au cycle cellulaire, à la régulation de la dilatation capillaire, au dysfonctionnement de certains neurones et notamment ceux de la mémoire, à la régulation des gènes, phénomène appelé contrôle redox des gènes... Les RLO pourraient être responsables de l'activation des kinases en cas de réponse à des agressions comme l'irradiation, les cytokines inflammatoires ou les carcinogènes chimiques. Ayant besoin d'une certaine quantité d'espèces réactives de l' $O_2$ , l'organisme ne cherche pas à les détruire mais à contrôler leur niveau pour éviter le stress oxydatif (Dröge, 2002)

#### **II.2.5. Le stress oxydatif :**

Les causes essentielles du stress oxydatif sont d'origine (Deshmukh et al., 2013):

- 1) Nutritionnelle : la rupture d'équilibre peut provenir d'une défaillance nutritionnelle ou de la carence en un ou plusieurs des antioxydants apportés par la nutrition comme les vitamines ou les oligo-éléments, présents en quantité limitée dans l'alimentation.
- 2) Accidentelle : la surcharge en facteurs pro-oxydants (fer, acides gras) par exemple dans le cas d'inflammation ou l'exposition à des xénobiotiques pro-oxydants...
- 3) Génétique : des anomalies génétiques peuvent être responsables d'un mauvais codage d'une protéine enzymatique antioxydante, synthétisant un antioxydant ou régénérant un antioxydant..

### **II.2.6. Conséquences du stress oxydatif :**

La production excessive de RLO provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides), mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides (figure 10).

L'organisme peut réagir contre ces composés anormaux par production d'anticorps, qui malheureusement peuvent aussi être des auto-anticorps créant une troisième vague d'attaque chimique (Therond, 2006 ; Adly, 2010; Deshmukh et al., 2013).

### **II.3. Les systèmes de défenses : les antioxydants (AO) :**

#### **II.3.1. Définition :**

Les antioxydants sont définis comme toute substance qui, présente à faible concentration par rapport au substrat oxydable, est capable de ralentir ou d'inhiber l'oxydation de ce substrat. Cette définition fonctionnelle s'applique à un grand nombre de substances, comprenant des enzymes aux propriétés catalytiques spécifiques, mais aussi de petites molécules hydro- ou liposolubles.

#### **II.3.2. Différentes sources d'antioxydants :**

Il existe deux sources de défenses antioxydantes : l'une est apportée par l'alimentation sous forme de fruits et de légumes riches en vitamine C, vitamine E, caroténoïdes, flavonoïdes... Tandis que l'autre est endogène et se compose d'enzymes (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase) ou de protéines (ferritine, transferrine, céruléoplasmine, albumine). A cela s'ajoutent quelques oligo-éléments comme le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs importants pour l'activité de certains enzymes AO (Pham-Huy et al., 2008).

#### **II.3.3. Mode d'action des Antioxydants :**

Indépendamment de leur localisation, les AO peuvent agir à deux niveaux : en prévenant la formation de RLO par inhibition directe de leur production (AO Ires) ou en épurant les RLO (AO IIres) (figure 11).

En complément de cette double ligne de défense, l'organisme est capable de réparer ou d'éliminer les molécules endommagées par l'attaque radicalaire (Obrenovich et al., 2011).

#### **II.3.4. Le dispositif anti-radicalaire de protection :**

Les AO sont classifiés selon leur mode d'action. Les AO essentiels comprennent (Obrenovich et al., 2011) (figure 12):

1) Les AO piégeurs "scavengers" : vitamine E ( $\alpha$ -tocophérol), vitamine C (acide ascorbique), provitamine A ( $\beta$ -carotène), urate, bilirubine et les substances contenant le groupe thiol.

2) Les AO préventifs : ferritine, transferrine, lactoferrine, céruloplasmine et acide ascorbique. Leur fonction est de séquestrer les métaux de transition et prévenir les réactions de Fenton (réactions d'oxydation au cours desquels le peroxyde d'hydrogène oxyde l'ion fer II aboutissant à la formation du radical hydroxyle).

3) Les enzymes antioxydantes : le système d'enzymes a pour rôle de catalyser des réactions pour neutraliser les RLO (superoxyde dismutase, catalase, et glutathion peroxydase).

### **II.3.5. Les réactions de défense**

Le système de défense dépend de la qualité et de la concentration des substances AO disponibles. Il dépend aussi de la concentration des RLO qui peuvent écraser ce système de protection s'ils sont présents en grandes quantités dans les fluides corporelles (Pham-Huy et al., 2008 ; Wahlqvist, 2013).

1) Le fer et le cuivre sous forme libre étant particulièrement promoteurs de dommages radicalaires, ces métaux sont physiologiquement séquestrés et transportés grâce à des protéines comme la ferritine, la céruloplasmine... qui agissent en tant qu'AO primaires. C'est donc indirectement que ces métaux possèdent une activité antioxydante.

2) Le superoxyde dismutase (SOD) (I) est une enzyme convertissant le superoxyde en peroxyde d'hydrogène. Ce dernier est secondairement soit dismuté en oxygène et eau grâce à la catalase (II) soit transformé en eau lors d'une réaction couplée à l'oxydation du glutathion, catalysée par la glutathion peroxydase (GSH-Px) (III). 22 La glutathion peroxydase ainsi que les différents isoformes de superoxyde dismutase sont des métallo-enzymes comprenant soit du sélénium (glutathion peroxydase) soit du manganèse (SOD mitochondriale) soit du cuivre et du zinc (SOD cytosolique).

3) Les AO liposolubles, comme la vitamine E et l'ubiquinol, sont concentrés dans les membranes cellulaires où ils sont particulièrement efficaces pour limiter la peroxydation lipidique.

4) Dans les milieux hydrosolubles, de nombreuses molécules semblent avoir un pouvoir antioxydant. C'est le cas par exemple de la vitamine C, de l'acide urique et de l'albumine. Même si les mécanismes de défense sont différents, le dispositif mis en jeu permet d'assurer une protection anti-radicalaire sur l'ensemble de l'espace cellulaire. Tous les acteurs de cette lutte ne sont pas seulement complémentaires, ils sont synergiques.



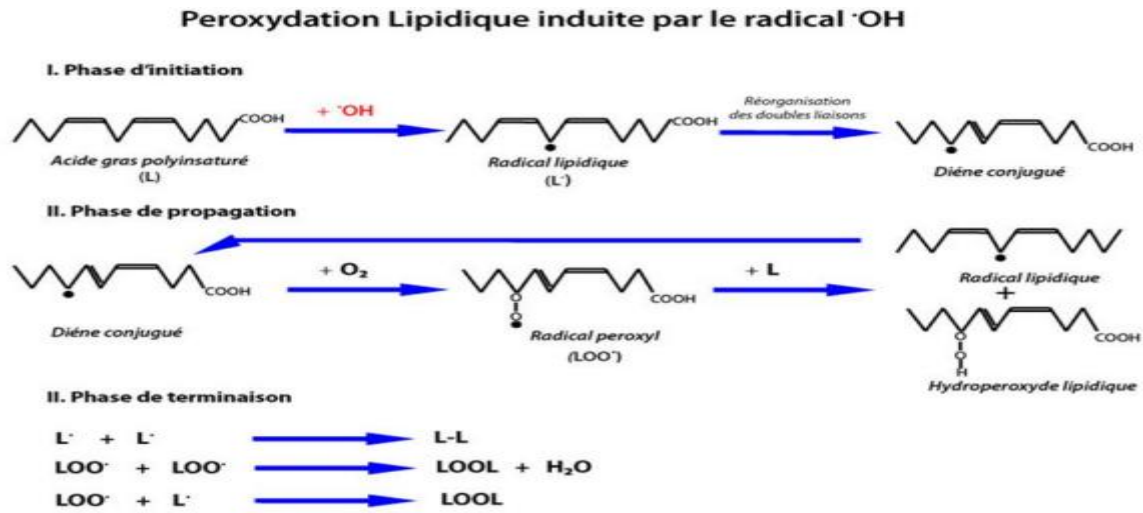


Figure 10 : Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés (Favier al., 2003).

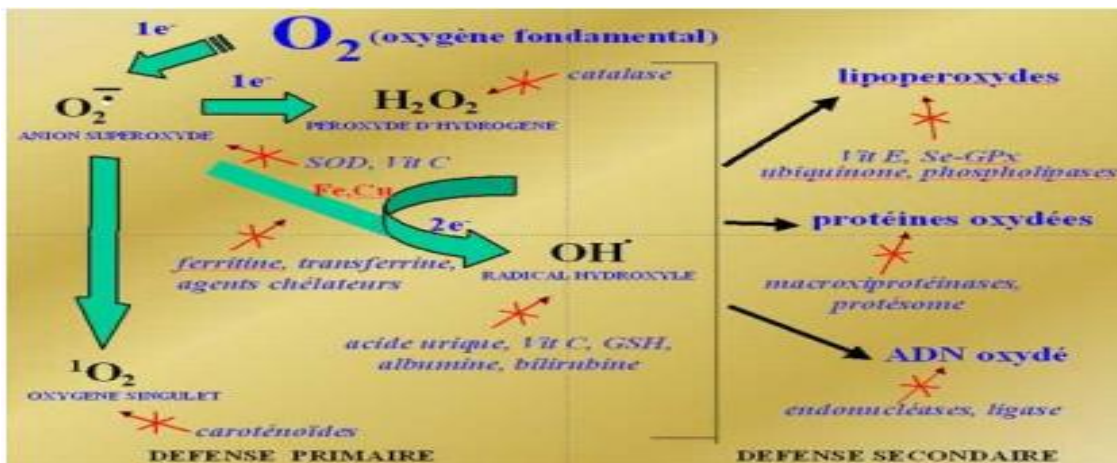


Figure 11: Antioxydants neutralisant les RLO (www.probiox.com).

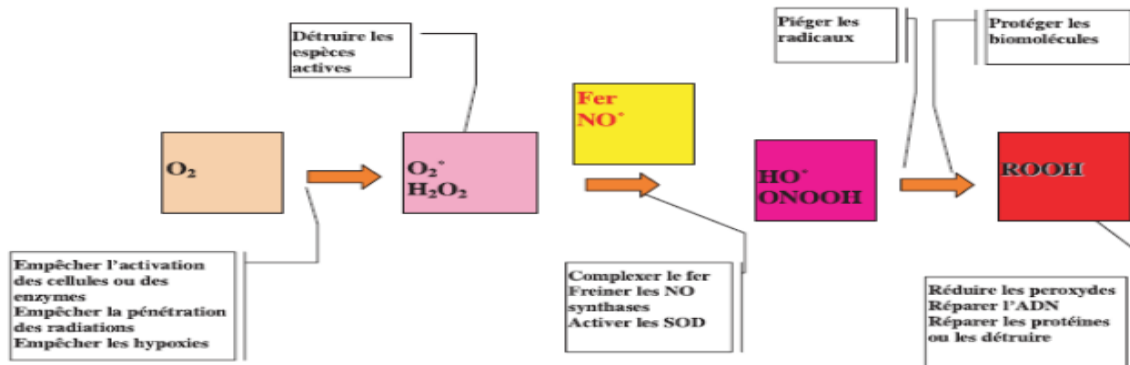


Figure 12 : Stratégies de conception de systèmes AO susceptibles de prévenir la formation des RLO ou de permettre leur destruction (Favier et al., 2013).

# **Matériels et méthodes**

**1. Protocol expérimental**

Notre étude expérimentale a été réalisée au sein du laboratoire "n°04 biochimie" du département de biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université de Tlemcen.

Ce travail a été réalisé en deux parties :

1. Préparation des différents extraits de safran a à partir des ;

- Fleurs
- Stigmates

2. Tests phytochimiques de différentes préparations de la partie aérienne (**Pétales et stigmate**) de *Crocus sativus L*

- Dosage des polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins au niveau de ces extraits de fleurs et des stigmates.
- Évaluation de l'activité antioxydante des extraits obtenus par la méthode :  
Piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrozyl (DPPH<sup>•</sup>)

**1. Matériel végétal :****1.1. Récolte et préparation :**

Notre étude porte sur l'évaluation des constituants antioxydants du *Crocus sativus L*, une plante locale de la région d'Ain Fezza, djebel zaafran, Daira de Tlemcen, Wilaya de Tlemcen, Le matériel végétal constitué des parties aériennes de la plante récoltée pendant le mois de novembre **2016**. Après séchage à une température ambiante 22°C et à l'abri de la lumière solaire (afin de préserver au maximum l'intégrité de sa composition chimique), le matériel est conservé à l'abri de la lumière et de l'humidité en vue des différents dosages.

**2. Préparation des extraits :**

L'extraction des constituants du matériel végétal a été effectuée selon trois méthodes :

- Infusion,
- Décoction,
- Macération.

**➤ Infusion en milieu hydroalcoolique :**

Verser 100 ml d'eau distillée + Méthanol (30V /70V) bouillant sur 5 g du matériel végétal séché pendant 15 min.

Agiter, laisser le mélange refroidir puis filtrer le mélange et récupérer le filtrat.

➤ **Décoction en milieu hydroalcoolique :**

Dans un ballon rodé surmonté d'un réfrigérant, mélanger 5g du matériel végétal avec 100 ml d'eau distillée + Méthanol (30V/70V); chauffer à une température stable pendant 1h. Filtrer le mélange et récupérer le filtrat.

➤ **Macération en milieu hydroalcoolique :**

Dans un Erlenmeyer, mettre 5g du matériel végétal séché et non broyé avec 100 ml d'eau distillée + Méthanol (30V/70V), sous agitation à l'obscurité, à une température ambiante pendant 24h.

Filtrer le mélange et récupérer le filtrat.

**2.2. Rendement des extraits d'*Crocussativus L* :**

Le rendement de chaque extrait a été calculé selon la formule suivante :

$$R (\%) = m/m_0 \times 100$$

- R : rendement exprimé en (%).
- m : masse en gramme de l'extrait sec récupéré.
- $m_0$  : masse en gramme du matériel végétal.

**3. Dosage des composés phénoliques :**

**3.1. Dosage des polyphénols totaux :**

La teneur en polyphénols totaux des différentes préparations de la plante a été déterminée par la méthode décrite par **Nickavar et al (2008)**, en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu on se basant sur le fait que les composés phénoliques forment un complexe redox avec les acides phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et phosphomolibdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ) de ce réactif.

Un volume de 100  $\mu$ l de chaque extrait a été introduit à l'aide d'une micropipette dans des tubes à essai, suivis de l'addition de 1000  $\mu$ l du réactif Folin-Ciocalteu (0,2N). Après 10 min d'incubation à température ambiante 800  $\mu$ l de carbonates de sodium ( $Na_2CO_3$ ) (75 g/l) été ajoutées, les solutions sont maintenues à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante. L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS. Le blanc de la réaction ne contenant pas de polyphénols est réalisé comme le point 0  $\mu$ g. $ml^{-1}$  de la gamme.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique à des concentrations de 0 à 400  $\mu$ g. $ml^{-1}$ .

Les résultats sont exprimés en microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme de matière végétale sèche ( $\mu$ g EAG/mg MS).

**3.2. Dosages des flavonoïdes :**

Le dosage des flavonoïdes a été effectué suivant la méthode décrite par **Zhishen et al, (1999)** en utilisant le trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ):

Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes et la soude forme un complexe de couleur rose qui absorbe dans le visible à 510 nm (**Marinova et al., 2005**).

250 µL de l'extrait est mélangé avec 1000 µl d'eau distillée, puis 75 µl d'une solution de nitrite de sodium (NaNO<sub>2</sub>) à 15 %. Après 6 minutes d'incubation à température ambiante, 75 µl de chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) à 10% est ajouté. Après 6 minutes d'incubation à température ambiante, 1000 µl d'hydroxyde de sodium (NaOH) (4%) est ajouté. le volume total est complété à 2500 µl d'eau distillée.

Après agitation et incubation pendant 15 minutes, l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à 510 nm contre un blanc contenant l'eau distillée.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine à concentrations de 0 à 260 µg.ml<sup>-1</sup>

Les résultats obtenus sont exprimés en microgrammes équivalent catéchine par milligramme de la matière végétale sèche (µg EC /mg MS)

### **3.3. Dosages des tanins condensés :**

Les tanins condensés sont déterminés par la méthode de la vanilline en milieu acide décrit par **Ba et al, (2010)**

Le réactif vanilline a été préparé en mélangeant à volume égal: HCL à 8 % (v/v), le méthanol à 37 % (v/v) et 4 % de vanilline dans du méthanol (m/v). Le mélange a été maintenu à 30° avant le dosage.

200 µl de chaque extrait à analyser ont été ajoutés à 1000 µl de réactif de vanilline, le mélange a été agité, puis incubé à l'obscurité pendant 20 min.

L'absorbance est mesurée à 500 nm par un spectrophotomètre, contre un blanc constitué d'un mélange de méthanol (37%) et de HCL (8%) à volume égal.

Une gamme étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions, en utilisant la catéchine à des concentrations de 0 à 400 µg/ml.

Les teneurs en tanins condensés sont exprimés en microgrammes équivalent catéchine par milligramme de la matière sèche (µg EC.mg<sup>-1</sup> MS).

## **4. Evaluation de l'activité antiradicalaire (piégeage du radical libre DPPH)**

### **Principe de la méthode DPPH**

Afin d'étudier l'activité antiradicalaire de l'extrait, nous avons utilisé la méthode du DPPH (diphénylpicrylhydrazyl) qui est un radical relativement stable, dans ce test, les antioxydants réduisent le diphénylpicrylhydrazyl ayant une couleur violette en un composé jaune, le

diphénylpicryl hydrazine, dont la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (**Sanchez-Moreno, 2002**).

Le DPPH absorbe dans le visible à la longueur d'onde de 515 nm à 520 nm.

L'effet de chaque extrait sur le DPPH est mesuré par la procédure décrite par **Chaouche et al., 2013**.

Un volume de 50 µl de différentes concentrations (0 à 0,4 mg/ml) de chaque extrait est ajouté à 1950 µl de la solution méthanolique du DPPH (0.025 g/l) fraîchement préparée.

Les tubes sont incubés à l'obscurité pendant 30 min à température ambiante.

L'absorbance est effectuée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, contre un blanc pour chaque concentration qui contient 50 µl de chaque concentration de l'extrait et 1950 µl du méthanol.

L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif avec les mêmes concentrations, et dans les mêmes conditions expérimentales.

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition (%), calculés suite à la diminution de l'intensité de la coloration du mélange, selon la formule :

$$\text{PI (\%)} = \frac{\text{A témoin} - \text{A extrait}}{\text{A témoin}} \times 100$$

PI: pourcentage d'inhibition.

A témoin: absorbance du témoin négatif.

A extrait: absorbance de l'extrait.

IC50 (concentration inhibitrice de 50%), aussi appelée EC50 (efficient concentration 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH. Les IC50 sont calculées graphiquement en représentant les pourcentages d'inhibition en fonction de concentration des extraits testée

# **Résultats et interprétation**

**I. Etude phytochimiques :**

**I. 1. Rendement d'extraction :**

Le rendement en extrait sec, l'aspect et le solvant de solubilité des différentes modes d'extraction ont été présentés dans le tableau suivant :

	La fleur			Le stigmaté		
	Aspect	Rendement (%)	Solvant de solubilisation	Aspect	Rendement (%)	Solvant de solubilisation
<b>Infusion</b>	Cristallisé	26	Eau distillé	Patte	12	Eau distillé
<b>Macération</b>	Cristallisé	16	Eau distillé	Patte	35	Eau distillé
<b>Décoction</b>	Cristallisé	25.2	Eau distillé	Patte	46	Eau distillé

**Tableau 01 : aspect, rendement en extrait sec et solvant de solubilité des différentes modes d'extraction.**

D'après les résultats obtenus, nous avons enregistré :

Concernant la fleur : Les extraits préparés par infusion, macération, et décoction ont un aspect cristallisé avec un rendement d'ordre 26% ,16% ,25.2% respectivement.

Concernant le stigmaté : Les extraits préparés par infusion, macération, et décoction ont un aspect de patte avec un rendement d'ordre 12%, 35% ,46% respectivement.

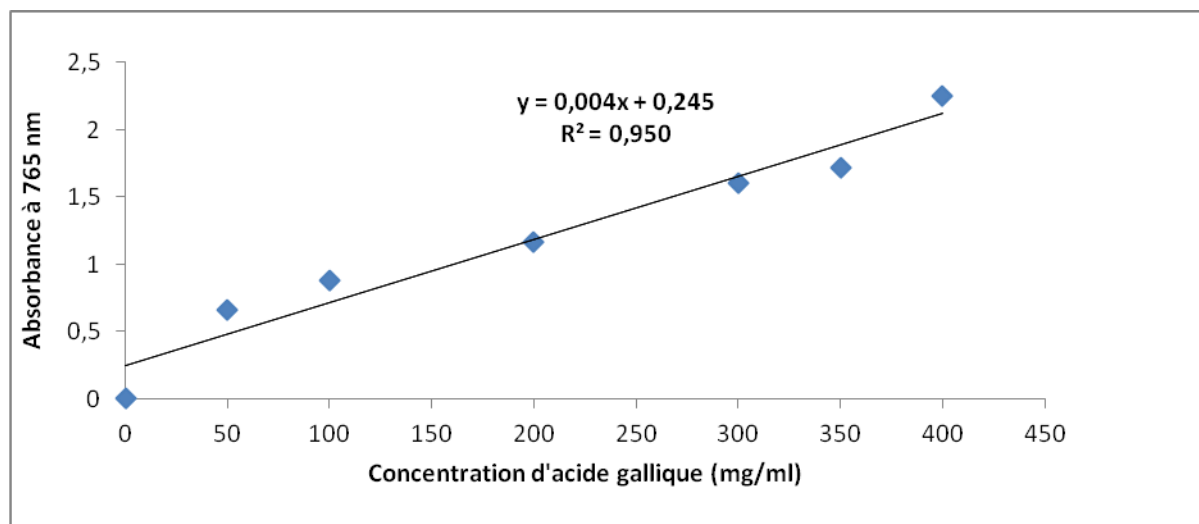
**II. Dosage des composés phénoliques :**

**II. 1. Dosage des polyphénols totaux :**

1. Courbes d'étalonnages :

La courbe d'étalonnage est élaborée par une solution standard de l'acide gallique à des concentrations différentes. La formule de la régression linéaire de cette courbe est de

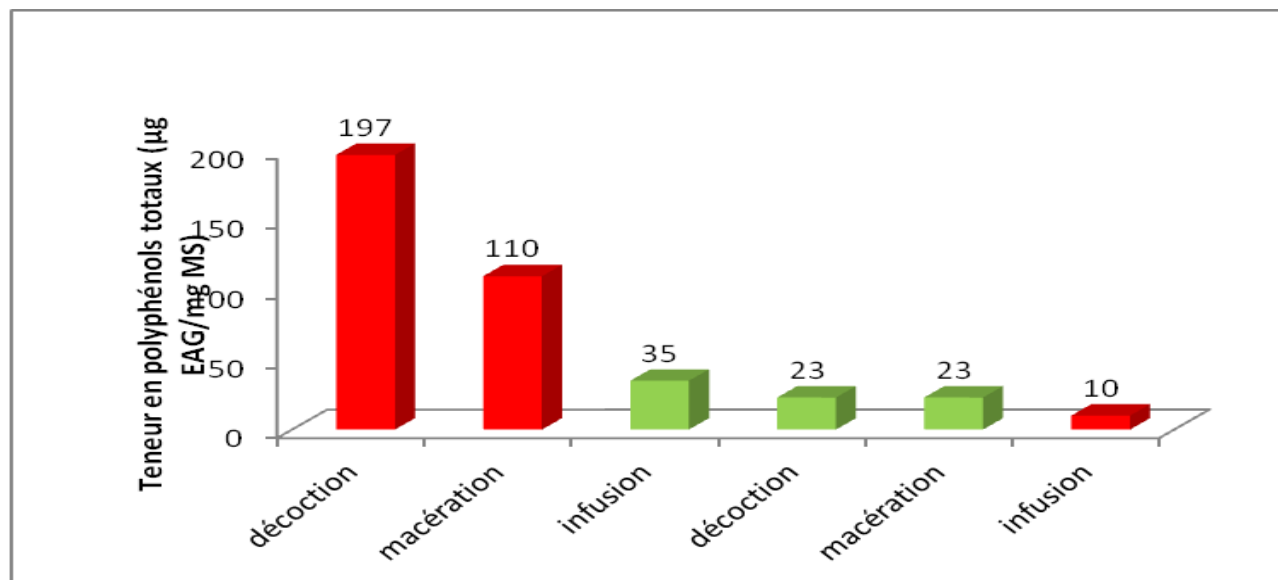
( $y = 0,004x + 0.245$ ) avec un coefficient de corrélation  $R^2 = 0,950$  (Figure 13).



**Figure 13 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols.**



Les extraits hydroalcooliques ont été analysés quantitativement par spectrophotomètre, pour leurs teneurs des polyphénols totaux en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu. Les résultats obtenus sont exprimés en microgramme équivalents d'acide gallique ( $\mu\text{g}$  EAG) par milligramme de matière sèche, en utilisant les équations de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage (Figure13).



**Figure 14 : La teneur en polyphénols totaux dans les trois extraits obtenus par infusion, macération et décoction.**



Le stigma de *crocus sativus*



La fleur de *crocus sativus*

D'après les résultats suivants, nous avons constaté que tous les extraits préparés contiennent des composés phénoliques, mais à des concentrations très variables. L'extrait préparé par décoction et macération à partir de stigma de *crocus sativus*, présente la concentration la plus élevée des phénols totaux ( $197\mu\text{g}$  EAG/mg E,  $110\mu\text{g}$  EAG/mg E respectivement). Cependant, l'extrait préparé par infusion présente une teneur moins importante ( $10\text{ EAG/mg E}$ ) par rapport aux pétales ( $35\text{ EAG/mgE}$ ). Contrairement aux extraits préparés par macération, décoction à partir des pétales de safran qui présentes la même teneur ( $23\mu\text{g}$  EAG/mg E) et aussi plus faible par rapport au stigma de *crocus sativus*.

## II.2. Dosage des flavonoïdes :

Le dosage des flavonoïdes a été effectué par la méthode spectrophotométrique au chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ).

Les résultats obtenus pour le dosage des flavonoïdes totaux sont exprimés en  $\mu\text{g}$  équivalent de catéchine par mg de matière sèche ( $\mu\text{g}$  EC/mg MS). Ils sont basés sur la formule de la régression de ( $y=0,003x + 0,020$ ) avec un coefficient de détermination ( $R^2 = 0,991$ ), de la courbe  $A = f$  ([Catéchine]) (figure 15).

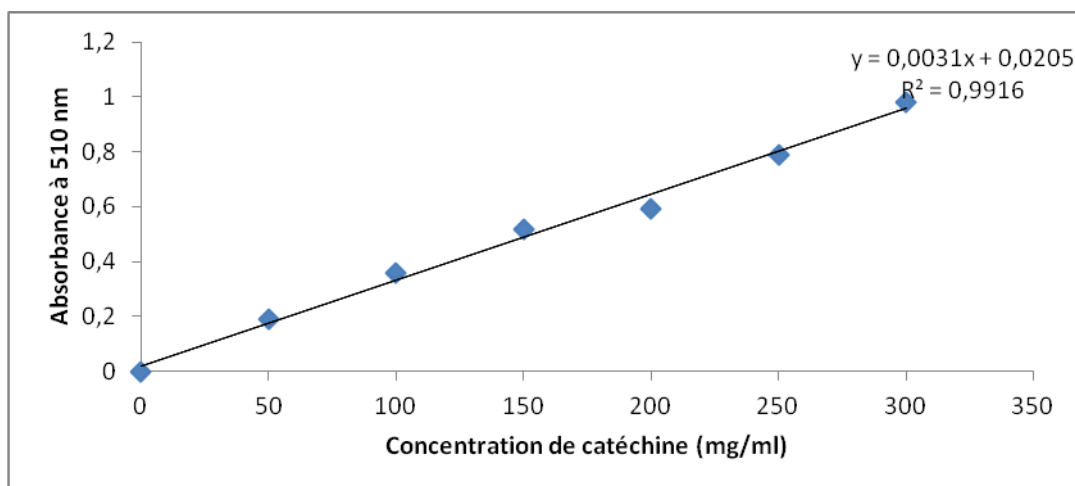


Figure 15 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes.

Les teneurs en flavonoïdes de la partie aérienne de *Crocus sativus.L* sont présentées dans la figure suivante :

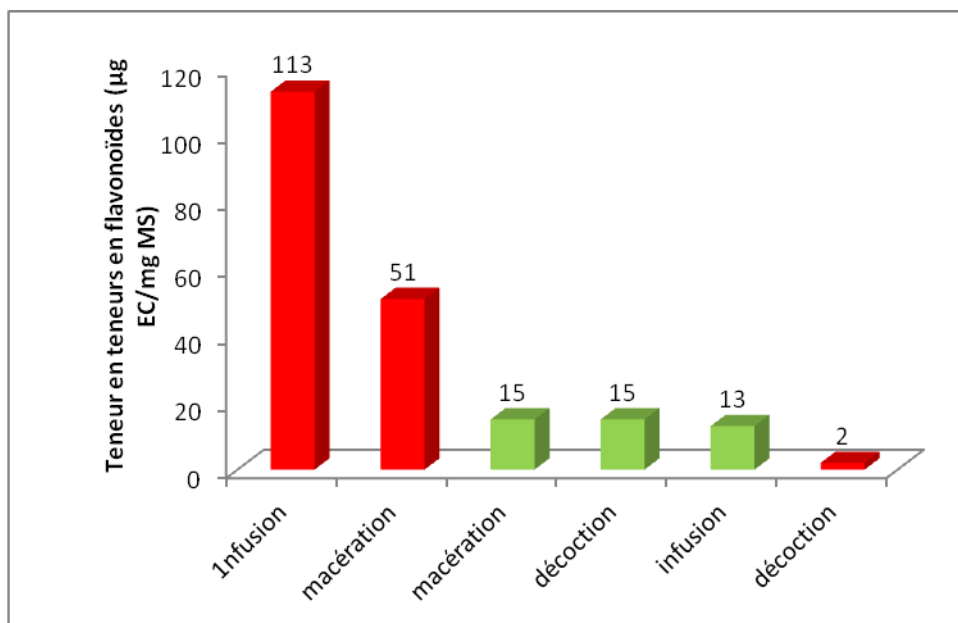


Figure 16 : La teneur en flavonoïdes totaux (µg EC/mg MS)



Le stigmatte du *crocus sativus*



La fleur du *crocus sativus*

Les extraits hydrométhanoliques obtenus par les trois extractions : infusion, et macération à partir de stigmatte de *Crocus sativus. L* ont montrés des teneurs plus importante en flavonoïdes totaux avec des concentrations de l'ordre de (113µg EC/mg MS,51µg EC/mg MS) respectivement, sauf l'extrait préparé par décoction présente une teneur plus faible ( 2 µg EC/mg MS) par rapport à la fleur(15 µg EC/mg MS) et la meme teneure pour l'extrait obtenue par macération .

dont nous avons remarqué que la teneur enregistrée dans l'extrait de l'infusion est de (13µg EC/mg MS) (figure 16).

**II.3.Dosage des tanins condensés:**

Cette courbe est établie en utilisant la vanilline comme référence. La formule de la régression linéaire de cette courbe est de (y=0,000x + 0,003) avec un coefficient de corrélation R<sup>2</sup>= 0,997 (figure 17).

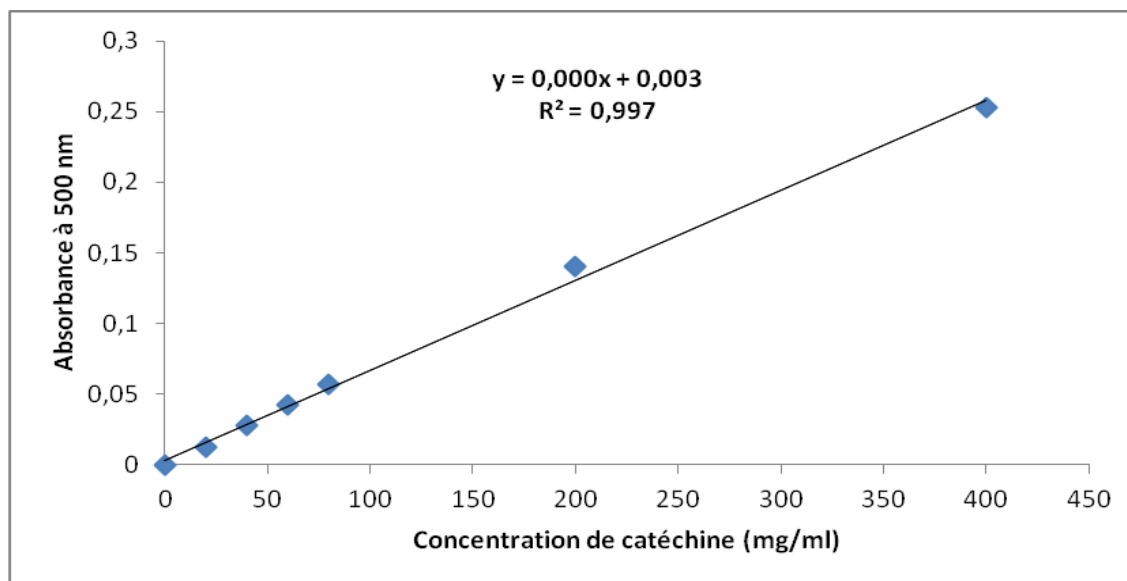


Figure 17 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins.

Les teneurs en tanins condensés de la partie aérienne de *Crocus sativus.L* sont présentées dans la figure suivante :

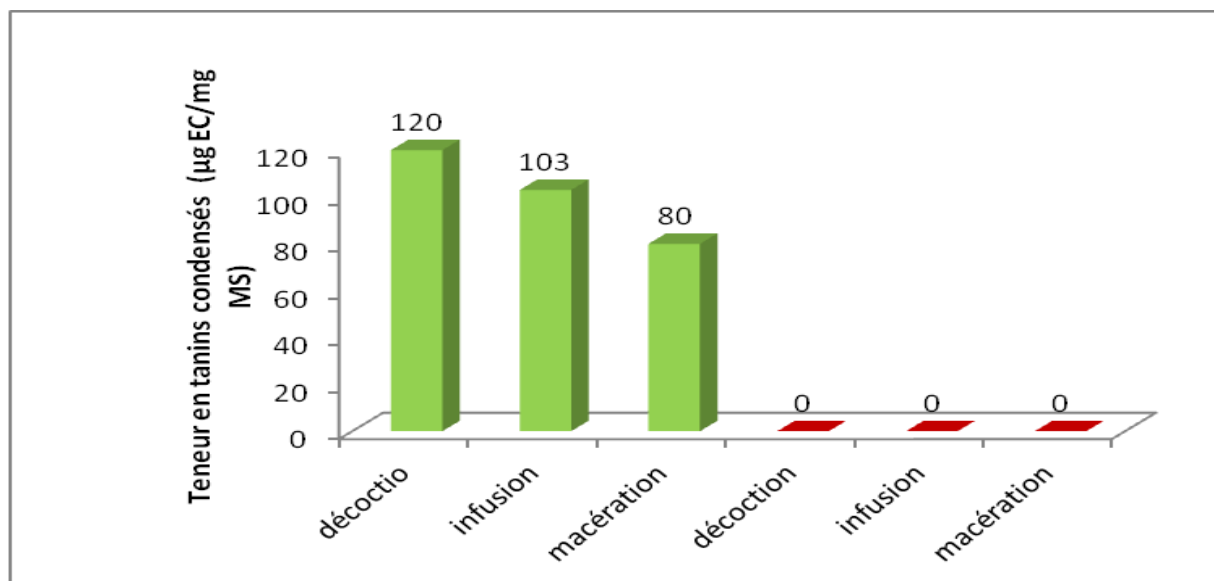
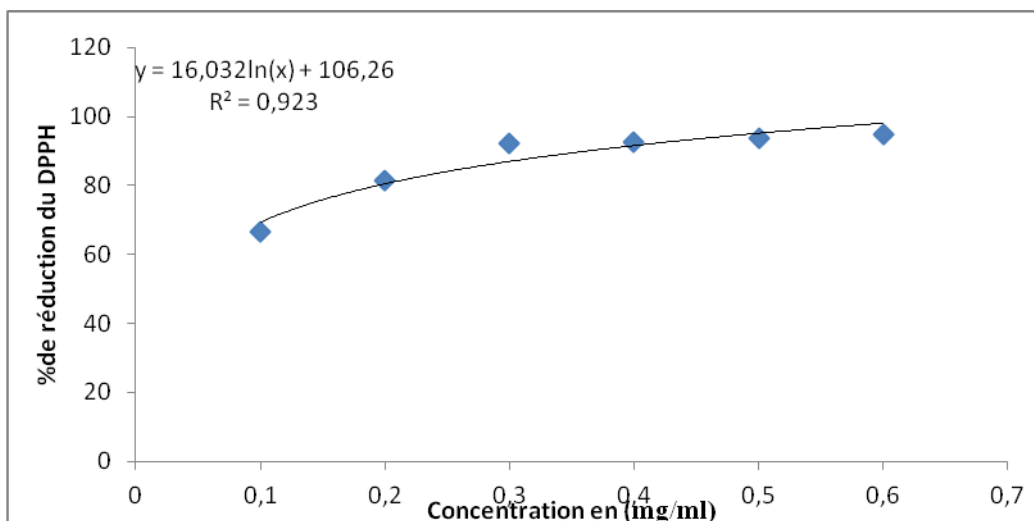


Figure 18 : la teneur en tanins condensés (µg EC/mg MS)

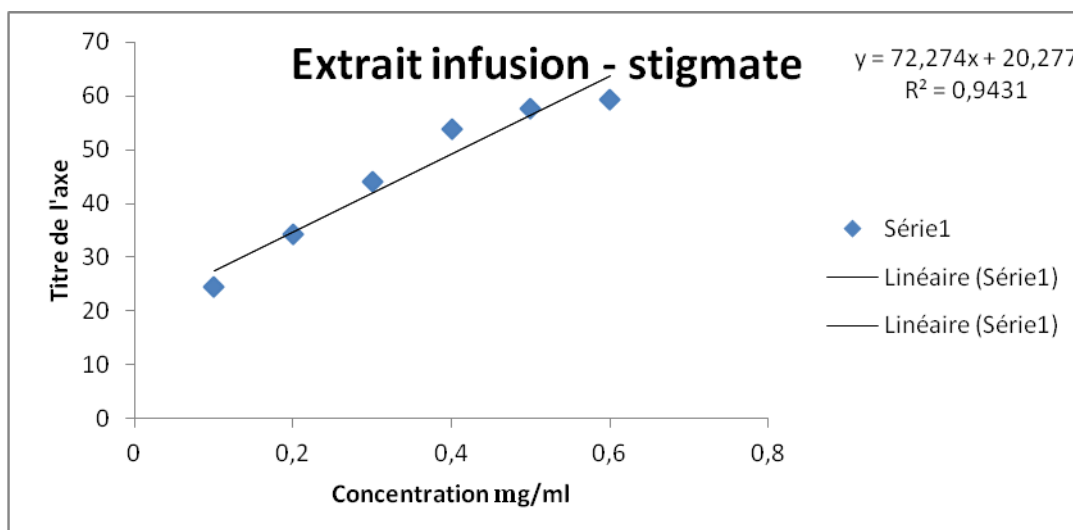
Les trois extraits préparés : décoction, infusion, et macération à partir de la fleur de *Crocus sativus.L* ont montrés la présence des teneurs plus importante en tanins condensés avec des concentrations de l'ordre de (120µg EC/mg MS, 103µg EC/mg MS et 80µg EC/mg MS) respectivement, dont nous avons remarqué que la teneur enregistrée dans l'extrait de la décoction est la plus importante. par contre le stigmate de *Crocus sativus.L* ne contient pas de tanins condensés.

**Etude de l'activité antioxydante :**

Nous avons étudié le pouvoir des extraits de *Crocus SativusL* sur le piégeage de radical libre DPPH. Les résultats obtenus sont présentés sous forme de graphes (19...25). De pourcentage de réduction du radical libre DPPH en fonction des concentrations des extraits ou de l'acide ascorbique utilisé comme molécule de référence .



**Figure 19 : pourcentage d'inhibition du radicale libre DPPH en fonction des différentes concentrations en acide ascorbique.**



**Figure 20 : pourcentage d'inhibition du radicale libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'extrait de stigmate obtenu par infusion.**

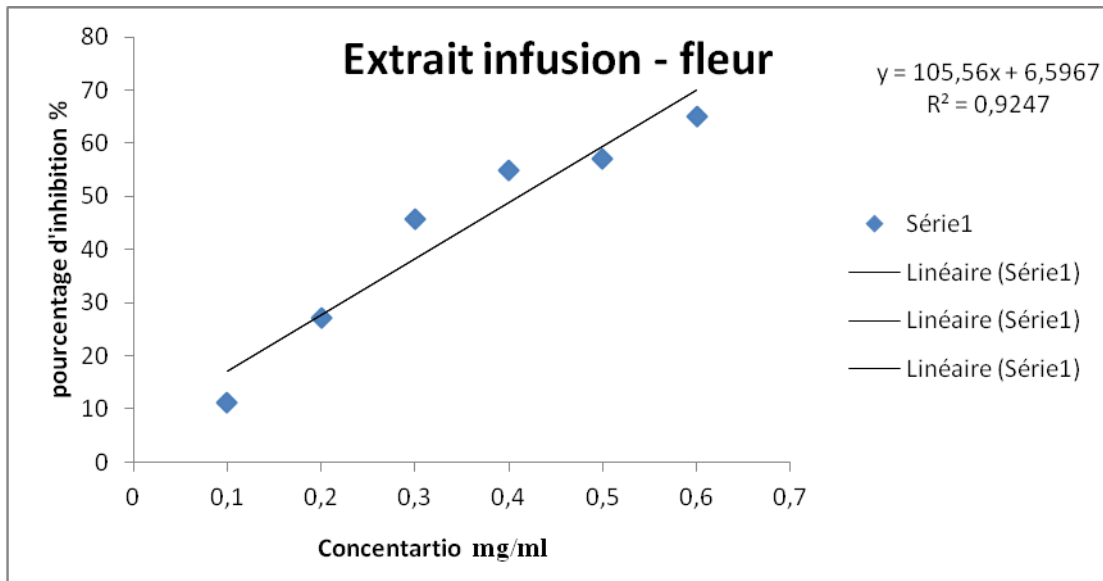


Figure 21 : pourcentage d'inhibition du radicale libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'extrait de fleur obtenu par infusion.

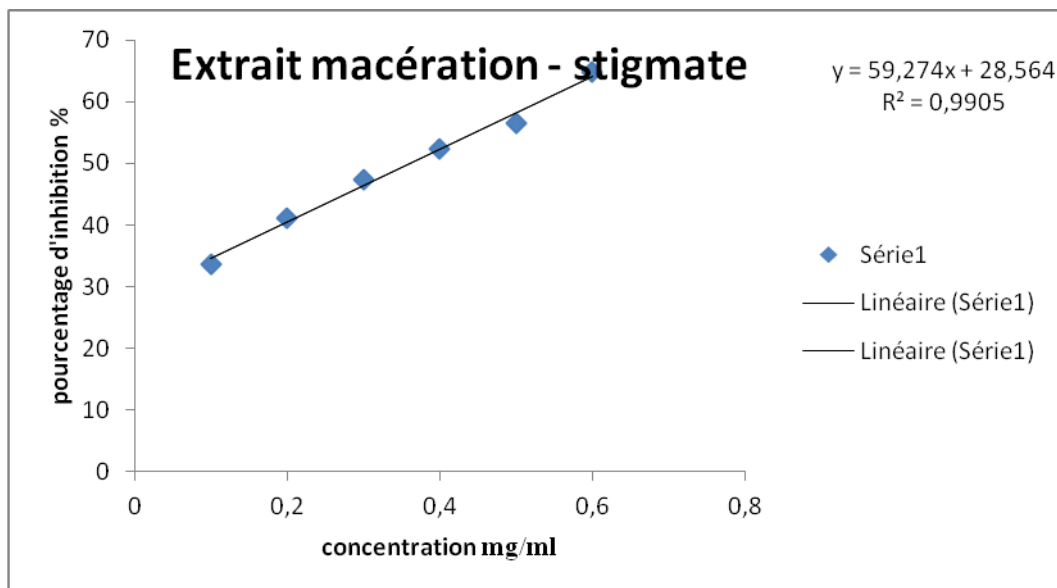


Figure 22: pourcentage d'inhibition du radicale libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'extrait de stigmat obtenu par macération.

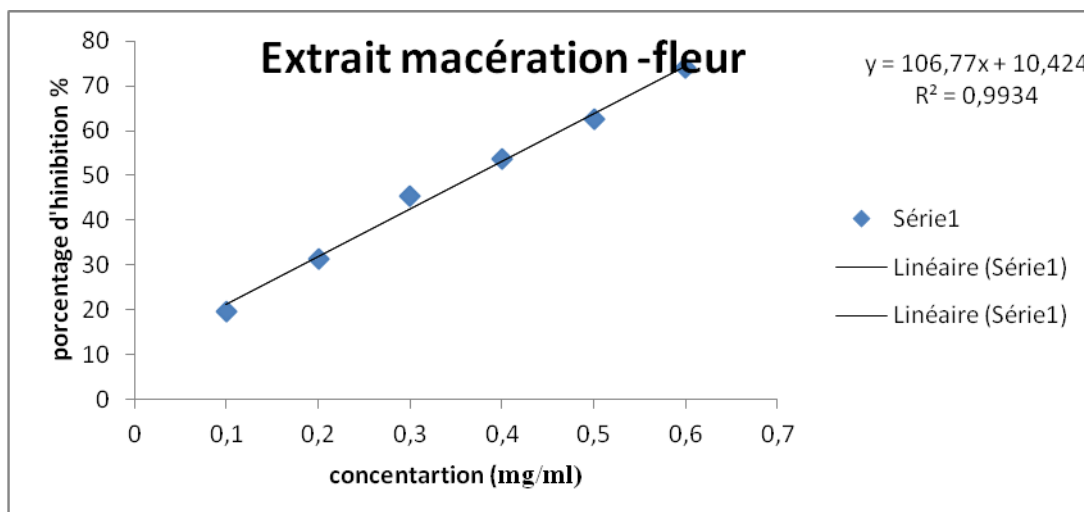


Figure 23: pourcentage d'inhibition du radicale libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'extrait de fleur obtenu par macération.

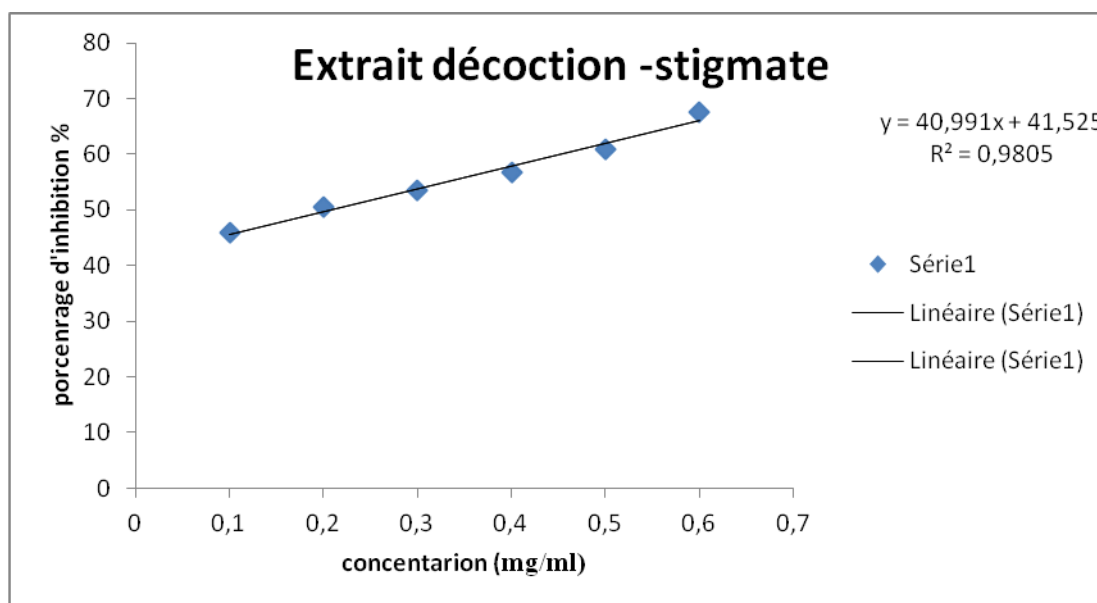


Figure 24 : pourcentage d'inhibition du radicale libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'extrait de stigmaté obtenu par décoction.

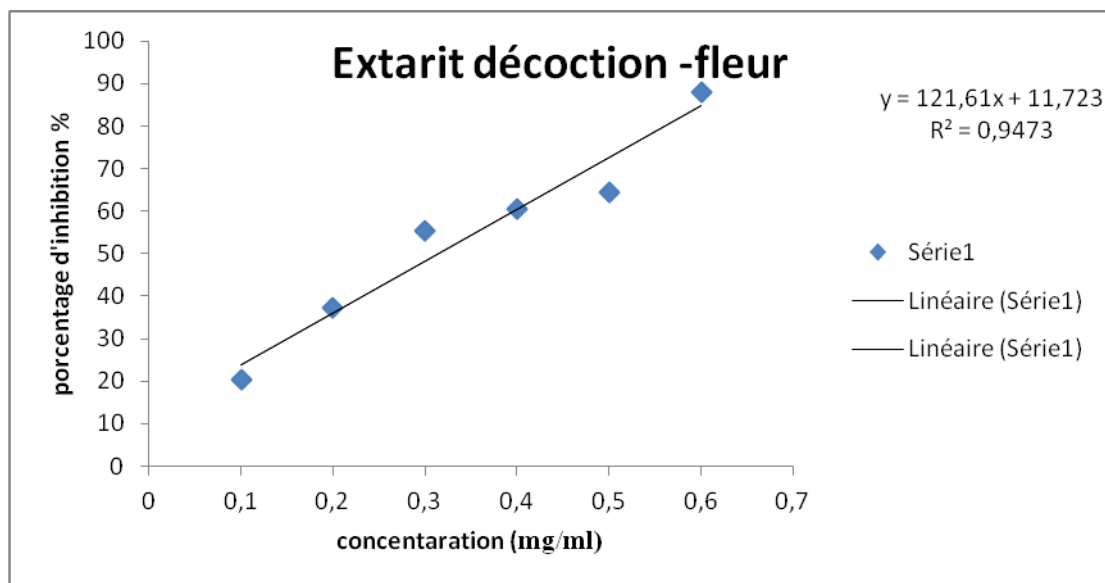


Figure 25 : pourcentage d’inhibition du radicale libre DPPH en fonction des différentes concentrations d’extrait de fleur obtenu par décoction.

Les extraits	Infusion fleur	Infusion stigmate	Macération fleur	Macération stigmate	Décoction fleur	Décoction stigmate	Acide ascorbique
IC <sub>50</sub> µg/ml	0,41	0,41	0,37	0,35	0,31	0,2	0,03

Tableau 02 : Les valeurs IC<sub>50</sub> des extraits : infusion, décoction, macération (fleur et stigmate) et l’acide ascorbique

Les IC<sub>50</sub> obtenues pour l’acide ascorbique, utilisé comme molécule de référence, est bien plus inférieure à ceux des extraits, est donc l’acide ascorbique possède une activité antioxydante très élevée.

L’activité de piégeage de radicale libre DPPH pour l’acide ascorbique nous donne une valeur IC<sub>50</sub>=0,03 µg/ml. Cette dernière (IC<sub>50</sub>=0,03 µg/ml) donne une valeur de référence dans le classement de pouvoir antioxydant de fleur de *crocus sativus* obtenue par différentes techniques d’extraction.

Le classement nous donne les résultats suivants : la technique d’extraction par décoction a une activité antioxydante la plus élevée (IC<sub>50</sub>=0,31 µg/ml) par rapport à celle obtenue par macération (IC<sub>50</sub>=0,37 µg/ml) suivie de celle obtenue par infusion (IC<sub>50</sub>=0,41 µg/ml).

Le classement de pouvoir antioxydant de stigmate de *crocus sativus* obtenue par différentes techniques d’extractions, nous donne les résultats suivants : la technique d’extraction par décoction a une activité antioxydante la plus élevée (IC<sub>50</sub>=0,2 µg/ml) par rapport à celle obtenue par macération (IC<sub>50</sub>=0,35 µg/ml) suivie de celle obtenue par infusion (IC<sub>50</sub>=0,041 µg/ml).

# Discussion



Ces dernières années, l'intérêt porté aux antioxydants naturels, en relation avec leurs propriétés thérapeutiques, a augmenté considérablement (Sanchez; Huang & Prior, 2005).

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. Les antioxydants les plus connus sont le  $\beta$ -carotène, l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E) ainsi que les composés phénoliques (Bartosz, 2003). De ce fait nous nous sommes intéressés à évaluer l'activité antioxydante des extraits de pétales et des stigmates de *Crocus Sativus L.*

Nous avons réalisé des dosages quantitatifs par des réactions chimiques pour la détermination des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins.

Nos résultats montrent une élévation des concentrations en composés phénoliques au niveau des stigmates supérieure à ceux obtenus au niveau des pétales. De plus, les concentrations en polyphénols diffèrent selon le type d'extraction. Au niveau des stigmates la valeur la plus élevée est celle obtenue par décoction (197  $\mu\text{g EC/mg MS}$ ), suivie par macération (110  $\mu\text{g EC/mg MS}$ ), et enfin par infusion (10  $\mu\text{g EC/mg MS}$ ). Pour les pétales, la concentration la plus élevée est obtenue par infusion (35  $\mu\text{g EC/mg MS}$ ), puis décoction et macération (23  $\mu\text{g EC/mg MS}$ ). La composition des polyphénols reste majoritairement élevée au niveau des stigmates comparée aux pétales. Cependant, la richesse des pétales en ces composés nous incite à une meilleure exploitation de cette richesse.

De même, les concentrations en flavonoïdes au niveau des stigmates restent toujours plus élevées à ceux obtenus au niveau des pétales. De plus, les concentrations en flavonoïdes diffèrent selon le type d'extraction. Au niveau des stigmates la valeur la plus élevée est celle obtenue par infusion (113  $\mu\text{g EC/mg MS}$ ), suivie par macération (51  $\mu\text{g EC/mg MS}$ ), et enfin par décoction (2  $\mu\text{g EC/mg MS}$ ). Pour les pétales, la concentration la plus élevée est obtenue par macération et décoction (15  $\mu\text{g EC/mg MS}$ ), puis infusion (13  $\mu\text{g EC/mg MS}$ ). Nos résultats concordent avec ceux d'Al-faraji (2017). Les flavonoïdes restent majoritairement élevés au niveau des stigmates comparés aux pétales. L'activité anti-inflammatoire aiguë et/ou chronique, peut être due à la présence de flavonoïdes, de tanins, d'anthocyanines, d'alcaloïdes et de saponines (Srivastava et al., 2010)

Le stigmate de *Crocus sativus. L* ne contient pas de tanins condensés. 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 (Schmidt et al., 2007). En effet, l'application principale du safran concernant ses propriétés antioxydantes et

antitumorales, proviennent essentiellement de la crocine (Gutheil et al., 2012). Cependant, les pétales présentent une composition en tanin très importante de l'ordre de (120 $\mu$ g EC/mg MS) PAR décoction suivie de (103 $\mu$ g EC/mg MS) par infusion et (80 $\mu$ g EC/mg MS) par macération.

De plus les extraits des pétales et stigmates de *Crocus Sativus L* sont également évalués pour leur activité antioxydante, le radicale DPPH est l'un des substrats les plus utilisés pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante, en raison de sa stabilité en forme radicale et la simplicité de l'analyse (Bozin et al., 2008).

Grace a cette méthode nous avons étudiées l'activité antioxydante des extraits de notre plante Eau – Méthanol a montré un pouvoir de piéger le DPPH.

Pour chacun des extraits analysés pour leur capacité entre eux et par rapport au piégeage de radicaux libre du DPPH, IC<sub>50</sub> a été déterminée afin de pouvoir comparé cette capacité entre eux et par rapport à l'acide ascorbique comme molécule de référence. L'IC<sub>50</sub> est définie comme étant la concentration en produit nécessaire pour réduire 50% du radicale DPPH plus la valeur de l'IC<sub>50</sub> est petite, plus l'activité antioxydante de l'extrait testé est grande.

A partir des représentations graphiques **des figures** (19...25), nous avons calculée les IC<sub>50</sub> de chaque extrait, dont celle de l'acide ascorbique. Les valeurs des IC<sub>50</sub> obtenues pour l'ensemble des extraits sont exprimées en concentration finale  $\mu$ g/ml.

D'après les résultats de technique du piégeage du radicale libre DPPH, notre plante a montré une bonne activité avec les trois extraits ,en particulier l'extrait décoction de stigmate du safran qui a présenté l'activité la plus élevée avec une IC<sub>50</sub> de 0,2 mg /ml par rapport au extrait décoction fleur avec une IC<sub>50</sub> de 0,31 mg/ ml, infusion avec une IC<sub>50</sub> de 0,41 mg/ml pour la fleur et les stigmates , macération fleur avec une IC<sub>50</sub> de 0,37 mg/ ml, et macération stigmate avec une IC<sub>50</sub> de 0,35 mg/ ml , Cette différence pourrait êtres attribuée a divers composés extraites par des solvants de polarité différente (Lafka et al., 2013).

Donc les stigmates de *Crocus Sativus L* ont une activité antioxydante plus élevée que celle des pétales.

Le safran pris en infusion, dans la médecine traditionnelle était surtout apprécié pour sa qualité d'emménagogue mais également pour son action dans les troubles d'ordre digestif comme les coliques intestinales (Vitet. 1803). A l'heure actuelle, il n'est pas rare de consommer les

stigmates de *Crocus sativus* en tisane. La concentration usuelle est comprise entre 0,5 g à 1 g par litre d'eau et l'infusion opère en une quinzaine de minutes.

# Conclusion

Au terme de cette étude, compte tenu des résultats obtenus et face aux objectifs que nous nous sommes fixés, il est nécessaire de faire le point...

Concernant la fleur, les extraits préparés ont un aspect cristallisé avec un rendement plus élevé par infusion ; et pour le stigmate, les extraits préparés ont un aspect de patte avec un rendement plus élevé par décoction

Les tests phytochimiques réalisés à partir des pétales de *Crocus sativus*. L ont révélé la richesse de cette plante en flavonoïdes, tanins, terpenoïdes, avec la présence des composés réducteurs mais avec une quantité moyennement importante, des alcaloïdes et des saponines et l'absence des coumarines, quinones libres et les anthraquinones.

L'extrait préparé par infusion et macération à partir de stigmate de *crocus sativus* présente une concentration plus élevée des phénols totaux ; contrairement aux extraits préparés par macération, décoction à partir de la fleur de safran qui présentes la même teneur et aussi plus faible par rapport au stigmate de *crocus sativus*.

Les extraits préparés par infusion, macération, et décoction à partir de la fleur de *Crocus sativus*.L ont une teneur plus faible en flavonoïdes par rapport au stigmate.

La teneur en tanins dans l'extrait de la décoction de la fleur de *Crocus sativus*. L est la plus importante ; par contre son stigmate ne contient pas de tanins condensés.

Les composés obtenus par extraction (décoction) gardent une activité antioxydante plus élevée dans le classement de la fleur de *crocus sativus* et aussi dans le classement de son stigmate.

Dans l'ensemble, le safran est une plante très riche par ses composants qui ont un effet bénéfique sur la santé de l'homme. Aussi, on doit également valoriser ses pétales comme ses stigmates.

## References

1. Abdelrazag, H. (2013). *Etude phytochimique et activité biologique de la plante Limoniastrum guyonianum* (Doctoral dissertation, Université Kasdi Merbah de Ouargla)
2. Abdullaev F.I. Cancer chemopreventive and tumoricidal properties of saffron (*Crocus sativus* L.). *Experimental Biology and Medicine*, 227 n°1 (2002) 20-25).
3. Abdullaev FI, Riverón-Negrete L, Caballero-Ortega H, Manuel Hernández J, Pérez-López I, Pereda-Miranda R and Espinosa-Aguirre. Use of in vitro assays to assess the potential antigenotoxic and cytotoxic effects of saffron (*Crocus sativus* L.). *J Toxicol In Vitro*. 17(5-6) :731-6. 2003.
4. Akroum, S. (2011). *Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels*. Thèse de doctorat. Université Mentouri de Constantine. 125p.
5. Al-Faraji, A. S. A. R. (2017). EFFECT OF THE SAFFRON FLOWER (*CROCUS SATIVUS* L.) EXTRACTS TOWARD THE BACTERIUM *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* THAT CAUSES CONJUNCTIVITIS PUS. *IJABR*, 7(2), 296-298
6. Algrech C. (2001). "Le safran du Quercy." *Revue Quercy recherche*, 97 et 98 (1-2-4): 20-27;9-16;18-26.
7. Ameziane, A. (2016). Recherche d'effet hémolytique et évaluation de l'activité antioxydante des extraits de la partie aérienne de *Portulaca oleracea* (L.). Mémoire de master Biochimie appliquée, UNIVERSITE de TLEMCEM
8. Amin A, Hamza AA, Bajbouj K, Ashraf SS and Daoud S. Saffron: a potential candidate for a novel anticancer drug against hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. 2 ;54(3):857-67. 2011.
9. Arvy M., Gallouin F. *Epices, aromates et condiments*. Belin Ed. 2003, pp.216-219).  
aspx (page consultée le 15/10/14).
10. Aung HH, Wang CZ, Ni M, Fishbein A, Mehendale SR, Xie JT, Shoyama CY and Yuan CS. Crocin from *Crocus sativus* possesses significant anti-proliferation effects on human colorectal cancer cells. *Exp Oncol*. 29(3):175-80. 2007.
11. Bak E. Tine, J. Destain, N. Cisse et P. Thonart. (2010). Étude comparative des composés phénoliques, du pouvoir antioxydant de différentes variétés de sorgho sénégalais et des enzymes amylolytiques de leur malt. *Biotechnol. Agro. Soc. Environ*. Vol. 14. (2010). pp. 131-139.
12. Bartosz G. Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments on Toxicology*. (2003); 9, 5-21

## References

13. Babaei, A., Arshami, J., Haghparast, A., & Daneshmesgharan, M. (2014). Effects of saffron (*Crocus sativus*) petal ethanolic extract on hematology, antibody response, and spleen histology in rats. *Avicenna journal of phytomedicine*, 4(2), 103-109.
14. Belguidoum, M. (2011) Une approche phytochimique pour différencier deux espèces de genre *Zygophyllum*.45p
15. Bhargava, V. (2011). Medicinal uses and pharmacological properties of *Crocus sativus* Linn (Saffron). *Int J Pharmacy Pharmaceutical Science*, 3(3), 22-26.
16. Blankenship RE and Hartman H. The origin and evolution of oxygenic photosynthesis. *Trends Biochem Sci*. 23(3):94-7. 1998.
17. Bozin B.,Mimica-dukic N.,samojlik I ., Goran A., Igetic R;2008. Phenolics as antioxidants in garlic(*Allium sativum* L.*Alliaceae*)*Food chemistry*;111:925-929.
18. Carmona, M., A. Zalacain, and G. L. Alonso. "The chemical composition of saffron: color, taste and aroma." (2006): 57-62.
19. Chen SX and Schopfer P. Hydroxyl-radical production in physiological reactions. A novel function of peroxidase. *Eur J Biochem*. 260(3):726-35. 1999.
20. Chryssanthi, D. G., Dedes, P. G., Karamanos, N. K., Cordopatis, P., & Lamari, F. N. (2011). Crocetin Inhibits Invasiveness of MDA-MB-231 Breast Cancer Cells via Downregulation of Matrix Metalloproteinases. *Planta medica*, 77(02), 146-151.
21. Collin, S., & Crouzet, J. (2011). Polyphénols et procédés: Transformation des polyphénols au travers des procédés appliqués à l'agro-alimentaire. Lavoisier. ; p. 1-337
22. Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4), 564-582.
23. D'Alessandro AM, Mancini A, Lizzi AR, De Simone A, Marroccella CE, Gravina GL, Tatone C and Festuccia C. *Crocus sativus* stigma extract and its major constituent crocin possess significant antiproliferative properties against human prostate cancer. *Nutr Cancer*. 65(6):930-42. 2013.
24. Deo,D.B. (2003),“GrowingSaffron–The World’s Most Expensive Spice”, Crop & Food Research (New Zealand Institute for Crop & Food Research).
25. Deshmukh L, Rode S, Wagh P, Thakur P and Bandawane D. Oxidative stress and antioxidants in focus: a review. *Inventi Impact: Molecular Pharmacology*. 2013.
26. Djemai Z (2008). Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de *Zizyphus lotus* L, mémoire magister, Université -El Hadj Lakhder –Batna.
27. Douglas M and Perry N. Growing Saffron-The World's Most Expensive Spice. Crop and Food Research. Publication No. 20. 2003.

## References

28. Dröge W. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiological Reviews*. 82(1): 47-95. 2002.
29. Dupont G. *Abrégé de botanique systématique moléculaire*. 14e édition. Masson Ed. 2007,
30. Dupont J. Dimensions culturelles et culturelles du safran en France. *Empan*. 41:34-38. 2001.
31. Escribano J, Alonso GL, Coca-Prados M and Fernandez JA. Crocin, safranal and picrocrocin from saffron (*Crocus sativus* L.) inhibit the growth of human cancer cells in vitro. *Cancer Lett*. 100:23-30. 1996.
32. Falcone Ferreyra, M. L., Rius, S., & Casati, P. (2012). Flavonoids: biosynthesis, biological functions, and biotechnological applications. *Frontiers in plant science*, 3, 222.
33. Fatehi M, Rashidabady T and Fatehi-Hassanabad Z. (2003). Effects of *Crocus sativus* petals extract on rat blood pressure and on response induced by electrical field stimulation in the rat isolated vas deferens and guinea-pig ileum. *J Ethnopharmacology*. 84:199-203.
34. Favier A. Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actualité Chimique*. 108-13. 2003.
35. Ferrence S.C., Bendersky G. Therapy with Saffron and the Goddess at Thera. *Perspectives in Biology and Medicine*, 47 n°2 (2004) 199-226).
36. Gismondi, A., Serio, M., Canuti, L., & Canini, A. (2012). Biochemical, antioxidant and antineoplastic properties of Italian saffron (*Crocus sativus* L.). *American Journal of Plant Sciences*, 3(11), 1573.
37. Goli, S. A. H., Mokhtari, F., & Rahimmalek, M. (2012). Phenolic compounds and antioxidant activity from saffron (*Crocus sativus* L.) petal. *Journal of Agricultural Science*, 4(10), 175).
38. Grigg, DB. (1974). *The Agricultural Systems of the World*, Cambridge University Press, p. 287, ISBN 0-521-09843-2.
39. Guignard, J. (2000). *Biochimie végétale*. 2éme édition. Édition Dunod, Paris.
40. Gutheil WG, Reed G, Ray A, Anant S and Dhar A. Crocetin: an agent derived from saffron for prevention and therapy for cancer. *Curr Pharm Biotechnol*. 13(1):173-9. 2012.
41. Hagerman AE, Muller-Harvey I, Makkar HPS (2000): Quantification of tanins in tree foliage. FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in food and Agriculture. Vienna, 26p.
42. Halliwell B. The antioxidant paradox: less paradoxical now? *Br J Clin Pharmacol*. 75(3):637-44. 2013.



## References

43. Hamanaka RB and Chandel NS. Mitochondrial reactive oxygen species regulate cellular signaling and dictate biological outcomes. *Trends Biochem Sci.* 35(9):505-13. 2010.
44. Hassanpour, S., MaheriSis, N., & Eshratkhah, B. (2011). Plants and secondary metabolites (Tannins): A Review. *International Journal of Forest, Soil and Erosion (IJFSE)*, 1(1), 47-53.
45. Heleno, S. A., Martins, A., Queiroz, M. J. R., & Ferreira, I. C. (2015). Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: A review. *Food chemistry*, 173, 501-513.
46. Hill, T. (2004). *The Contemporary Encyclopedia of Herbs and Spices: Seasonings for the Global Kitchen*, Wiley, p. 272, ISBN 0-471-21423-X
47. Hosseinzadeh H and Younesi H. Petal and stigma extracts of *Crocus sativus* L. have antinociceptive and anti-inflammatory effects in mice. *BMC Pharmacol.* 2:7. 2002.
48. Howes RM. The free radical fantasy: a panoply of paradoxes. *Ann NY Acad Sci.* 1067: 22-6. 2006.
49. Kabera, J. N., Semana, E., Mussa, A. R., & He, X. (2014). Plant secondary metabolites: biosynthesis, classification, function and pharmacological properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2, 377-392.
50. Kabouche, A. (2005). Etude phytochimique de plantes médicinales appartenant à la famille des Lamiaceae.
51. Kafi M, Rashed MH, Koocheki A and Mollafilabi A. Saffron (*Crocus sativus* L.), Production and Processing. Center of Excellence for Special Crop, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad. 2002.
52. Kamalipour M and Roozbeh A. Cardiovascular effects of saffron: an evidence-based review. *J Tehran Heart Cent.* 6(2):59-61. 2011.
53. Karimi, E., Oskoueian, E., Hendra, R., & Jaafar, H. Z. (2010). Evaluation of *Crocus sativus* L. stigma phenolic and flavonoid compounds and its antioxidant activity. *Molecules*, 15(9), 6244-6256.
54. Kaur, R., & Arora, S. (2015). Alkaloids-important therapeutic secondary metabolites of plant origin. *Jour. Crit Rev*, 2(3), 1-8.
55. Klenkar, J., & Molnar, M. (2015). Natural and synthetic coumarins as potential anticancer agents. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7(7), 1223-1238.
56. Kumar, A., Yadav, A., Gupta, N., Kumar, S., Gupta, N., Kumar, S., ... & Gurjar, H. (2014). Metabolites In Plants And Its Classification. *World J Pharm Pharmac*, 4(1), 287-305.

## References

57. Lachaud, C. M. (2012). La Bible du Safranier. Tout Savoir sur le Crocus sativus et sur le Safran. ILV. 258 pages. ISBN 978-2-7466-4412-0
58. Lazérat V. Secrets de safranière. Lucien Souny Ed. Saint-Paul. 2009, 125 p).
59. Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005). *Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique*. PPUR Presses polytechniques.
60. Marie, J & Devaux, S. (2001). Plantes aromatiques et condimentaires. [Paris] : Artémis éd, 2001.
61. **Marinova D., Ribarova F., Atanassova M. (2005)**. Total phenolics and total flavonoids in bulgarian fruits and vegetables. Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy; 40 (3): 255-260
62. Mcgee, H (2004), On Food and Cooking: The Science and Lore of the Kitchen (<http://books.google.com/books?ie=UTF-8&hl=en&id=iX05JaZXRz0C>), Scribner, p. 422, ISBN 0-684-80001-2
63. 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
64. Mir, M. A., Parihar, K., Tabasum, U., & Kumari, E. (2016). Estimation of alkaloid, saponin and flavonoid, content in various extracts of *Crocus sativa*. *Journal of Medicinal Plants*, 4(5), 171-174.
65. Molina RV, Valero M, Navarro Y, Guardiola JL and Garcia-Luis A. Temperature effects on flower formation in saffron (*Crocus sativus* L.) *Sci Hort*. 103: 361-379. 2005.
66. Moshiri, E., Basti, A. A., Noorbala, A. A., Jamshidi, A. H., Abbasi, S. H., & Akhondzadeh, S. (2006). *Crocus sativus* L. (petal) in the treatment of mild-to-moderate depression: A double-blind, randomized and placebo-controlled trial. *Phytomedicine*, 13(9), 607-611.
67. Nair SC, Pannikar B and Pannikar KR. Antitumor activity of saffron (*Crocus sativus* L.). *Cancer Lett*. 57:109-114. 1991.
68. Negbi, M. (1999). Saffron cultivation. In *Saffron: Crocus sativus* L. (pp. 1-17). CRC Press.
69. Nickavar B., Alinaghi A., et Kamalinejad M., (2008): Evaluation of the antioxidant
- NLM (National Library of Medicine). Archives. United States - National Library of

## References

- Obrenovich ME, Li Y, Parvathaneni K, Yendluri BB, Palacios HH, Leszek J and Aliev G. Antioxidants in health, disease and aging. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 10(2):192-207. 2011.
70. Obrenovich ME, Li Y, Parvathaneni K, Yendluri BB, Palacios HH, Leszek J and Aliev G. Antioxidants in health, disease and aging. *CNS Neurol Disord Drug Targets*. 10(2):192-207. 2011.p. 108).
71. Oliveira, L. D. L. D., Carvalho, M. V. D., & Melo, L. (2014). Health promoting and sensory properties of phenolic compounds in food. *Revista Ceres*, 61, 764-779.
72. Palomares C. (1988). LE SAFRAN, PRECIEUSE EPICE OU PRECIEUX MEDICAMENT. Thèse de doctorat. UNIVERSITÉ DE LORRAINE Université Mentouri de Constantine. Pham-Huy LA, He H, and Pham-Huy C. Free radicals, antioxidants, in disease and health. *Int J Biomed Sci*. 4(2):89-96. 2008.
73. Pitsikas, N. (2016). Constituents of Saffron (*Crocus sativus* L.) as Potential Candidates for the Treatment of Anxiety Disorders and Schizophrenia. *Molecules*, 21(3), 303.
74. Raghvendra, S. V., Shakya, A., Hedaytullah, M. D., Arya, G. S., Mishra, A., Gupta, A. D., ... & Patel, D. (2011). Chemical and potential aspects of anthocyanins-a water-soluble vacuolar flavonoid pigments: a review. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res*, 6(1), 28-33.
75. Rahimi, M. (2015). Chemical and Medicinal Properties of Saffron. *Bull. Env. Pharmacol. Life Sci*, 4, 69-81.
76. Rahmouni, S & Reghis, S (2016). *Etude phytochimique et évaluations des activités antioxydantes et antibactériennes des espèces : Lavandula steochas, Glycyrrhizza glabra L., Crocus sativus L. et Linum usitassimum L.* Mémoire de master en *Métabolisme secondaire et molécules bioactives*. Université des Frères Mentouri Constantine
77. Richter, G. (1993). *Métabolisme des végétaux: physiologie et biochimie*. Ed. Presses Polytechniques et Universitaire, Romandes. Suisse. 526 p
78. Rödel, W., & Petrzika, M. (1991). Analysis of the volatile components of saffron. *Journal of Separation Science*, 14(11), 771-774.
79. Rubio-Moraga, A., Castillo-López, R., Gómez-Gómez, L., & Ahrazem, O. (2009). Saffron is a monomorphic species as revealed by RAPD, ISSR and microsatellite analyses. *BMC Research Notes*, 2(1), 189.
80. Sanchez-Moreno C. (2002). Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Science and Technology International*, 8 (3), 121-137

## References

81. Sandhar, H. K., Kumar, B., Prasher, S., Tiwari, P., Salhan, M., & Sharma, P. (2011). A review of phytochemistry and pharmacology of flavonoids. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1(1), 25-41
82. Sava, C., Sirbu, R., & Dumitrescu, C. (2006). Analyse qualitative et quantitative des anthocyanes dans des produits naturels. *Scientific Study & Research*, 7, 785-798.
- ~~83.~~ Saxena, M., Saxena, J., & Pradhan, A. (2012). Flavonoids and phenolic acids as antioxidants in plants and human health. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res*, 16(2), 130-134.
84. Saxena, R. B. (2010). Botany, Taxonomy and Cytology of *Crocus sativus* series. *AYU (An international quarterly journal of research in Ayurveda)*, 31(3), 374.
85. Schmidt, M., Betti, G., & Hensel, A. (2007). Saffron in phytotherapy: pharmacology and clinical uses. *WMW Wiener Medizinische Wochenschrift*, 157(13), 315-319.
86. Serrano-Díaz J, Sánchez AM, Maggi L, Martínez-Tomé M, García-Diz L, Murcia MA and Alonso GL. Increasing the applications of *Crocus sativus* flowers as natural antioxidants. *J Food Sci*. 77(11):C1162-8. 2012.
87. Sour, H. (2016). Screening phytochimique et détermination du pouvoir antiradicalaire des polyphénols de thé vert *Camellia Sinensis*. Mémoire de master en Alimentation et Nutrition, UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID TLEMCEN :
88. Tapas, A. R., Sakarkar, D. M., & Kakde, R. B. (2008). Flavonoids as nutraceuticals: a review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 7(3), 1089-1099
89. Tarantilis, P. A., Tsoupras, G., & Polissiou, M. (1995). Determination of saffron (*Crocus sativus* L.) components in crude plant extract using high-performance liquid chromatography-UV-visible photodiode-array detection-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 699(1-2), 107-118.
90. Tavakkol-Afshari J, Brook A and Mousavi SH. Study of cytotoxic and apoptogenic properties of saffron extract in human cancer cell lines. *Food Chem Toxicol*. 46(11):3443-7. 2008.
91. Therond P. Oxidative stress and damages to biomolecules (lipids, proteins, DNA). *Ann Pharm Fr*. 64(6):383-9. 2006.
92. Thoppil, R. J., & Bishayee, A. (2011). Terpenoids as potential chemopreventive and therapeutic agents in liver cancer. *World J Hepatol*, 3(9), 228-249.
93. Tiwari, R., & Rana, C. S. Plant secondary metabolites: a review. *International Journal of Engineering Research and General Science* 2015.3(5) : p. 2091-2730.
94. Tsimidou, M., & Biliaderis, C. G. (1997). Kinetic studies of saffron (*Crocus sativus* L.) quality deterioration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(8), 2890-2898.
95. Ursat J. Le safran du Gatinais. Pithiviers. 1913, 45 p.
96. Verma, S. K., & Bordia, A. (1998). Antioxidant property of saffron in man. *Indian journal of medical sciences*, 52(5), 205-207.

## 97. References

98.

99. Wahlqvist ML. Antioxidant relevance to human health. *Asia Pac J Clin Nutr.* 22(2):171-6. 2013.
100. Willard, P. (2001). *Secrets of Saffron: The Vagabond Life of the World's Most Seductive Spice*, Beacon Press, p. 3, ISBN0-8070-5008-3
101. Winterbourn CC and Kettle AJ. Redox reactions and microbial killing in the neutrophil phagosome. *Antioxid Redox Signal.* 18(6):642-60. 2013.
102. Winterhalter P and Straubinger M. (2000). Saffron-renewed interest in an ancient spice. *Food Rev Int.* 16(1):3959.
103. **Zhishen J., Mengcheng T., Jianming W., (1999):** The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry;* 64 : 555 – 559.

## Résumé

*Crocus sativus L.*, est une plante dont est extrait le safran; est également désigné par l'appellation « or rouge », appellation hautement justifiée puisque, vendue entre 30 et 40 euros le gramme, la précieuse épice suit le cours de l'or, étant la plus chère au monde.

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, nous avons estimé nécessaire d'explorer les constituants de cette plantes cultivée dans notre région de la wilaya de Tlemcen.

L'objectif de notre travail est d'évaluer le dosage des polyphénols de la fleur de *crocus sativus L.* Pour cela notre étude a été réalisée au sein du laboratoire "n°04 biochimie" du département de biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université de Tlemcen ; en deux parties : Préparation des différents extraits de safran (à partir des Fleurs, Stigmates), tests phytochimiques de différentes préparations de la partie aérienne (fleurs et stigmate) d'*Crocus sativus L.* Nos résultats révèlent que l'extrait obtenus par décoction est plus riches par rapport aux autres extraits en polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins. D'après les résultats de technique du piégeage du radicale libre DPPH, notre plante a montré une bonne activité avec les trois extraits, en particulier l'extrait décoction de stigmate du safran qui a présenté l'activité la plus élevée.

Donc on conclusion reste toujours les stigmates de *Crocus Sativus L* plus riche en polyphénols et ont une activité antioxydante plus élevé que la fleur.

## abstract

*Crocus sativus L.*, is a plant from which saffron is extracted; Is also called "red gold", a highly justified name, since it is sold between 30 and 40 euros per gram, and the precious spice follows the gold price, being the most expensive in the world.

The cultivation of saffron begins to grow in Algeria, for this reason and knowing its interest in the economic and therapeutic field, we felt it necessary to explore the constituents of this plant cultivated in our region of the wilaya of Tlemcen.

The objective of our work is to evaluate the dosage of the polyphenols of the flower of *crocus sativus L.* For this our study was carried out in the laboratory "n ° 04 biochemistry" of the department of biology, faculty of Sciences of the Nature And Life and Sciences of the Earth and the Universe, University of Tlemcen; In two parts: Preparation of the various extracts of saffron (from Flowers, Stigmata), phytochemical tests of different preparations of the aerial part (flowers and stigma) of *Crocus sativus L.* Our results reveal that the extract obtained by decoction is Richer in comparison to other polyphenol extracts, flavonoids and tannins. According to the results of the DPPH free radical scavenging technique, our plant showed good activity with the three extracts, in particular the saffron decoction extract extract which exhibited the highest activity.

So we always conclude the stigmata of *Crocus Sativus L* richer in polyphenols and have a higher antioxidant activity than the flower.

## ملخص

زعفران *Crocus sativus L* هو نبات تم تعيينه ايضا باسم "الذهب الأحمر"، بيع بين 30 و 40 يورو للغرام الواحد، فهو يتبع سعر الذهب، كونه أعلى التوابل في العالم.

تبدأ زراعة الزعفران في النمو في الجزائر لهذا السبب ومعرفة لدوره في المجال الاقتصادي والعلاجي، شعرنا أنه من الضروري استكشاف مكونات هذه النباتات المزروعة في منطقتنا تلمسان.

وكان الهدف من دراستنا لتقييم جرعة مادة polyphenol من زهرة الزعفران. لذلك أجريت الدراسة لدينا في المخبر "رقم 04 الكيمياء الحيوية" قسم الأحياء بكلية العلوم الطبيعية والحياة وعلوم الأرض والكون، جامعة تلمسان، خلال مرحلتين: إعداد مستخلصات مختلفة من الزعفران (من الزهور، والندبات)، اختبارات الكيميائي النباتي المختلفة للجزء الجوي.

نتائجنا تكشف أن المستخلص التي حصلت عليها decoction هو أكثر ثراء مقارنة مع مقتطفات اخرى من مجموع polyphenols ، flavonoïdes و tanins . نتائج عزل الفني DPPH للجذور الحرة، قد أظهرت نشاط جيد مع المقتطفات الثلاث، لا سيما decoction المستخرجة من الزعفران التي اثبتت أعلى نشاط.

لذا نستنتج انه لا تزال stigmates الزعفران *Crocus sativus L* الاكثر ثراء في مادة polyphenol المضادة للأكسدة و الأعلى نشاطا من الزهور.