

République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة أبو بكر بلقايد – تلمسان  
Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMEN  
كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et des Sciences de la Terre et de  
l'Univers  
Département de Biologie



## MÉMOIRE

Présenté par

**HADDADI Ibtissem**

*En vue de l'obtention du*

**Diplôme de MASTER**

En Nutrition et Diététique

### Thème

Etude phytochimique des pétales sèches de safran, extraites par «  
dichlorométhane, acétone et eau »

Soutenu le 29/06/2022, devant le jury composé de :

|           |                       |                               |
|-----------|-----------------------|-------------------------------|
| Président | Pr BELYAGOUBI Nabilla | Professeur Université Tlemcen |
| Encadrant | Pr LOUKIDI Bouchra    | Professeur Université Tlemcen |
| Examineur | Pr AZZI Rachid        | Professeur Université Tlemcen |

**Année universitaire 2021/2022**

## **Remerciements**

*Avant tout, je remercie le bon Dieu qui m'a éclairé le chemin et m'a donné la patience et le courage pour réaliser ce travail*

*Mes plus vifs remerciements vont d'abord à ma directrice de thèse **Mme LOUKIDI Bouchra** (maitre de conférences A, université de Tlemcen, faculté SNV-STU) de m'avoir fait l'honneur et le plaisir de diriger ce travail. Elle a su me guider avec patience, compréhension et rigueur. Je lui en serai toujours reconnaissante.*

*J'exprime toute ma reconnaissance à **Mme BENHAMOU Nabila**, professeur à l'université de Tlemcen de nous avoir fait l'honneur de présider le jury ce travail. Je la remercie également pour sa compréhension.*

*Je remercie également **Mr AZZI Rachid**, Maître de conférences à l'université de Tlemcen, d'accepté de faire partie du jury de ce travail. Je tiens à vous exprimer ma sincère reconnaissance et mon plus profond respect.*

*De même je remercie **Mr HABI Salim** (ingénieur de laboratoire de biochimie) de m'avoir ouvert les portes de son laboratoire. Avec ses qualités humaines et son expérience.*

*Je remercie aussi la doctorante **Mlle MELIANI Nouria** pour son aide précieuse et leurs efforts pour compléter ce travail.*

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

*Je tiens à exprimer mes sincères gratitudees à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.*

*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.*

## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail à :*

*Mes parents sans eux rien ne serait possible, la sources de mes joies et secret de ma force.*

*Ma sœur et mon frère qui sont toujours à côté de moi dans les moments difficiles.*

*Mes grands-parents pour leurs prières pour me soutenir.*

*Mon marié pour ses efforts, son aide, et sa patience pour la réalisation de ce travail.*

*Ma belle-famille pour l'amour, le soutien, l'encouragement et la simple présence me sont indispensables.*

*A ma famille, à mes proches et à ceux qui me donnent de l'amour et de la vivacité*

*A tous ceux que j'aime*

*Merci !*

## Résumé

Notre travail porte sur l'étude d'une plante médicinale *Crocus sativus.L* connue sous le nom de safran et désignée par l'appellation de l'or rouge en raison de son prix élevé, vendu entre 4500 et 5000 DA pour le gramme. C'est l'épice la plus chère au monde.

La présente étude décrit l'effet du solvant par rapport à l'extraction de différents composés phénoliques des pétales de la plante *Crocus sativus.L* et leur caractérisation physicochimique et aussi pour évaluer le potentiel antioxydant. Ces pétales sont considérés comme des déchets et presque totalement négligés sur le plan commercial.

Nous avons réalisé une seule méthode d'extraction (macération) avec trois solvants différents (l'eau distillée, acétone, dichlorométhane). L'analyse quantitative des extraits montre la richesse des pétales du safran en composés phénoliques. Concernant le dosage des polyphénols totaux et les tanins condensés des pétales de safran, les résultats démontrent que la fraction aqueuse, présente une concentration plus importante que les autres. Et pour le dosage des flavonoïdes totaux, flavonols et les tanins hydrolysables, les résultats démontrent que la fraction acétonique, présente une concentration plus importante que les autres. L'activité antioxydante des extraits a été évaluée par la capacité antioxydante totale (CAT). Les résultats obtenus révèlent que la fraction aqueuse possède un effet antioxydant le plus intéressant.

**Mots clés :** *Crocus sativus.L*, pétales, polyphénols, CAT.

## Abstract

Our work focuses on the study of a medicinal plant *Crocus sativus. L* known as saffron and designated by the name of red gold because of its high price, sold between 4500 and 5000 DA for the gram. It is the most expensive spice in the world.

The present study describes the effect of the solvent with respect to the extraction of different phenolic compounds from the petals of the *Crocus sativus.L* plant and their physicochemical characterization and also to evaluate the antioxidant potential. These petals are considered waste and almost totally neglected commercially.

We carried out a single extraction method (maceration) with three different solvents (distilled water, acetone, dichloromethane). The quantitative analysis of the extracts shows the richness of saffron petals in phenolic compounds. Regarding the dosage of total polyphenols and condensed tannins of saffron petals, the results show that the aqueous fraction has a higher concentration than the others. And for the determination of total flavonoids, flavonols and hydrolysable tannins, the results show that the acetone fraction has a higher concentration than the others. The antioxidant activity of the extracts was evaluated by the total antioxidant capacity (CAT). The results obtained reveal that the aqueous fraction has the most interesting antioxidant effect.

**Key words:** *Crocus sativus.L*, petals, polyphenols, CAT.

## المخلص

يتعلق عملنا بدراسة نبات طبي (*Crocus sativus. L*) المعروف بالزعفران ويسمى أيضاً بالذهب الأحمر نظراً لارتفاع سعره ، وبياع بين 4500 و 5000 دج للغرام. إنها أعلى أنواع التوابل في العالم. تصف الدراسة الحالية تأثير المذيب فيما يتعلق باستخراج المركبات الفينولية المختلفة من بتلات نبات *Crocus sativus.L* وخصائصها الفيزيائية والكيميائية وأيضاً لتقييم إمكانات مضادات الأكسدة. تعتبر هذه البتلات نفايات ومهملة تجارياً تقريباً.

نفذنا طريقة استخلاص واحدة (النقع) باستخدام ثلاث مذيبات مختلفة (ماء مقطر، أسيتون، ثنائي كلورو ميثان). يظهر التحليل الكمي للمستخلصات ثراء بتلات الزعفران في المركبات الفينولية. فيما يتعلق بجرعة البوليفينول الكلي والتانينات المكثف لبتلات الزعفران، أظهرت النتائج أن الجزء المائي يحتوي على تركيز أعلى من البقية. ولتحديد إجمالي مركبات الفلافونويد والفلافونول والتانينات القابلة للتحلل بالماء، أظهرت النتائج أن جزء الأسيتون يحتوي على تركيز أعلى من الأجزاء الأخرى. تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات من خلال القدرة الكلية المضادة للأكسدة (CAT)، وأظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن الجزء المائي له تأثير مضاد للأكسدة الأكثر إثارة للاهتمام.

**الكلمات المفتاحية:** *Crocus sativus.L* ، بتلات ، بوليفينول ، CAT.

# Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction .....1-2

## Partie I : Synthèse bibliographique

### Chapitre I : Généralités sur le safran

I.1. Historique .....3

I.2. Définition .....3-4

I.3. Noms communs .....4

I.4. Distribution géographique.....4-5

### Chapitre II : Étude botanique du safran

II.1. Classification .....5-6

II.2. Description de la plante .....6-8

### Chapitre III : Étude phytochimique du safran

III.1. Composition chimique de safran .....8

    III.1.1. Crocine .....8

    III.1.2. Picrocrocine .....9

    III.1.3. Safranal .....9

    III.1.4. Les flavonoïdes .....10-11

### Chapitre IV : Emplois du safran

IV.1. Usages et l'effets pharmaceutiques (safran en thérapeutique) .....11

IV.2. Autres usages .....12

### Chapitre V : Les pétales de safran

V.1. Définition .....12

V.2. Caractérisation et applications .....13-14

V.3. Composition chimique des pétales de safran .....14-15

V.4. Les effets thérapeutiques des pétales de safran .....15-16

### Chapitre VI : Les polyphénols (Les métabolites secondaires)

|   |       |
|---|-------|
| VI.1. Les composés phénoliques.....   | 16    |
| VI.1.1. Généralités .....   | 16-17 |
| VI.1.2. Principales classes des polyphénols .....                           | 17    |
| VI.1.2.1. Les acides phénoliques .....                                      | 17    |
| VI.1.2.2. Les tanins .....  | 17    |
| VI.1.2.2.1. Les tanins hydrolysables .....                                  | 18    |
| VI.1.2.2.2. Les tanins condensés (pyrocatéchique ou proanthocyanidols)..... | 18    |
| VI.1.2.3. Les flavonoïdes .....   | 19-20 |
| VI.1.3. Effets bénéfiques des polyphénols .....                             | 21    |
| VI.1.4. Applications industrielles des polyphénols .....                    | 21-22 |

### **Chapitre VII : les solvants organiques**

|  |       |
|--|-------|
| VII.1. Définitions .....                         | 22    |
| VII.2. Propriétés physico-chimiques .....        | 23    |
| VII.2.1. La polarité .....                       | 23    |
| VII.3. La présentation de certains solvants..... | 24-30 |

## **Partie II : Partie Expérimentale**

### **Chapitre VIII : Matériels et Méthodes**

|  |       |
|--|-------|
| VIII.1. Matériels .....                      | 31    |
| VIII.1.1. Matériel végétal .....             | 31    |
| VIII.1.1.1. Récolte et préparation .....     | 31    |
| VIII.2. Méthodes d'analyses .....            | 32    |
| VIII.2.1. La délipidation .....              | 32-36 |
| VIII.2.2. Préparation des extraits .....     | 36-37 |
| VIII.2.2.1. Extrait dichlorométhanique ..... | 37-39 |
| VIII.2.2.2. La fraction acétonique .....     | 39    |
| VIII.2.2.3. La fraction aqueuse .....        | 40    |

|   |       |
|---|-------|
| VIII.2.3. Dosage des composés phénoliques .....             | 41    |
| VIII.2.3.1. Dosage des phénols totaux .....                 | 41    |
| VIII.2.3.2. Dosage des flavonoïdes totaux .....             | 42    |
| VIII.2.3.3. Dosage des tanins condensés .....               | 42    |
| VIII.2.3.4. Dosage des flavonols .....                      | 42-43 |
| VIII.2.3.5. Dosage des tanins hydrolysables .....           | 43    |
| VIII.2.4. Activités antioxydante .....                      | 43    |
| VIII.2.4.1. Capacité antioxydante totale (CAT) .....        | 43    |
| <b>Chapitre IX : Résultats Interprétation et Discussion</b> |       |
| IX.1. Étude phytochimiques .....                            | 44    |
| IX.1.1. Rendement d'extraction .....                        | 44-46 |
| IX.1.2. Dosage des composés phénoliques .....               | 46    |
| IX.1.2.1. Dosage des polyphénols totaux .....               | 46-48 |
| IX.1.2.2. Dosage des flavonoïdes .....                      | 48    |
| IX.1.2.2.1. Teneur en flavonoïdes totaux .....              | 48-50 |
| IX.1.2.2.2. Teneur en flavonols .....                       | 50-52 |
| IX.1.2.3. Dosage des tanins .....                           | 52    |
| IX.1.2.3.1. Teneur en tanins condensés .....                | 52-54 |
| IX.1.2.3.2. Teneur en tanins hydrolysables .....            | 54-56 |
| IX.1.3. Etude de l'activité antioxydante .....              | 56    |
| IX.1.3.1. Capacité antioxydante totale (CAT) .....          | 56-58 |
| Conclusion .....  | 59-60 |
| Références bibliographiques.....                            |       |
| Liste des annexes .....                                     |       |

## Liste des figures

Figure 01 : principales nations productrices de safran (**France, 2013**).

Figure 02 : *Crocus sativus L.*

Figure 03 : aspect général de *Crocus sativus L* (**Arvy & Gallouin 2003**).

Figure 04 : bouton floral dans sa spathe translucide à gauche (**Anonyme 01**) et fleur de crocus à droite (**Anonyme 02**).

Figure 05 : Structure chimique de crocine (**John et Leffingwell, 2002**).

Figure 06 : Structure de picrocrocine (**Palomares, 2015**).

Figure 07 : Structure du safranal (**Ramin et Hossein, 2013**).

Figure 08 : Les structures chimiques des différents acides phénoliques (**Anne-Laure, 2007**).

Figure 09 : Structure de l'acide gallique (A), d'un exemple de tanins hydrolysables (B) et de l'acide ellagique (C) (**Derbel et Ghedira, 2005 ; Nicholson et Vermerris, 2006**).

Figure 10 : Exemple de structure d'un tanin condensé (**Macheix et al, 2006**)

Figure 11 : Structure chimique de base des flavonoïdes (**Krishna et al., 2001**).

Figure 12 : quelques solvants organiques (photo dans laboratoire) (**HADDADI, 2022**).

Figure 13 : les pétales de safran sèche (sans stigmates) (**HADDADI, 2022**).

Figure 14 : cartouche rempli avec les pétales de safran sèche, pesé dans une balance analytique (**HADDADI, 2022**).

Figure 15 : L'extraction des huiles fixes des pétales de safran sèche par la méthode de Soxhlet (**HADDADI, 2022**).

Figure 16 : le ballon qui contient les huiles fixes qu'est extraire des pétales de safran sèche avec l'hexane (le solvant d'extraction) (**HADDADI, 2022**).

Figure 17 : la séparation entre les lipides et l'hexane par l'évaporation sous vide avec le Rotavapor (**HADDADI, 2022**).

Figure 18 : les deux ballons qui conient l'hexane et les lipides après l'évaporation sous vide par le Rotavapor (**HADDADI, 2022**).

Figure 19 : la récupération des huiles fixes des pétales de safran sèche dans des flacons (**HADDADI, 2022**).

Figure 20 : les macérations et les filtrations des différentes extraites des pétales de safran sèche (**HADDADI, 2022**).

Figure 21 : la macération des pétales de safran sèche dans le dichlorométhane (**HADDADI, 2022**).

Figure 22 : la filtration de l'extrait dichlorométhanique (**HADDADI, 2022**).

Figure 23 : les résidus dichlorométhanique après le séchage dans l'étuve (**HADDADI, 2022**).

Figure 24 : les résidus acétonique après le séchage dans l'étuve (**HADDADI, 2022**).

Figure 25 : la macération des pétales de safran sèche dans l'eau distillé à gauche, et la filtration de la fraction aqueuse à droite (**HADDADI, 2022**).

Figure 26 : la solubilisation ou bien la dilution des extraits collé à la paroi de ballon par le DMSO ou bien l'eau distillé (**HADDADI, 2022**).

Figure 27 : rendements %, des extraits des pétales de safran sèche.

Figure 28 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

Figure 29 : Histogramme représentant la teneur en polyphénols totaux dans les trois extraits obtenus par macération des pétales de safran sèche.

Figure 30 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes totaux.

Figure 31 : Histogramme représentant la teneur en flavonoïdes totaux dans les trois extraits obtenus par macération des pétales de safran sèche.

Figure 32 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonols.

Figure 33 : Histogramme représentent la teneur en flavonols dans les trois extraits obtenus par macération des pétales de safran sèche.

Figure 34 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés.

Figure 35 : Histogramme représentant la teneur en tanins condensés dans les trois extraits obtenus par macération des pétales de safran sèche.

Figure 36 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des tanins hydrolysables.

Figure 37 : Histogramme représentant la teneur en tanins hydrolysables dans les trois extraits obtenus par macération des pétales de safran sèche.

Figure 38 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour la capacité antioxydante totale.

Figure 39 : Histogramme représentant la teneur en CAT dans les trois extraits obtenus par macération des pétales de safran sèche.

## Liste des tableaux

Tableau 01 : Noms communs du safran (**Oubahou, 2002**).

Tableau 02 : Principaux pays producteurs du safran (**Bergoin, 2005**).

Tableau 03 : Classification botanique de *Crocus sativus* (**Winterhalter et Straubinger, 2000**).

Tableau 04 : La composition chimique de safran (**Rahimi, 2015**).

Tableau 05 : La composition chimique des pétales du safran.

Tableau 06 : Les compositions minérales des pétales de safran (**Fahim et al., 2012**).

Tableau 07 : Les effets thérapeutiques des pétales de safran.

Tableau 08 : Principales classes des flavonoïdes avec quelques exemples (**Aruoma et al, 2003**).

Tableau 09 : Structure chimique et caractéristiques de certains solvants.

Tableau 10 : L'appareillage utilisés lors de travail expérimental.

Tableau 11 : Le petit matériel utilisé lors de travail expérimental.

Tableau 12 : Les produits chimiques utilisés.

Tableau 13 : Rendement et caractéristiques des huiles fixes des pétales séchées de safran.

Tableau 14 : Rendements et caractéristiques des trois macérations des pétales de safran sèche dans différents solvants.

## Listes des Tableaux en annexes

Tableau 01 : les résultats de spectrophotomètre à 765 nm pour la gamme de la solution mère d'acide gallique à 1mg/ml, pour le dosage des polyphénols totaux.

Tableau 02 : les résultats de spectrophotomètre à 765 nm pour les trois extraits des pétales de safran sèche et aussi leur moyenne, pour le dosage des polyphénols totaux.

Tableau 03 : les résultats de spectrophotomètre à 510 nm pour la gamme de la solution mère de catéchine à 1mg/ml, pour le dosage des flavonoïdes totaux.

Tableau 04 : les résultats de spectrophotomètre à 510 nm pour les trois extraits des pétales de safran sèche et aussi leur moyenne, pour le dosage des flavonoïdes totaux.

Tableau 05 : les résultats de spectrophotomètre à 440 nm pour la gamme de la solution mère de quercétine à 1mg/ml, pour le dosage des flavonols.

Tableau 06 : les résultats de spectrophotomètre à 440 nm pour les trois extraits des pétales de safran sèche et aussi leur moyenne, pour le dosage des flavonols.

Tableau 07 : les résultats de spectrophotomètre à 550 nm pour la gamme de la solution mère de catéchine à 1mg/ml, pour le dosage des tanins condensé.

Tableau 08 : les résultats de spectrophotomètre à 550 nm pour les trois extraits des pétales de safran sèche et aussi leur moyenne, pour le dosage des tanins condensé.

Tableau 09 : les résultats de spectrophotomètre à 660 nm pour la gamme de la solution mère d'acide gallique à 1mg/ml, pour le dosage des tanins hydrolysables.

Tableau 10 : les résultats de spectrophotomètre à 660 nm pour les trois extraits des pétales de safran sèche et aussi leur moyenne, pour le dosage des tanins hydrolysables.

Tableau 11 : les résultats de spectrophotomètre à 695 nm pour la gamme de la solution mère d'acide ascorbique à 1mg/ml, pour la CAT.

Tableau 12 : les résultats de spectrophotomètre à 695 nm pour les trois extraits des pétales de safran sèche et aussi leur moyenne, pour la CAT.

## Liste des abréviations

HPLC : Chromatographie Liquide à Haute Performance

CCM : Chromatographie sur Couche Mince

HF : les huiles fixes

H : hexane

DM : dichlorométhane

AC : acétone

ED : l'eau distillée

FAC : la fraction acétonique

FAQ : la fraction aqueuse

EDM : extrait dichlorométhanique

EAG : équivalents d'acide gallique

EC : équivalents de catéchine

EQ : équivalents de quercétine

EAA : équivalents d'acide ascorbique

MS : la matière sèche

TPT : la teneur en polyphénols totaux

TFT : la teneur en flavonoïdes totaux

PT : polyphénols totaux

PSS : les pétales de safran sèche

CAT : la capacité antioxydante totale

DMSO : le diméthylsulfoxyde

UV : ultra-violet

C : la concentration

R : Rendement.

P : poids

## **Introduction**

Les plantes ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'homme, elles ont toujours occupé une place importante en représentant une source de principe actif inépuisable et renouvelable dans différents domaines à savoir, les domaines alimentaires, médicinales, pharmaceutiques **(Teixeira et al., 2012)** et sont aussi reconnues pour leurs activités biologiques et leurs effets thérapeutiques, à savoir l'activité anti-oxydante, anti-cancérogène et anti-Alzheimer **(Rahimi, 2015 ; Bonnin, 2016)**. Cette importance attire l'attention des consommateurs ce qui a augmenté la demande des produits surtout agroalimentaires au niveau du marché international.

Ces plantes médicinales synthétisent de nombreux composés appelés des métabolites primaires et secondaires qui possèdent des activités biologiques nécessaires pour l'homme et l'écosystème. Les polyphénols constituent l'une des principales classes de métabolites secondaires qui se localisent généralement au niveau des différentes parties de la plante. L'importance de ces plantes attire l'attention des chercheurs dans l'intérêt de nombreuses études.

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. 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. Il est considéré comme une plante médicinale depuis l'Antiquité et aussi utilisé comme additif alimentaire pour sa couleur, son goût et son odeur **(Hosseini et al., 2018 ; Esmaeili et al., 2011)**.

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)**.

Notre travail est consacré à l'étude des pétales de la plante *Crocus sativus.L* récoltée de la région d'Ain Fezza Willaya de Tlemcen.

Les pétales de safran sont des composants les plus importants de la fleur de safran car ils constituent une source de composés bioactifs tels que les flavonoïdes, glycosides, kaempférol, des composés minéraux, et des anthocyanines ayant des activités physiologiques différentes (**Hossein Goli et al., 2012 ; Hosseini et al., 2018**).

Après avoir récolté les stigmates du safran, la partie fleurie est jeté comme un déchet dans la production d'épices compte tenu de sa quantité énorme. Une caractérisation des composés volatils présents dans la fleur a été effectuée en vue d'une valorisation aromatique (utilisés comme aromatisants dans les préparations alimentaires et parfums par industrie cosmétique) et thérapeutique des déchets floraux grâce à sa richesse en molécules bioactives (**Bergoin, 2005**). L'objectif de notre travail vise à démontrer la richesse des pétales de safran en composés phénolique et leur effets antioxydant à partir d'une seule méthode d'extractions qui est la macération en utilisant trois solvants différents et de polarité différente.

Ce manuscrit est divisé en trois chapitres :

- La première partie de ce manuscrit porte sur une mise au point bibliographique de la plantes *Crocus sativus.L* et leur pétales ainsi que les polyphénols et les solvants organiques.
- La deuxième partie est consacrée à la description des principes et les détails pratiques des techniques expérimentales employées pour réaliser ce travail.
- La troisième partie est réservée aux résultats et interprétation suivi d'une discussion.

Et en fin, on termine notre travail par une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus dans cette étude.

# *Synthèse bibliographique*

## **Chapitre I : Généralités sur le safran**

### **I.1. Historique**

À partir du IX<sup>e</sup> siècle, la culture du safran apparaît en Europe occidentale apportée par les arabes en Afrique du Nord et par la suite en Espagne (**Elliott, 2006**).

De nos jours, le safran est produit majoritairement en Iran, en Espagne, en Inde, en Grèce et au Maroc qui sont les principaux pays exportateurs de cette épice dans le monde (**Fernández, 2004**).

Les stigmates du safran sont utilisés comme médicament il y a plus de 3600 ans il a gagné sa popularité à la fois comme médicament et comme épice (**Seddiqui et al., 2018**).

Utilisé par les égyptiens et les hébreux pour aromatiser et colorer les aliments dans les fêtes religieuses, le safran a ensuite été transmis aux grecs et aux romains, qui en ont fait différents usages : dans l'art culinaire, en parfumerie, en teinture, en pharmacopée, et dans certains rites religieux. Il en a été de même en Inde où il est encore utilisé aujourd'hui (**Pierlot, 1925**).

### **I.2. Définition**

Le nom "safran" est dérivé du latin safranum, lui-même inspiré de l'arabe "zaafarân" dont la racine exprime une notion essentielle de 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 "cultiver", car le *Crocus sativus*, par sa reproduction végétative, ne peut se multiplier sans la main de l'homme (**Dupont, 2001**).

Le safran qui est tiré de la fleur de *Crocus sativus* par déshydratation de ses trois stigmates rouges, présente la précieuse épice qui suit le cours de l'or, famille Iridaceae (**Eirini et al., 2015**), il a un parfum intense avec un goût légèrement amer et produit une solution jaune orange vif lorsqu'il est trempé dans de l'eau chaude (**Seddiqui et al., 2018**). Le safran est connu comme l'épice la plus chère et la plus attrayante au monde lui a valu son surnom d'or rouge, pour les caractéristiques exceptionnelles de ces stigmates sec particulièrement le pouvoir colorant, la saveur et l'arôme (**Zakaria et al., 2017**).

Avec le style, la tige reliant les stigmates au reste de la plante est souvent séchée et utilisée en cuisine comme assaisonnement et colorant ; les fleurs sont hermaphrodites (ont des organes mâles et femelles) et sont pollinisées par les abeilles et les papillons. La plante préfère les sols

légers (sableux) et moyens (limoneux), nécessite un sol bien drainé et peut pousser dans un sol pauvre en nutriment (**Rahimi, 2015**).

Le safran a gagné sa popularité à la fois comme médicament et comme épice. C'est un habitant de différentes régions montagneuses d'Asie mineure en Grèce, en Asie occidentale, en Égypte et en Inde (**Seddiqui et al., 2018**).

L'impact économique du safran est important en raison de son prix élevé, car il présente une forte valeur ajoutée. Outre son importance économique se situe également dans le domaine agronomique, environnemental et social (**Mzabri et al., 2019**).

### **I.3. Noms communs**

Tableau 01 : Noms communs du safran (**Oubahou, 2002**).

| Régions  | Noms  |
|----------|---|
| Arabe    | Azzaàfarane (الزعفران)<br>Azzaàfarane Alhor (الزعفران الحر)<br>Azzaàfarane Chaàra (زعفران شعرة) |
| Français | Safran, Safran cultivé, Safran de Gâtinais  |
| Anglais  | Saffron   |
| Espagnol | Azafràn, Croco, Flor de azafràn, Zafràn   |

### **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 ; Tensher et al., 2005**).

La production annuelle totale du safran est estimée à 205 tonnes par ans. L'Iran produirait 80% de ce total (Tableau 02) ; soit 160 tonnes, et la province de Khorasan à elle seule 137 tonnes du

total. La région du Cachemire en Inde produit entre 8 et 10 tonnes, principalement dédiées à l'autoconsommation de l'Inde. La production grecque est de 4 à 6 tonnes par ans. Le Maroc produit entre 0,8 et 1 tonne (Evrin, 2007).



Figure 01 : principales nations productrices de safran (France, 2013).

Le tableau suivant s'explique la production mondiale du safran dans différents pays :

Tableau 02 : Principaux pays producteurs du safran (Bergoin, 2005).

| Rang         | Pays    | Récoltes<br>2004-2008(Kg) | Production<br>moyenne(kg/an) | Production<br>mondiale (%) |
|--------------|---------|---------------------------|------------------------------|----------------------------|
| 1            | Iran    | 90000 à 235000            | 180000                       | 90.1%                      |
| 2            | Inde    | 7000 à 12500              | 9000                         | 4.5%                       |
| 3            | Grèce   | 5300 à 5700               | 5500                         | 2.8%                       |
| 4            | Maroc   | 2500 à 3000               | 3000                         | 1.5%                       |
| 5            | Espagne | 700 à 1330                | 1000                         | 0.5%                       |
| -            | Autre   |                           | 1200                         | 0.6%                       |
| <b>TOTAL</b> |         |                           | 199700                       | 100%                       |

## Chapitre II : Étude botanique du safran

### II.1. Classification

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 (**Heywood, 1996**). *Crocus sativus* est la seule espèce de *Crocus* produisant le safran ; sa classification taxonomique est présente dans la tableau suivante (**Winterhalter et Straubinger, 2000**) :

Tableau 03 : Classification botanique de *Crocus sativus* (**Winterhalter et Straubinger, 2000**).

|   |   |
|---|---|
| <b>Règne :</b> végétale                 | <p>Figure 02 : <i>Crocus sativus</i> L.</p>  |
| <b>Division :</b> Spermatophyte         |   |
| <b>Sous-division :</b> Angiosperme      |   |
| <b>Classe :</b> Monocotylédone          |   |
| <b>Sous-classe :</b> Liliidés           |   |
| <b>Ordre :</b> Liliales                 |   |
| <b>Famille :</b> Iridacées              |   |
| <b>Sous famille :</b> Crocoidés         |   |
| <b>Genre :</b> <i>Crocus</i>            |   |
| <b>Espèce :</b> <i>Crocus sativus</i> L |   |

La famille des Iridacées comprend 1 800 espèces dont les Iris, les Glaïeuls et les Crocus. Ces Plantes ont pour caractéristiques communes un ovaire infère et un androcée comportant 3 étamines disposées en un seul verticille. Parmi les 85 espèces appartenant au genre *Crocus*.

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**).

## II.2. Description de la plante

Le *Crocus* domestique (*Crocus sativus*.L) est une plante inconnue à l'état sauvage qui a eu besoin de la main de l'homme pour subsister (**Chevalier, 1926**).

Triploïde et stérile, il se reproduit par multiplication végétative grâce à son corne, organe de réserve ressemblant à un bulbe (**Arvy et Gallouin, 2003**).

Sa corne en fait une plante pérenne, vivace puisqu'il lui permet d'emmagasinier des réserves tout au long de l'hiver. Contrairement aux autres espèces de crocus printaniers tel que *C.vernus*, *C.sativus* possède comme caractéristique une végétation inversée ; en effet, la floraison a lieu en octobre-novembre alors que la période de dormance se fait durant les mois estivaux.

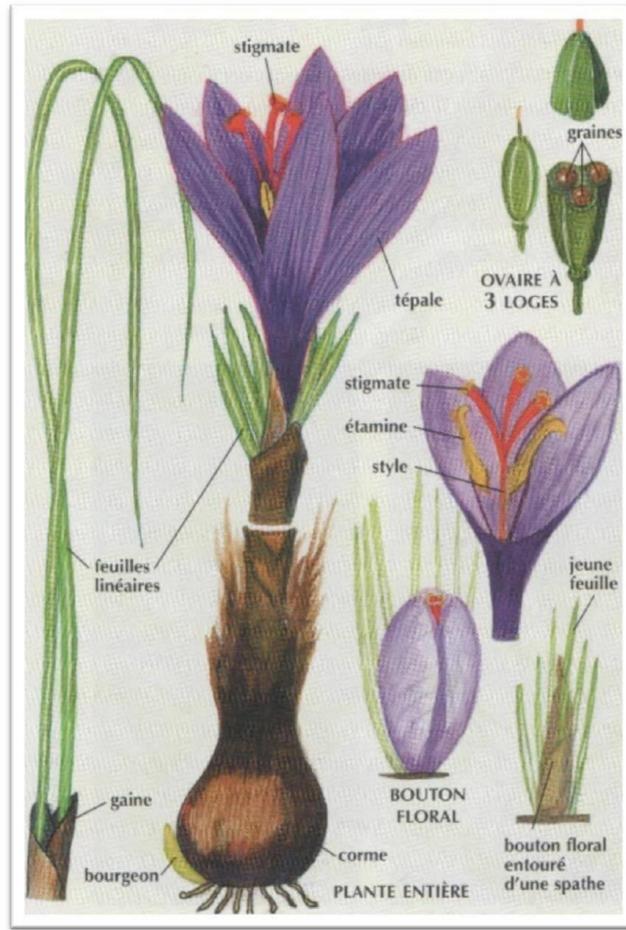


Figure 03 : aspect général de *Crocus sativus* L (Arvy & Gallouin 2003).

Les fleurs de *Crocus sativus* commencent à voir le jour dès le début de l'automne, vers la fin du mois de septembre. D'une gaine blanche, translucide nommée spathe sortira un bouton floral d'une couleur pourpre.

Sortant de terre par temps frais et humide, la fleur apparaît grande, solitaire, presque régulière et hermaphrodite pour ensuite faner en vingt-quatre à quarante-huit heures.

En effet, cette fleur de couleur violette, est constituée de six tépales avec trois sépales sur le verticille extérieur, et aussi composée de 6 pétales, de trois étamines jaunes et d'un pistil se divisant en 3 longs stigmates de couleur rouge (orangé) vif brillant et velouté de 3 à 4 cm, et de trois carpelles. Avec un périanthe tubulaire allongé comprenant 6 pièces disposées en verticilles trimères (Crozet, 2012).



Figure 04 : bouton floral dans sa spathe translucide à gauche (**Anonyme 01**) et fleur de crocus à droite (**Anonyme 02**).

### **Chapitre III : Étude phytochimique du safran**

#### **III.1. Composition chimique de safran**

Le safran contient plus de 150 composés volatils et générateurs d'arômes il contient également de nombreux composants actifs non volatils (**Abdullaev, 2002**), les principaux sont des caroténoïdes, y compris la zéaxanthine, le lycopène et divers  $\alpha$ -et  $\beta$ -carotènes mais aussi il y a les flavonoïdes (quercétines et kaempférols). Ces composés ont été identifiés par HPLC (**Lech et al., 2009**).

Les substances volatiles à très forte odeur correspondent à plus de 34 composants qui sont principalement des terpènes, les alcools terpéniques et leurs esters. Les non-volatils comprennent les crocines qui sont responsables de la couleur rouge ou brun rougeâtre des stigmates avec les carotènes, la crocétine (**Zakaria et al., 2018**), la picrocrocine (un précurseur glycosidique du safranale), la substance amère (**Julio et José-Antonio, 1996 ; Abdellah et Mohammed ; Claire, 2015**) et le safranale le principal organoleptique majeur des stigmates (**Aloson, 2001 ; Geneva, 2003 ; Rahimi, 2015**). Les principaux composants biologiquement actifs trouvés dans le safran, sont cités ci-dessous :

##### **III.1.1. Crocine (C<sub>44</sub>H<sub>64</sub>O<sub>24</sub>)**

Appartient à la famille des caroténoïdes est la dérive de la crocétine, responsables de la couleur jaune-orangée de l'épice, constituent environ 6 à 16% de la matière sèche totale du safran et elle est soluble dans l'eau. Se caractérise par une activité antioxydante et antitumorale (**Gutheil et al., 2012**).

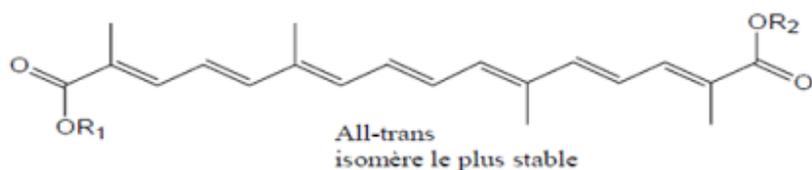


Figure 05 : Structure chimique de crocine (John et Leffingwell, 2002).

### III.1.2. Picrocrocine (C<sub>16</sub>H<sub>26</sub>O<sub>7</sub>)

C'est un glycoside sans couleur et sans odeur, issu de la dégradation du zéaxanthine et un précurseur de safranal (Melnyk et al., 2010). Responsable de la saveur amère du safran et peut comprendre jusqu'à 4 % de safran sec (Palomares, 2015).

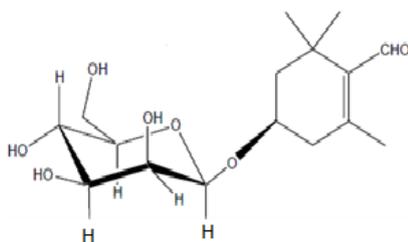


Figure 06 : Structure de picrocrocine (Palomares, 2015).

### III.1.3. Safranal ou huile essentielle (C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>O)

C'est une molécule volatile présente sous forme d'huile essentielle, responsable de l'odeur et l'arôme du safran, il représente 82,82 % des composants volatils (Hu et al., 2008). Cette molécule produite par l'hydrolyse de la picrocrocine. Les conditions de séchage et de stockage sont des facteurs principaux pour la détermination de la concentration en safranal (Palomares, 2015).

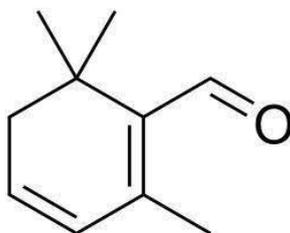


Figure 07 : Structure du safranal (Ramin et Hossein, 2013).

### III.1.4. Les flavonoïdes

Les flavonols porte le nom des kaempférols sont des composants de safran, avec la quercétine et l'isorhamnétine qui ont été identifiées au niveau des pétales (Goupy et al., 2013).

La détermination de la composition chimique du safran est délicate, car elle suppose une identification botanique correcte, des stigmates non altérés et sans déchets floraux (Benmostefa et Guellil, 2017).

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

Tableau 04 : La composition chimique de safran (Rahimi, 2015).

| Les composants   | La masse en pourcentage | Les composants   | La masse en pourcentage |
|------------------|-------------------------|--|-------------------------|
| Eau              | 14 à 19 %               | Glucide :<br>Glucose, fructose,<br>gentibose, xylose et<br>ramones.          | 12 à 15 %               |
| Fibres           | 4 à 5 %                 | Vitamines :<br>B2 ou riboflavine   | 56,4 à 138 µg/g         |
| Matières azotées | 11 à 13 %               | Vitamines :<br>B1 ou thiamine  | 4,0 à 0,9 µg/g          |
| Cellulose        | 4 à 7 %                 | Acides gras :<br>Acides palmitique,<br>stéarique, oléique, et<br>linoléique. | 5 %                     |

|   |           |   |  |
|---|-----------|---|--|
| <b>Polypeptides</b>   | 11 à 14 % | <b>Caroténoïdes :<br/><math>\alpha</math>, <math>\beta</math>, et <math>\gamma</math>-crocétine,<br/>crocine,<br/>picrocrocine, <math>\alpha</math> et <math>\beta</math>-<br/>carotène, lycopène,<br/>phytoène et<br/>zéaxanthine.</b> | Crocine 10%<br><br>picrocrocine 4 %          |
| <b>Lipides :<br/>campestérol,<br/>stigmastérol et <math>\beta</math>-<br/>sitostérol.</b> | 3 à 8 %   | <b>Huiles essentielles</b>  | 0,3 à 2,0 % où<br>domine le safranal<br>60 % |
| <b>Matières minérales</b>   | 1 à 1.5 % | <b>Divers, non azotés</b>   | 40 %   |

Cependant, les proportions de ces constituants peuvent varier en raison des conditions de croissance et du pays d'origine (Melnyk, 2010).

#### **Chapitre IV : Emplois du safran**

Actuellement, les essais cliniques démontrent le potentiel du safran en tant qu'agent antioxydant et comme anticancéreux (Verma et Bordia, 1998 ; Chryssanthi et al., 2011), et utilisée dans le domaine des cosmétiques, des teintures et dans la médecine traditionnelle (Claire, 2015).

##### **IV.1. Usages et l'effets pharmaceutiques (safran en thérapeutique)**

Depuis l'Antiquité, des vertus thérapeutiques ont été attribuées au safran : sédatif nerveux, stomachique, antispasmodique, diaphorétique, emménagogue, stimulant (Sampathu et al., 1984), antioxydant, anti-carcinogène, antidote, antidépresseur, anxiolytique, aphrodisiaque, analgésique, anti-ischémique et effet anti-inflammatoire (Rahimi, 2015 ; Claire, 2015), utilisent également dans certains traitement contre les affections sanguines, l'insomnie , la paralysie, les maladies cardiaques, les flatulences, les indigestions et maux d'estomac, la dysménorrhée, l'aménorrhée et divers désordres oculaires (Abdullaev, 2002).

## **IV.2. Autres usages**

Les stigmates de safran par la crocine et le flavonoïde produisent une lumineuse couleur jaune-orangée. L'intense jaune-orangé se dégrade rapidement en jaune pâle et crémeux (**Willard, 2001**). Dans l'industrie agroalimentaire, le colorant du safran est utilisé dans la coloration du beurre, le fromage, certaines sauces, diverses pâtisseries, des liqueurs, des bonbons (**Chevalier, 1926**), il joue encore un rôle important pour teindre certains tapis d'orient, les tissus (**Chevalier, 1926 ; Teusher, 2005**).

En cosmétologies, le safran est employé par les femmes pour obtenir une peau douce et jaune, le crayon khôl maquiller les yeux en noir (**Lazérat, 2009**), le fluide et les crèmes hydratantes, nourrissantes et anti-âges (**Kesari, 2014**), des masques revitalisant des sérums antirides (**phylactiv, 2014**), le safran a également été employé pour ses seules propriétés aromatiques pour la fabrication de divers parfums (**Chevalier, 1926**) par exemple le kyphi de Cléopâtre en Égypte antique, libère une odeur aromatique douce, tout en calmant et apaisant les esprits (**Favre, 2008 ; Lazérat, 2009**).

Pour le grand public, le safran est surtout connu comme une épice que l'on incorpore à de nombreux plats. Il est employé dans les cuisines arabes, européenne, indienne, iranienne et d'Asie centrale dans de nombreux plats salés ou sucrés, lors de repas ordinaires ou festifs notamment dans la préparation de la bouillabaisse, du riz (**Chevalier, 1926**) et la zarzuela, à base de poisson (**Hill, 2004**).

Le safran peut être mélangé avec d'autres épices (thym, cannelle, gingembre, ail), il va alors agir comme exhausteur de goût, dans ce cas le safran est un complément alimentaire (**Nathalie, 2014**).

## **Chapitre V : Les pétales de safran**

### **V.1. Définition**

Les pétales de safran sont les principaux sous-produits de la transformation du safran, sont moins cher et produite à une grande quantité par rapport aux stigmates de plus de 10 000 tonnes par an, mais généralement ne sont pas utilisés est presque totalement négligés sur le plan commercial et rejetés après la récolte (**Hossein Goli et al., 2012**).

Les pétales de safran contiennent plusieurs propriétés physicochimiques tel que les protéines, les graisses, les cendres, les fibres (**Fahim et al., 2012**), et aussi sont riches en composés phénoliques tel que les flavonoles (kaempférol) (**Hadizadeh et al., 2003 ; Zeka et al., 2015**),

des caroténoïdes (crocine, et crocétine) (Zeka et al., 2015), d'anthocyanines qui donnent la couleur violette des pétales (Khazaei et al., 2015), et de terpénoïdes tels que les crocusatines avec une activité antityrosinase (Li et al., 2004), d'alcaloïdes (Termentzi et Kokkalou, 2008), et des tanins (Hosseinzadeh et Younesi, 2002). Ils possèdent plusieurs propriétés biologique et pharmacologiques (Astareï et al., 2006).

## V.2. Caractérisations et applications

Différents aspects de la fleur ont été étudiés : son arôme, ses pigments et l'activité biologique de certaines de ses molécules.

- L'arôme

Les fleurs de safran, après en avoir retiré l'épice, dégagent une odeur "florale" agréable de "rose miellée" forte et enivrante.

- Les pigments

Dans les fleurs de safran on a deux anthocyanines violettes. La structure générale de ces pigments hydrosolubles est basée sur le cation 3,5,7,3',4'-pentahydroxyflavylium, la cyanidine (Saitô et al., 1960).

Une Chromatographie sur Couche Mince CCM de l'extrait méthanolique de pétale révèle un diglucoside de delphinidine et un glycoside de pétunidine en proportion 4/1.

Dans un extrait aqueux de pétales on a trois flavonols : les aglycones de myricétine, de quercétine et de kaempférol (Garrido et al., 1987).

Les extraits alcooliques et aqueux des pétales de crocus ne contiennent pas de caroténoïdes. (Ebrahimzadeh et Radjabian, 1998).

- L'activité biologique

Les extraits aqueux de pétales de crocus possèdent plusieurs activités. Les composés phénoliques sont les composés biologiquement actifs dans les pétales. Le kaempférol, isolé des pétales de fleurs fraîches permet d'inhiber l'oxydation de (L-DOPA). Son activité provient de sa capacité à chélater le cuivre dans l'enzyme. La tyrosinase catalyse deux réactions de synthèse de la mélanine et est connue comme étant une polyphénol oxydase, ce qui provoque le brunissement des produits alimentaires. Son inhibition aurait une application dans le domaine alimentaire, médical et cosmétique (Kubo et Kinst-Hori, 1999).

Li, (Li Chia-Ying et al., 2004), a isolé d'autres composés ayant cette même activité dans les pétales : le 4,5-dihydroxy-2,6,6-triméthylcyclohex-1-énal, le 3-hydroxy-2,6,6-triméthyl-4-oxocyclohexènylméthanol, le 4-hydroxy-3,5,5-triméthylcyclohex-2-ènone, l'acide protocatéchique et le 7-O-β-D-glucopyranoside kaempférol.

Les extraits alcoolique et aqueux des pétales chez la souris possèdent l'activité antinociceptive et antiinflammatoire (Hosseinzadeh et Younesi Hani, 2002).

### V.3. Composition chimique des pétales de safran

Des données moyennes de l'analyse chimique des pétales du safran sont indiquées dans le tableau ci-dessous :

Tableau 05 : La composition chimique des pétales du safran.

| Les composants                       | La masse en pourcentage | La source                                 |
|--------------------------------------|-------------------------|---|
| Protéines                            | 10.20 %                 | (Fahim et al, 2012)                       |
| Graisses                             | 5.3 %                   | (Fahim et al, 2012)                       |
| Cendres                              | 7 %                     | (Fahim et al, 2012)                       |
| Fibres                               | 8.80 %                  | (Fahim et al, 2012)                       |
| flavonoles (kaempférol)              | 12.6 %                  | (Hadizadeh et al, 2003 ; eka et al, 2015) |
| Caroténoïdes (crocine, et crocétine) | 0.6 %                   | (eka et al, 2015)                         |
| D'anthocyanines                      | 1712.19 mg/l            | (Khazaei et al, 2016)                     |

La teneur en minéraux des pétales de safran est indiquée dans le tableau dans 100g des pétales (Fahim et al., 2012).

Tableau 06 : Les compositions minérales des pétales de safran (Fahim et al., 2012).

| Les minéraux | Le montant   |
|--------------|--------------|
| Sodium (Na)  | 25.75mg/100g |

|                       |                |
|-----------------------|----------------|
| <b>Potassium (K)</b>  | 542.13 mg/100g |
| <b>Calcium (Ca)</b>   | 486.25 mg/100g |
| <b>Cuivre (Cu)</b>    | 0.87 mg/100g   |
| <b>Fer (Fe)</b>       | 17.99 mg/100g  |
| <b>Magnésium (Mg)</b> | 2.93 mg/100g   |
| <b>Zinc (Zn)</b>      | 1.80 mg/100g   |
| <b>Phosphore (P)</b>  | 209.90 mg/100g |

#### V.4. Les effets thérapeutiques des pétales de safran

Les effets thérapeutiques des pétales du safran sont indiqués dans le tableau ci-dessous :

Tableau 07 : Les effets thérapeutiques des pétales de safran.

| <b>Les effets thérapeutiques</b>      | <b>La cause de l'effet</b>   | <b>La source</b>                       |
|---------------------------------------|--|--|
| Antinociceptive et anti-inflammatoire | Cet effet peut être dû à leur contenu en flavonoïdes, tanins, anthocyanines, alcaloïdes et saponines.                                      | <b>(Hosseinzadeh et Younesi, 2002)</b> |
| Antidépresseur                        | Dépend de kaempférol qui est un composé actif.   | <b>(Hosseinzadeh et al., 2007)</b>     |
| Antidiabétique                        | L'extrait de pétales de safran protège contre la néphropathie induite par les streptozotocines.  | <b>(Zarez et al., 2017)</b>            |
| Antioxydant                           | Les pétales de safran augmentent la teneur en antioxydants par l'élimination des radicaux libres et la réduction des dommages cellulaires. | <b>(Ardalan et al., 2012)</b>          |

|                |  |                           |
|----------------|--|---------------------------|
| Antimicrobien  | L'extrait méthanolique des pétales de safran a montré une activité antimicrobienne, cet effet lié à la présence de composés phénoliques. | (Asgarpanah et al., 2013) |
| Rénoprotecteur | L'extrait des pétales de safran a réduit la toxicité rénale par la réduction des taux d'acide urique et de créatinine.                   | (Omidi et al., 2015)      |

## Chapitre V : Les polyphénols (Les métabolites secondaires)

### VI.1. Les composés phénoliques

#### VI.1.1. Généralités

Les plantes produisent un grand nombre de composés pour lesquels on ne sait pas toujours le rôle qu'ils jouent pour la plante. Ces composés ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse mais résultants de réactions chimiques ultérieures, on les appelle donc métabolites secondaires (**Chalandre, 2000**).

Les métabolites secondaires appartiennent à des groupes chimiques très variés tels les alcaloïdes, les terpènes, les composés phénoliques, etc. (**Macheix et al., 2006**).

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires végétaux. Ils peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes (d'où la dénomination de métabolites secondaires).

Ces composés ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles. La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) vers les molécules les plus hautement polymérisées (tanins condensés). Avec plus de 8000 structures phénoliques identifiées (**Urquiaga et Leighton, 2000**).

Les composés phénoliques peuvent constituer des signaux de reconnaissance entre les plantes, ou bien lui permettant de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes. Ils participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux à des stress variés, donc ces

composés jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel, D'un point de vue thérapeutique, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve dans les plantes médicinales (**Macheix et al, 2005**).

Les polyphénols regroupent différentes classes de molécules, principalement les acides phénoliques et les flavonoïdes mais aussi les lignanes et les stilbènes aux effets de type oestrogénique bien connus (**Renaud, 1992**).

## VI.1.2. Principales classes des polyphénols

### VI.1.2.1. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques ou acides phénols sont constitués de deux sous-groupes : Les acides hydroxybenzoïques, qui ont en commun la structure en C6-C1 et les acides hydroxycinnamiques, des composés aromatiques avec une chaîne latérale à trois carbones (C6-C3).

Parmi les acides phénoliques on cite : acide chlorogénique, acide caféique, acide protocatéchique, acide vanillique et acide gallique (**HALE, 2003**).

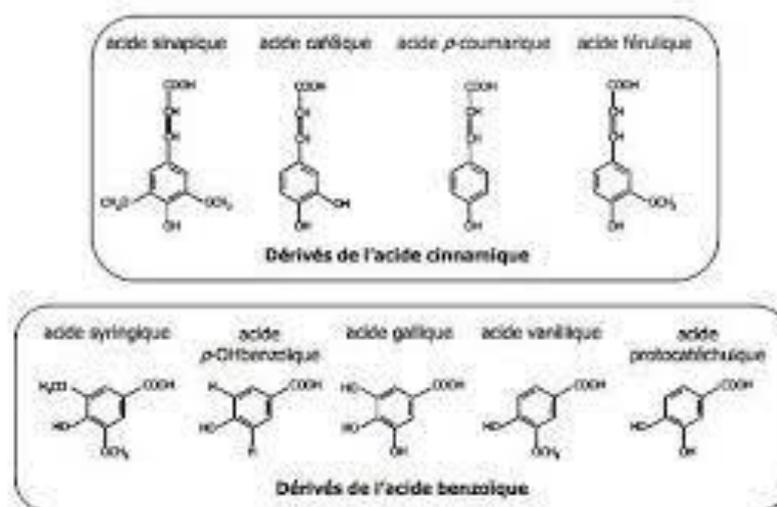


Figure 08 : Les structures chimiques des différents acides phénoliques (**Anne-Laure, 2007**).

### VI.1.2.2. Les tanins

Les tanins sont des composés phénoliques complexes, hydrosolubles ayant un poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da (**Kamra et al., 2006**). Ils se localisent dans divers organes : racine ou rhizome, écorce, feuilles, fleurs, fruit, graines. On observe surtout une accumulation dans les écorces âgées et les tissus d'origine pathologiques.

On distingue 2 groupes de tanins différents par leurs structures et également par leurs origines biogénétiques : Tanins hydrolysables et Tanins condensés.

#### VI.1.2.2.1. Les tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont des esters d'un sucre simple (glucose ou xylose principalement) et d'acides phénoliques. Ils peuvent être dégradés par hydrolyse chimique (acide ou alcaline) ou enzymatique. Les acides phénoliques libérés sont l'acide gallique dans le cas des gallotannins et l'acide ellagique dans le cas des ellagitannins (Zimmer et Cordesse, 1996 ; Derbel et Ghedira, 2005).

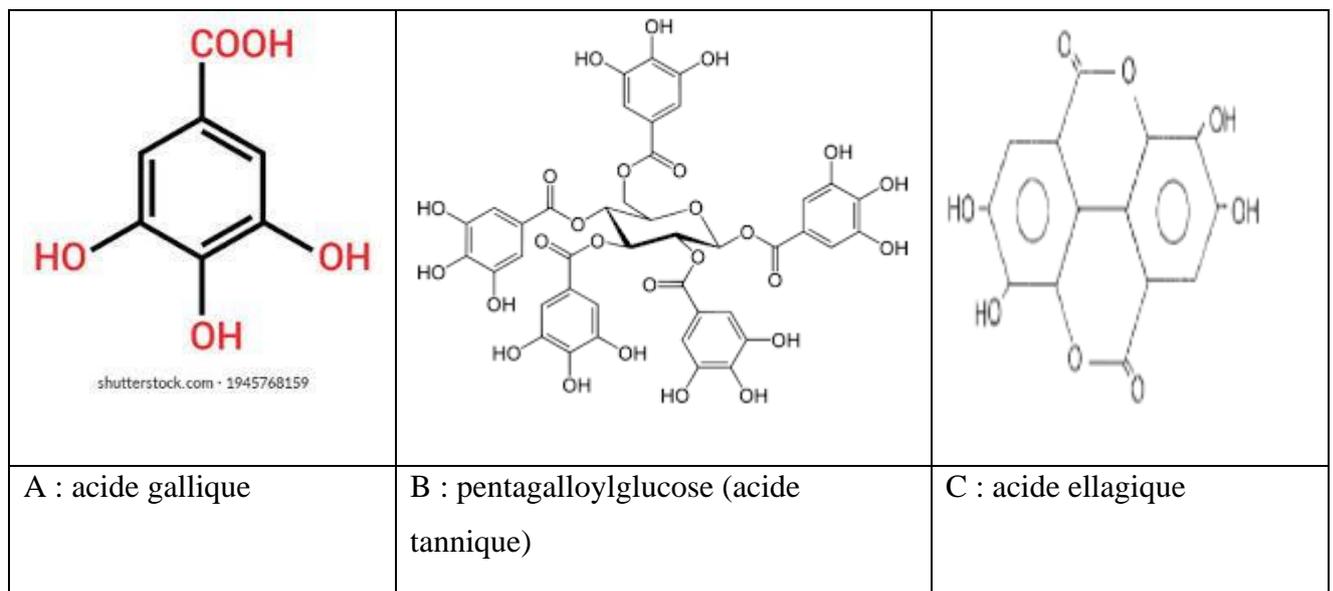


Figure 09 : Structure de l'acide gallique (A), d'un exemple de tanins hydrolysables (B) et de l'acide ellagique (C) (Derbel et Ghedira, 2005 ; Nicholson et Vermerris, 2006).

#### VI.1.2.2.2. Les tanins condensés (pyrocatechique ou proanthocyanidols)

Les tanins condensés sont des polymères d'unités flavaniques, le plus souvent liées entre elles par des liaisons C4-C8. Les précurseurs sont des flavan-3-ols (catéchine et épicatechine) et des flavan- 3,4 diols (Zimmer et Cordesse, 1996).

Ils diffèrent des tanins hydrolysables par :

- Une structure voisine à celle des flavonoïdes.
- Absence de partie osidique.

- Non hydrolysables, en milieu acide fort et à chaud ils se polymérisent en donnant des précipités insolubles rouges bruns appelés phlobaphènes.

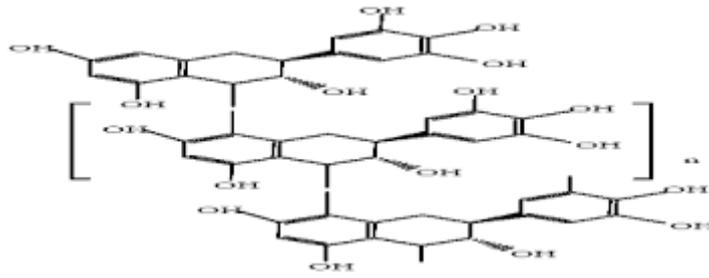


Figure 10 : Exemple de structure d'un tannin condensé (Macheix et al., 2006).

### VI.1.2.3. Les flavonoïdes

C'est le groupe le plus représentatif des composés phénoliques, ces molécules ont des structures chimiques variées et des caractéristiques propres (Benhammou, 2012). Ils sont considérés comme des pigments, quasiment universels, des végétaux et souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. À l'état naturel, les flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme d'hétérosides (Bruneton, 1999 ; Ghestem et al., 2001). Du point de vue structural, ces composés ont une structure de base formée de 2 noyaux benzéniques A et B reliés par un noyau C qui est un hétérocycle pyranique (Lobstein, 2010).

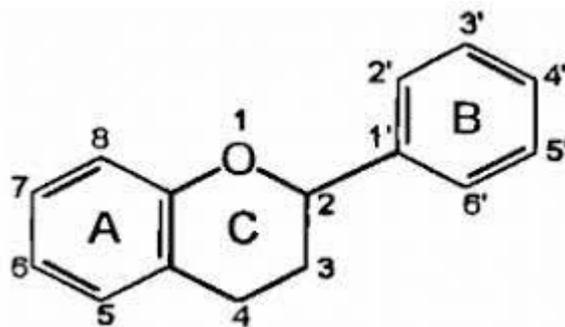


Figure 11 : Structure chimique de base des flavonoïdes (Krishna et al., 2001).

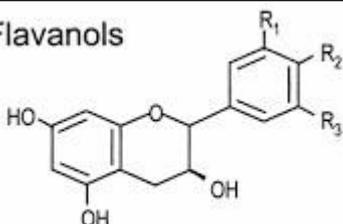
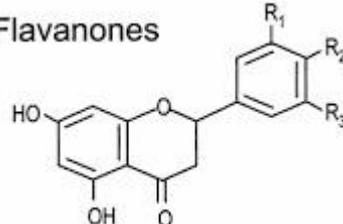
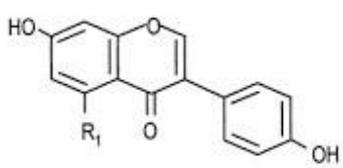
Des variations dans des modèles de substitution dans le cycle C a pour résultat les principales classes de flavonoïdes [les flavones, les flavonols, les flavanes, les flavanones, et les anthocyanidines (Tableau 08)] (Balasundram et al., 2006).

Des substituants des cycles A et B donnent naissance à des composés différents à l'intérieur de chaque classe de flavonoïdes. Ces substitutions peuvent impliquer l'oxygénation, l'alkylation, la glycosylation, l'acylation et la sulfatation (Balasundram et al., 2006).

Les principales catégories de flavonoïdes sont définies par :

- La présence ou l'absence d'une double liaison entre les carbones 2 et 3 du cycle C, qui déterminent la planéité de la molécule. Les flavones, flavonols et dérivés présentent une double liaison et sont des molécules planes, contrairement aux flavanes, flavanones et dérivés.
- La présence de fonctions cétones, alcools et méthoxy (**Gavot, 2009**).

Tableau 08 : Principales classes des flavonoïdes avec quelques exemples (**Aruoma et al, 2003**).

| Classes         | Structure chimique  | R1 | R2 | R3 | Exemples      |
|-----------------|---|----|----|----|---------------|
| Flavanols       | <p>Flavanols</p>         | OH | OH | H  | Catéchine     |
| Flavanones      | <p>Flavanones</p>       | H  | OH | H  | Naringénine   |
|                 |   | OH | OH | H  | Eriodictyol   |
| Isoflavones     | <p>Isoflavones</p>     | OH | OH | OH | Genisteine    |
| Anthocyanidines | <p>Anthocyanidins</p>  | H  | OH | H  | Pelargonidine |
|                 |   | OH | OH | H  | Cyanidine     |
|                 |   | OH | OH | OH | Delphénidine  |

### **VI.1.3. Effets bénéfiques des polyphénols**

Plusieurs études épidémiologiques suggèrent une contribution des polyphénols aux effets bénéfiques d'une alimentation riche en fruits et légumes, céréales, légumineuses et fruits secs.

Des études chez des modèles animaux et chez l'homme montrent que les polyphénols agiraient sur les facteurs du syndrome métabolique, en améliorant le métabolisme des lipides, des glucides et la sensibilité à l'insuline.

L'administration de différents polyphénols améliore la sensibilité à l'insuline et augmente les taux plasmatiques d'adiponectine, connue pour potentialiser les effets de l'insuline.

Puisque les polyphénols circulent en faible concentration dans le plasma et, généralement, sous des formes conjuguées, leurs effets antioxydants directs sont peu probables *in vivo* (**Orgaard et Jensen, 2008**).

Plusieurs études conduites *in vitro* montrent que les polyphénols interviendraient dans des mécanismes non antioxydants, incluant la régulation génique via différentes voies de signalisation intracellulaire (**Terra et al., 2007**).

Cependant, les études sur les mécanismes moléculaires avec les formes circulantes des polyphénols sont encore très rares.

Les polyphénols auraient des actions sur les facteurs impliqués dans le syndrome métabolique et les complications qui leur sont associées.

Les polyphénols auraient une action protectrice contre les maladies dégénératives chroniques (cataractes, macular dégénération, maladies neuro-dégénératives, et diabète), cancer et maladies cardiovasculaires (**Scalbert et al., 2005**).

Les polyphénols ont aussi des actions dans la fertilité, la pigmentation, la signalisation et la protection contre des agents biotiques et abiotiques et encore dans la formation de polymères structuraux comme la lignine (**Guignard et al., 1985 ; Macheix et al., 2006**).

### **VI.1.4. Applications industrielles des polyphénols**

Grace aux propriétés biologiques qu'ils possèdent, les polyphénols, ont été exploitées, et utilisées dans de nombreux domaines industriels : en agroalimentaire, en cosmétique et dans l'industrie pharmaceutique.

Les propriétés antimicrobiennes de certains polyphénols comme les flavanols et les tanins, permettent de développer des conservateurs alimentaires et de nouvelles thérapies dans de nombreuses maladies infectieuses en considérant la résistance microbienne face à certains traitements antibiotiques (**Daglia, 2012**).

La capacité antioxydante de composés comme les polyphénols est utilisée dans l'alimentation pour lutter contre la peroxydation lipidique et ainsi permettre une meilleure stabilisation des denrées alimentaires.

Les polyphénols sont également préconisés pour améliorer la stabilité de pigments de jus colorés, d'arômes alimentaires, aussi ils rentrent dans la composition des produits pharmaceutiques et cosmétiques (**Moure et al., 2001**).

Enfin, l'effet de certains flavonoïdes en médecine humaine est de plus en plus étudié dans le traitement de certaines maladies, et particulièrement pour le contrôle du virus de l'immunodéficience, le principal responsable du SIDA (**Sartori-thiel, 2003**).

## **Chapitre VII : les solvants organiques**

### **VII.1. Définitions**

Un solvant est une substance qui a le pouvoir de former avec d'autres substances une solution homogène. Les solvants sont ainsi utilisés pour extraire (industrie chimique, pétrochimique, pharmaceutique et alimentaire), dissoudre (dégraissage) et suspendre (peintures) des substances généralement insolubles dans l'eau ou pour modifier les propriétés physiques d'un matériau (exemple : Diluant).

Un solvant est un liquide qui a la propriété de dissoudre et de diluer d'autres substances sans les modifier chimiquement et sans lui-même se modifier. C'est un liquide qui permet, après ajouts des réactifs, d'obtenir une phase liquide homogène.

Le terme solvant organique se réfère aux solvants qui sont des composés organiques qui contiennent des atomes de carbone.

Les solvants peuvent aussi être utilisés pour extraire les composés solubles d'un mélange, l'exemple le plus commun étant l'infusion de thé dans de l'eau chaude (L'eau, est le solvant le plus couramment utilisé) (**Anonyme 03**).

## VII.2. Propriétés physico-chimiques

### VII.2.1. La polarité

Les solvants polaires sont des solvants portant des atomes porteurs de charges électriques différentes plus ou moins marquées au sein de leurs molécules tels que les liaisons OH. Ce partage inéquitable des charges, transforme le couple atomique en dipôle. Ils peuvent grâce à cela se lier plus ou moins fortement à des produits eux-mêmes porteurs de charges, comme les sels minéraux, les acides, les bases, certains composés métalliques, certains sels organiques ....

Ex : H<sub>2</sub>O, acides, bases, alcools, cétones éthers de glycol ou amines ....

Les solvants apolaires, lipophiles et hydrophobes sont des molécules qui présentent un partage égal d'électrons entre deux atomes ou en raison de la disposition symétrique des liaisons polaires. Ces solvants sont souvent volatils et présentent souvent des toxicités et des inflammabilités qui les rendent délicats voire impropres à l'usage courant. Les graisses, l'huile, l'essence sont non polaires et sont solubles dans les solvants apolaires.

Ex : Hydrocarbures aliphatiques, aromatiques, halogénés...

Selon leur structure moléculaire, les solvants sont classés aussi en :

- Solvants protiques polaires (solvants protogènes) : possédant un ou plusieurs atomes d'hydrogène susceptible(s) de former des liaisons hydrogène. Par exemple, l'eau, le méthanol, l'éthanol, etc.
- Solvants aprotiques polaires : possédant un moment dipolaire non nul et dénués d'atomes d'hydrogène susceptibles de former des liaisons hydrogène. Par exemple, l'acétonitrile (CH<sub>3</sub>CN), le diméthylsulfoxyde (DMSO, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO), le tétrahydrofurane (THF, C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O), etc.
- Solvants aprotiques apolaires : possédant un moment dipolaire permanente nul. Par exemple, le benzène, les hydrocarbures : alcanes linéaires ou ramifiés, alcanes cycliques, alcènes, etc. (**Anonyme 04**).

### VII.3. La présentation de certains solvants



Figure 12 : quelques solvants organiques (photo dans laboratoire) (HADDADI, 2022).

Parmi les solvants, l'eau distillé est le solvant le plus connu et le plus utilisé. L'eau distillée, un liquide clair incolore, sans saveur, inodore, et fortement polaire. et comme l'eau pure, fige en glace en-dessous de 0 degré Celsius et bout au-dessus de 100 °C à pression atmosphérique normale. Cette forme d'eau est largement utilisée comme solvant. Elle est de l'eau purifiée par distillation qui enlève toute matière organique qui serait malvenue. La distillation est un processus de portage à ébullition du soluté dont les vapeurs sont refroidies pour obtenir un condensat : l'eau distillée (Anonyme 05).

L'eau distillée sert à préparer les réactifs de laboratoire et les préparations pharmaceutiques en solution aqueuse. Elle est également utilisée dans les unités de lavage et de stérilisation (pour le fonctionnement d'un autoclave). Les qualités physico-chimiques de l'eau distillée sont proches de celles de l'eau osmosée (Anonyme 06).

Les autres solvants organiques est obtenu dans le tableau ci-dessous :

Tableau 09 : Structure chimique et caractéristiques de certains solvants.

|                  | Hexane  | Dichlorométhane  | Acétone  |
|------------------|---|--|--|
| Formule Chimique | C <sub>6</sub> H <sub>14</sub>  | CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>  | C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O  |
| Formule          | $  \begin{array}{cccccc}  \text{H} & \text{H} & \text{H} & \text{H} & \text{H} & \text{H} \\    &   &   &   &   &   \\  \text{H}-\text{C} & -\text{C} & -\text{C} & -\text{C} & -\text{C} & -\text{H} \\    &   &   &   &   &   \\  \text{H} & \text{H} & \text{H} & \text{H} & \text{H} & \text{H}  \end{array}  $ | $  \begin{array}{c}  \text{Cl} \\    \\  \text{C} \\  / \quad \backslash \\  \text{Cl} \quad \text{H} \\    \\  \text{H}  \end{array}  $ | $  \begin{array}{c}  \text{O} \\     \\  \text{H}_3\text{C}-\text{C}-\text{CH}_3  \end{array}  $ |

|                       |   |  |  |
|-----------------------|---|--|--|
| Synonymes             | n-hexane  | Chlorure de méthylène  | Diméthylcétone ; 2-Propanone   |
| Famille               | Hydrocarbures<br>(Aliphatiques saturés)   | Hydrocarbures<br>aliphatique halogéné<br>(Haloalcanes)   | Solvants oxygénés<br>(Cétones)   |
| Types de solvants     | Aprotiques Apolaires  | Aprotique polaires<br>(Poly-halogénés)   | Aprotique Polaires   |
| Numéro CAS            | 110-54-3  | 75-09-2  | 67-64-1  |
| Couleur               | Incolore  | Incolore   | Incolore   |
| Odeur                 | Caractéristique,<br>L'odeur d'essence (bien qu'ils soient inodores sous leur forme pure). | Douceâtre  | Caractéristique, à la fois âcre et aromatique.   |
| État Physique         | Liquide   | Liquide  | Liquide  |
| Solubilité            | Dans eau (Pratiquement insoluble)   | Faiblement soluble dans l'eau (13 à 20g/l, 20°C), mais miscible avec la plupart des solvants organiques. | Miscible avec l'eau, et avec un grand nombre de solvants organiques, notamment l'éthanol, l'oxyde de diéthyle, les esters, le benzène, le diméthylformamide, le chloroforme, la plupart des huiles |
| Masse molaire (g/mol) | 86,17   | 84,93  | 58,08  |
| Point de fusion       | De -95,35°C à -95°C   | De -97 °C à -95 °C   | - 94,6 °C  |

|                    |  |  |   |
|--------------------|--|--|---|
| Point d'ébullition | De 68,7°C à 69°C   | 40 °C  | 56,1 °C   |
| Point d'éclair     | De -23°C à -21,7°C (coupelle fermée)   | Non applicable   | - 18 °C (coupelle fermée)<br>- 9,4 °C (coupelle ouverte)  |
| Densité (g/ml)     | 0,66 à 20°C  | 1,33   | 0,783   |
| Utilisations       | <p>-Solvant d'extraction des huiles végétales.</p> <p>-Milieu réactionnel et solvant dans la fabrication des polyoléfines, caoutchoucs synthétiques et produits pharmaceutiques.</p> <p>-Formulation de divers produits notamment colles, peintures et encres d'imprimerie.</p> <p>-Agent dénaturant pour l'alcool.</p> <p>-Par ailleurs, l'hexane est un constituant de certains carburants et solvants pétroliers, notamment des essences spéciales<br/><b>(Kirk-Othmer, 2004 ; Bingham et Corhssen, 2012) (Anonyme 07 à 16)</b></p> | <p>-Solvant d'extraction et de processus dans l'industrie pharmaceutique, solvant d'extraction dans l'industrie agroalimentaire et les cosmétiques.</p> <p>-Constituant de décapants de peintures et vernis.</p> <p>-Agent de nettoyage et de dégraissage des métaux.</p> <p>-Composant de colles et adhésifs.</p> <p>-Formulation d'aérosols.</p> <p>-Agent d'expansion des mousses polyuréthanes, solvant de polymérisation (polycarbonates, etc.).</p> <p>-Intermédiaire de synthèse.</p> | <p>-Solvant (industrie des peintures, vernis, encres et colles).</p> <p>-Intermédiaire de synthèse.</p> <p>-Solvant de l'acétylène.</p> |

|        |   |  |   |
|--------|---|--|---|
|        |   | <p>-Autres utilisations :<br/>fabrication de fibres<br/>cellulosiques,<br/>formulation de<br/>peintures, industrie<br/>pétrolière, industrie du<br/>cuir, détachant textile,<br/>laboratoires d'analyses<br/>chimiques, etc. (<b>Seidel,<br/>2007</b>) (<b>Anonyme 17 et<br/>18</b>)</p> |   |
| Danger | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Liquide et vapeurs très inflammables.</li> <li>- Peut être mortel en cas d'ingestion et de pénétration dans les voies respiratoires.</li> <li>- Provoque une irritation cutanée.</li> <li>- Peut provoquer somnolence ou vertiges.</li> <li>- Susceptible de nuire à la fertilité.</li> <li>- Risque présumé d'effets graves pour les organes à la suite d'expositions répétées ou d'une exposition prolongée.</li> <li>- Toxique pour les organismes aquatiques,</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Susceptible de provoquer le cancer.</li> </ul>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Liquide et vapeurs très inflammables.</li> <li>- Provoque une sévère irritation des yeux.</li> <li>- Peut provoquer somnolence ou vertiges.</li> <li>- L'exposition répétée peut provoquer dessèchement ou gerçures de la peau.</li> </ul> |

|                      |  |   |   |
|----------------------|--|---|---|
|                      | entraîne des effets néfastes à long terme.   |   |   |
| Propriétés physiques | <p>L'hexane est un liquide incolore, très volatil, ayant une odeur d'hydrocarbures semblable à celle des carburants. Il est pratiquement insoluble dans l'eau (env. 10 mg/L à 20 °C) ; il est miscible à de nombreux solvants organiques. En outre, c'est un bon solvant des graisses, cires, résines..(Kirk-Othmer, 2004 ; Bingham et Corhssen, 2012) (Anonyme 07 à 16)</p> | <p>Le dichlorométhane est un liquide incolore, très volatil, d'odeur étherée généralement détectable vers 200 - 300 ppm (dès 25 ppm ou seulement vers 600 ppm selon certaines sources). Il est peu soluble dans l'eau (13 à 20 g/L à 20 °C), mais miscible avec la plupart des solvants organiques. En outre, le dichlorométhane dissout de nombreux produits tels que graisses, huiles, résines, etc. (Seidel, 2007) (Anonyme 17 à 19)</p> | <p>L'acétone est un liquide incolore, très volatil, d'odeur suave et pénétrante détectable à environ 13 ppm. Elle est totalement miscible avec l'eau et avec un grand nombre de solvants organiques, notamment l'éthanol, l'oxyde de diéthyle et les esters. D'autre part, c'est un excellent solvant d'un grand nombre de produits organiques et minéraux (Kirk-othmer, 2004) (Anonyme 20 et 21)</p> |
| Propriétés chimiques | <p>Dans les conditions normales d'emploi, l'hexane est un produit stable. Il peut réagir vivement avec les agents fortement oxydants dont les permanganates, les peroxdes, les nitrates, les chlorates, les perchlorates, l'hypochlorite de</p>  | <p>Le dichlorométhane est généralement stabilisé par addition de petites quantités de produits divers (moins de 1 % de composés phénoliques, amines, amylène, cyclohexane, époxydes, etc.). Convenablement stabilisé, le dichlorométhane ne s'oxyde que très</p>  | <p>L'acétone est stable dans les conditions usuelles. Elle peut réagir vivement avec les agents oxydants puissants comme l'acide chromique, l'acide nitrique chaud, le permanganate de potassium (en milieu alcalin), les mélanges sulfonitriques, les peroxydes, notamment le</p>  |

|  |  |  |  |
|--|--|--|--|
|  | <p>sodium. La réaction avec le tétraoxyde d'azote peut être explosive. Il peut dégrader certains caoutchoucs naturels ou synthétiques et d'autres plastiques. Il ne corrode pas les métaux usuels <b>(Pohanish et Greene, 2009)</b> <b>(Anonyme 11,12,14 à 16)</b></p> | <p>lentement à froid. La présence d'eau et la lumière accélèrent le processus de dégradation. Il se décompose à chaud, au contact de surfaces chaudes ou de flammes avec formation de chlorure d'hydrogène, phosgène, monoxyde et dioxyde de carbone. La température initiale de décomposition thermique est de 120 °C dans l'air sec. Par contact prolongé avec l'eau, le dichlorométhane ne s'hydrolyse que lentement à froid avec formation d'acide chlorhydrique. À 180 °C, la réaction avec l'eau conduit à la formation d'acide formique, acide chlorhydrique, chlorométhane, méthanol et un peu de monoxyde de carbone. Il réagit violemment avec les poudres métalliques (telles</p> | <p>peroxyde d'hydrogène, etc.<br/> La réaction du t-butoxyde de potassium avec une petite quantité d'acétone a donné lieu à une inflammation du solvant.<br/> L'acétone peut aussi réagir violemment avec certains hydrocarbures halogénés (trichlorométhane, tribromométhane...) en présence d'une base forte (par exemple, Hydroxyde de sodium ou de potassium).<br/> L'acétone n'est pas corrosive pour les métaux, mais attaque certaines matières plastiques <b>(Kirk-othmer, 2004 ; Bretherick, 1999)</b>.</p> |
|--|--|--|--|

|  |  |  |  |
|--|--|--|--|
|  |  | <p>qu'aluminium,<br/>magnésium), les métaux<br/>alcalins, les bases fortes<br/>et les oxydants<br/>puissants.<br/>Le dichlorométhane<br/>dégrade certaines<br/>matières plastiques<br/><b>(Seidel, 2007)</b><br/><b>(Anonyme 18 et 19)</b></p> |  |
|--|--|--|--|

# *Partie expérimentale*

## **Chapitre VIII : Matériels et Méthodes**

La partie expérimentale a été réalisée au sein du laboratoire N°05 de 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. L'objectif de cette étude est l'identification du meilleur solvant par rapport à l'extraction de différents composés phénoliques des pétales du safran et leur caractérisation physicochimique et aussi pour évaluer le potentiel antioxydant par la CAT.

Ce travail a été réalisé en trois parties :

1. l'extraction des lipides des pétales du safran sèche (la délipidation)
2. Préparation des différents extraits des pétales du safran sèche
3. Tests phytochimiques de différentes préparations de la partie aérienne (Pétales) de *Crocus sativus. L*
  - Dosage des polyphénols totaux, flavonoïdes, tanins (condensés et hydrolysables), flavonols.
  - Evaluation de la capacité antioxydante totale (CAT) au niveau de ces extraits de fleurs.

### **VIII.1. Matériels**

#### **VIII.1.1. Matériel végétal**

##### **VIII.1.1.1. Récolte et préparation**

Notre matériel végétal est la partie aérienne sans stigmate et sans tige de *Crocus sativus L*, qui a été collecté dans le Djebel Zaafran de l'Ain Commune de Fezza par le safranier Mr CHIKHI AISSA (coordonnée à Latitude : 34°52'36" La Nord, Longitude : 01°12'55" L'Ouest et L'altitude 863 m : Province de Tlemcen), en Algérie. L'échantillon étudié est constitué des pétales de safran ou bien on a dit les fleurs entières c'est-à-dire composée toutes les parties de la fleur de safran sauf ont a séparés les stigmates de cette partie florale, récolté pendant le mois de novembre 2021. Après séchage pendant 5 jours à l'air à une température ambiante et à l'abri de la lumière solaire, les pétales de safran sèche non broyée était stockée dans un récipient hermétique et placé dans un endroit sec à l'abri de la lumière et de l'humidité en vue des différents dosages (Figure 13).



Figure 13 : les pétales de safran sèche (sans stigmates) (HADDADI, 2022).

## VIII.2. Méthodes d'analyses

### VIII.2.1. La délipidation

#### A- Le principe

Le but de cette méthode c'est l'extraction des lipides constitué dans les pétales du safran sèche ; cette délipidation ce fait à l'aide d'une méthode qu'est appelle « soxhlet », à partir de 40. 0554g des pétales de safran sèche non broyé.

#### B- Le mode opératoire

On a pesé deux cartouche vides, après on a ajouté dans ces deux cartouches les pétales de safran sèche et ensuite on calcule seulement le poids des pétales sans prendre le poids des cartouches.



Figure 14 : cartouche rempli avec les pétales de safran sèche, pesé dans une balance analytique (HADDADI, 2022).

En fait maintenant la méthode de Soxhlet à une température de 40 à 50C°, pendant un temps de 3 heure selon la quantité de l'échantillon jusqu'à la délipidation totale.

L'extraction par Soxhlet est une méthode simple et convenable permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à l'épuisement complet du soluté dans la matière première.

Dans cette étude, l'extraction Soxhlet a été utilisée pour extraire les lipides des pétales de safran sèche, L'appareil Soxhlet est représenté sur la Figure 15. Il est composé d'un corps en verre, dans lequel est placée une cartouche en papier-filtre épais (une matière pénétrable pour le solvant), d'un tube siphon et d'un tube de distillation. Dans le montage, l'extracteur est placé sur un ballon contenant le solvant d'extraction (l'hexane 150 ml). Le ballon est chauffé afin de pouvoir faire bouillir son contenu. La cartouche contenant le solide à extraire (les pétales de safran sèche=40.0554g) est insérée dans l'extracteur, au-dessus duquel est placé un réfrigérant servant à liquéfier les vapeurs du solvant (hexane).

Le ballon étant chauffé, le liquide est amené à l'ébullition, les vapeurs du l'hexane passent par le tube de distillation et rentrent dans le réfrigérant pour être liquéfiées. Ensuite, le condensat retombe dans le corps de l'extracteur sur la cartouche, faisant ainsi macérer le solide dans le solvant. Le solvant condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'au niveau du sommet du tube-siphon, suivi par le retour dans le ballon du liquide de l'extracteur accompagné de substances extraites. Ainsi le solvant dans le ballon s'enrichit progressivement en composants solubles. L'extraction continue jusqu'à l'épuisement de la matière solide chargée dans la cartouche.



Figure 15 : L'extraction des huiles fixes des pétales de safran sèche par la méthode de Soxhlet (HADDADI, 2022).

A la fin de cette méthode on a dans le ballon un mélange d'hexane plus les lipides qu'est extraire des pétales de safran.



Figure 16 : le ballon qui contient les huiles fixes qu'est extraire des pétales de safran sèche avec l'hexane (le solvant d'extraction) (HADDADI, 2022).

La séparation de ces deux sont faite à l'aide de l'appareil appelé « Rotavapor » à une température entre 40 et 50C° (voir la photo – Figure 17). Dans cet appareil on réalise une évaporation sous vide en utilisant une pompe à vide avec une vanne de contrôle. Pendant

l'évaporation le ballon est mis en rotation et plongé dans un bain liquide chauffé. L'appareil est muni d'un réfrigérant avec un ballon-collecteur de condensat. La rotation du ballon crée une surface d'échange plus grande et renouvelée permettant donc d'effectuer une évaporation rapide.

L'abaissement de la pression permet d'évaporer le solvant à température réduite, évitant ainsi la dégradation thermique éventuelle des composés. C'est une méthode d'évaporation simple, utile, douce et rapide.



Figure 17 : la séparation entre les lipides et l'hexane par l'évaporation sous vide avec le Rotavapor (HADDADI, 2022).

A la fin nous avons deux ballons, un ballon qui contient l'hexane utilisé avant et l'autre contient les lipides ou les graisses sous forme une couche de couleur jaune qui collée à la paroi de ballon.

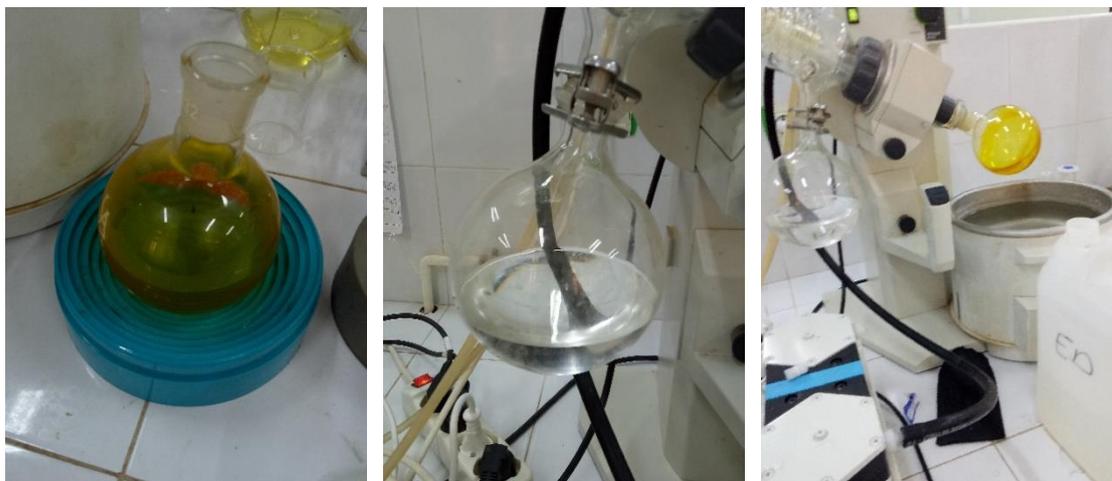


Figure 18 : les deux ballons qui conient l'hexane et les lipides après l'évaporation sous vide par le Rotavapor (HADDADI, 2022).

Puis on a calculé le poids des lipides qui sont collés dans l'entourage de ballon.

Et finalement on a récupéré ces lipides collés à la paroi de ballon par la solubilisation ou bien la dilution avec l'hexane jusqu'à la dissoudre totale de ces lipides, puis on a récupéré celui-ci dans un flacon et stocker dans le réfrigérateur jusqu'à son utilisation.



Figure 19 : la récupération des huiles fixes des pétales de safran sèche dans des flacons **(HADDADI, 2022)**.

Après nous prenons les cartouches remplis des pétales humidifiées avec l'hexane et les mettons dans l'étuve à une température de 40C° jusqu'à le séchage complet des pétales.

### **VIII.2.2. Préparation des extraits à partir des pétales de safran sèche**

- La macération : Consiste à laisser séjourner à froid un solide dans un liquide pour en extraire les constituants solubles dans ce liquide.
- L'extraction par solvant : C'est un procédé qui permet d'extraire des composés qui ne peuvent pas l'être avec de l'eau.

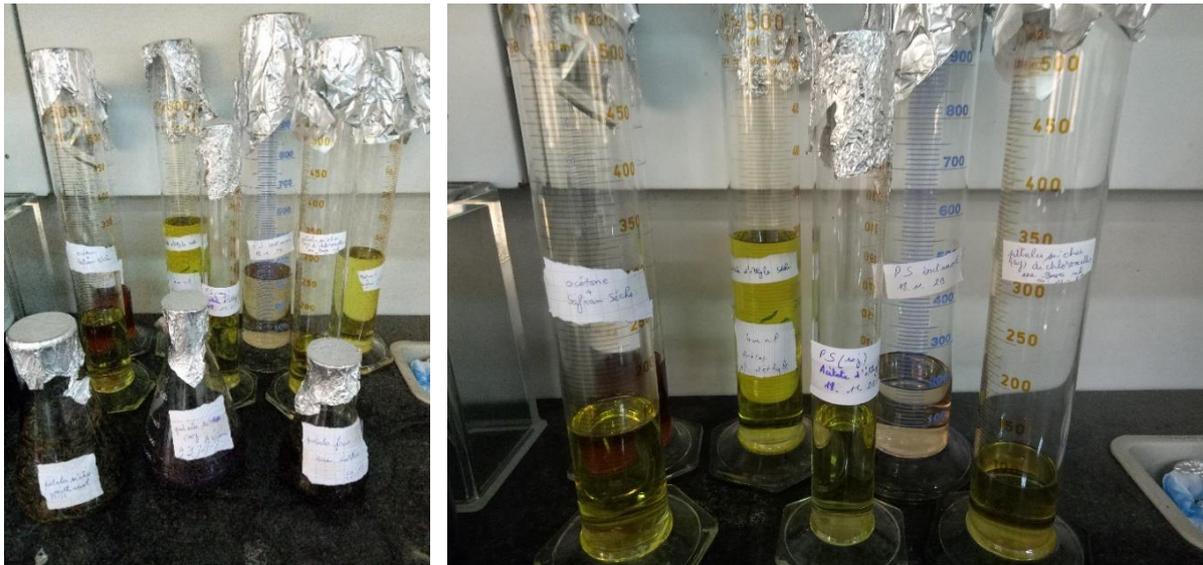


Figure 20 : les macérations et les filtrations des différentes extraits des pétales de safran sèche (HADDADI, 2022).

L'extraction des constituants des pétales de safran sèche qu'on a utilisé, été effectuée selon la méthode de « Macération ». Pour la macération, trois solvants sont utilisés, à savoir le dichlorométhane, acétone et l'eau distillée.

Tous les extraits sont préparés par les mêmes méthodes et les mêmes conditions justes le solvant qu'on a ajouté et le poids des résidus sont change après chaque macération.

Les extraits sont préparés par des extractions successives avec des solvants de polarité croissante (hexane (H), dichlorométhane (DM), acétate d'éthyle, acétone (AC), butanol, méthanol, l'eau distillé (ED)). Mais dans mon travaille je parlée juste pour quatre solvants (H, DM, AC, ED).

La préparation de ces extraits a été réalisée comme suit :

#### VIII.2.2.1. Extrait dichlorométhanique

L'extrait dichlorométhanique des pétales de safran sèche a été préparé par macération de 36.0575 g de la partie aérienne de la plante (pétales) dans un volume de dichlorométhane pendant 72h.

##### Mode opératoire

Après le séchage des résidus hexanique dans l'étuve, on pèse le poids de ces résidus  $p=36.0575g$  (le poids des pétales après la délipidation) et nous mettons ces résidus non broyés dans un erlenmeyer, et on a ajouté un volume de dichlorométhane et recouverte avec du papier

aluminium et on laissez-le jusqu'à 72h à température ambiante et à l'abri de la lumière pour macérer.



Figure 21 : la macération des pétales de safran sèche dans le dichlorométhane (**HADDADI, 2022**).

Après 72h on a fait une filtration de l'extrait dichlorométhanique par un papier filtre et on a récupéré le filtrat, puis on pèse le poids de l'extrait et le poids des pétales dichlorométhanique après le mettre dans l'étuve pour le séchage  $p=34$ . 5028g. après j'ajoute l'acétate d'éthyle à ces résidu dichlorométhanique et laissez-le 72h (c'est les mêmes étapes comme l'extrait dichlorométhanique, mais je passe cet extrait parce que mon travail juste pour 3 extraits : après 72h on a fait une filtration de la fraction acétate éthylique, pèse le poids de la fraction et des pétales, puis on a ajouté l'acétone et laissez-le jusqu'à 72h).



Figure 22 : la filtration de l'extrait dichlorométhanique (**HADDADI, 2022**).

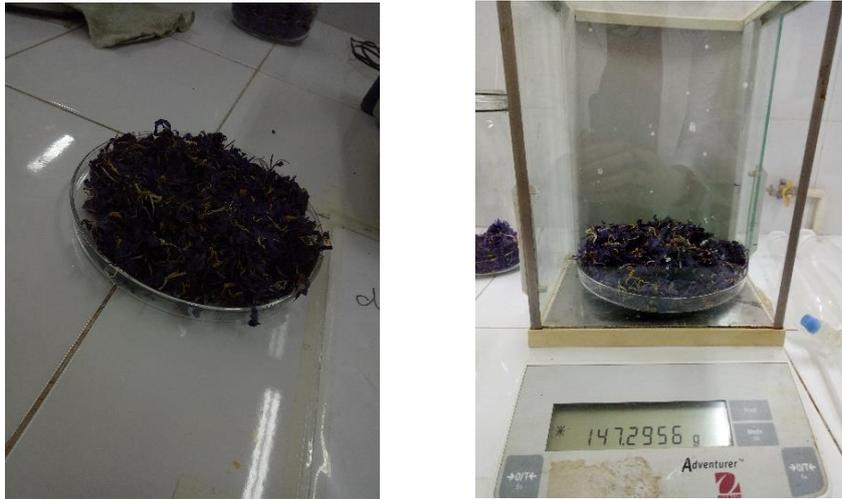


Figure 23 : les résidus dichlorométhane après le séchage dans l'étuve (HADDADI, 2022).

#### VIII.2.2.2. La fraction acétonique

Après le séchage des résidus d'acétate éthylique dans l'étuve, nous mettons ces résidus dans un erlenmeyer, et on a ajouté un volume l'acétone et on laissez-le jusqu'à 72h.

Après 72h on a fait une filtration de la fraction acétonique, puis on peser le poids de fraction et le poids des pétales acétonique après le mette dans l'étuve pour le séchage p=32. 2132g.après j'ajouter le butanol (c'est les mêmes étapes comme les autres extraits ou bien les fractions, mais je passe cette fraction : après 72h on a fait une filtration de la fraction, peser le poids de fraction et des pétales, puis on a ajouté méthanol et laissez-le jusqu'à 72h). C'est la même chose aussi pour la fraction méthanolique.



Figure 24 : les résidus acétoniques après le séchage dans l'étuve (HADDADI, 2022).

### VIII.2.2.3. La fraction aqueuse

Après le séchage des résidus méthanolique dans l'étuve, nous mettons ces résidus dans un erlenmeyer, et on a ajouté un volume de l'eau distillé et on laissez-le jusqu'à 72h.

Après 72h on a fait une filtration de la fraction aqueuse, puis on peser le poids de la fraction et le poids des pétales après le mette dans l'étuve pour le séchage p=20. 216g.

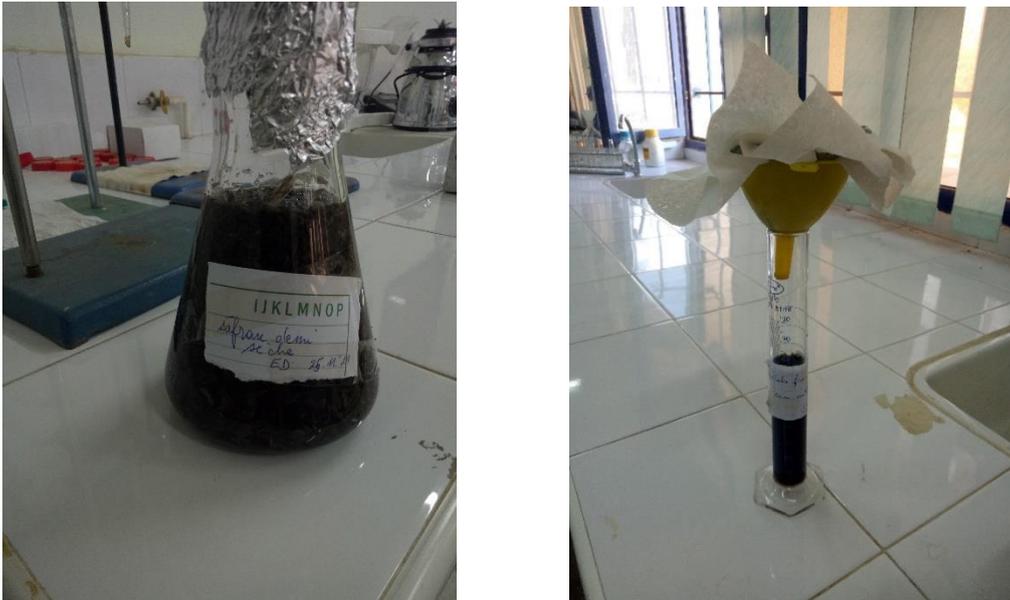


Figure 25 : la macération des pétales de safran sèche dans l'eau distillée à gauche, et la filtration de la fraction aqueuse à droite (**HADDADI, 2022**).

#### ○ La récupération

Pour l'extrait filtré on a mis dans un rotavapeur pour l'évaporation. A la fin on a obtenu un extrait collé à la paroi de ballon ont ajouté à celui-ci un volume soit de DMSO (pour l'extrait dichlorométhanique et la fraction acétonique) ou bien l'eau distillée (pour la fraction aqueuse) ; pour le dissoudre totale de l'extrait. Après ces extraits on a récupéré dans des tubes ou bien dans des flacons et conservé au réfrigérateur.



Figure 26 : la solubilisation ou bien la dilution des extraits collés à la paroi de ballon par le DMSO ou bien l'eau distillé (HADDADI, 2022).

○ **Rendement des extraits d'*Crocus sativus 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<sub>0</sub> : masse en gramme du matériel végétal.

### VIII.2.3. Dosage des composés phénoliques

#### VIII.2.3.1. Dosage des phénols totaux

Le dosage des phénols totaux est déterminé par le réactif de Folin-Ciocalteu selon la méthode de (Singleton et Rossi, 1965).

##### A- Principe

Le réactif est réduit lors de l'oxydation de phénol, en un mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène, l'absorption est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 765nm.

##### B- Mode opératoire

Une prise de 200 µL de l'extrait dilué a été introduite dans des tubes à essais, puis 1000 µL du réactif du Folin-Ciocalteu dilué 10 fois et 800 µL de carbonate de sodium (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) à 7.5% sont additionnés. Les tubes sont agités et conservés durant 30 min à l'abri de la lumière et à une température ambiante. L'absorbance est mesurée à 765nm contre le blanc à l'aide d'un spectrophotomètre SPECORTD 200 Plus. Une courbe d'étalonnage est réalisée en

utilisant l'acide gallique comme contrôle positif afin d'exprimer les teneurs en milligramme (mg) équivalents d'acide gallique par gramme de la matière sèche (mg EAG /g MS).

#### **VIII.2.3.2. Dosage des flavonoïdes totaux**

Le dosage des flavonoïdes est déterminé en utilisant la technique de **(Zhishen et al, 1999)**.

##### **A- Mode opératoire**

Une quantité de 500 µL de l'extrait dilué est mélangée avec 1500 µL d'eau distillée, suivi par 150µL de nitrite de sodium (NaNO<sub>2</sub>) à 5%. Après 5 min ,150µL de trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) à 10 % est ajouté au mélange. Après 6 min d'incubation à la température ambiante, 500µL d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 4% est additionné. Immédiatement, le mélange est complètement agité afin d'homogénéiser le contenu. L'absorbance est déterminée à 510 nm contre le blanc à l'aide d'un spectrophotomètre SPECTROD 200 Plus. Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme contrôle positif.

La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme (mg) équivalents de catéchine par gramme de la matière sèche (mg EC/g MS).

#### **VIII.2.3.3. Dosage des tanins condensés**

La quantité des tanins condensés est déterminée par la méthode de vanilline en milieu acide **(Julkunen-titto, 1985)**.

##### **A- Principe**

Cette méthode est basée sur la capacité de vanilline en présence d'HCl à réagir avec les tanins, l'absorbance est mesurée à 550 nm.

##### **B- Mode opératoire**

Un volume de 50 µL de l'extrait dilué est ajouté à 1500 µL de la solution vanilline/méthanol (4%) puis mélangé à l'aide d'un vortex. Ensuite, 750 µL de l'acide chlorhydrique concentré (HCl) est additionné. Le mélange obtenu est laissé réagir à la température ambiante pendant 20 min à l'abri de la lumière. L'absorbance est mesurée à 550 nm contre le blanc à l'aide d'un spectrophotomètre SPECORD 200 Plus. Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme contrôle positif. Les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalents de la catéchine par gramme de la matière sèche (mg EC/g MS).

#### **VIII.2.3.4 Dosage des flavonols**

Le dosage des flavonols a été réalisé par la méthode de **Kumaran et al. (2007)**.

#### **A- Mode opératoire**

Une prise de 0.25 ml de l'extraits brut est mélangé avec 1.5 ml d'acétate de sodium à 50 mg/ml et 0.25 ml de AlCl<sub>3</sub> à 2 mg/ml. Le mélange est homogénéisé et incubé à température ambiante durant 150 min. L'absorbance est lue à 440 nm.

Le contenu en flavonols est exprimé en milligramme (mg) équivalents de quercétine par gramme du poids de la matière sèche (mg EQ/ g MS).

#### **VIII.2.3.5. Dosage des tanins hydrolysables**

Le taux des tanins hydrolysables est déterminé par la méthode de **Mole et Waterman (1987)** qui est basée sur la réaction avec le chlorure ferrique.

#### **A- Mode opératoire**

Un volume de 1 ml de l'extrait est mélangé avec 3.5 ml de la solution de FeCl<sub>3</sub> (1.62 g est dissous dans 0.01M de HCl). Le mélange donne une coloration rouge violette au complexe d'où la formation des ions (Fe<sup>+3</sup>). L'absorbance a été lue à 660 nm après 15 secondes. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalents d'acide gallique par g de la matière sèche à partir de la courbe d'étalonnage (mg EAG/ g MS).

#### **VIII.2.4. Activités antioxydante**

##### **VIII.2.4.1. Capacité antioxydante totale (CAT)**

La CAT de l'extrait brut des fruits immatures de *P. atlantica* a été examiné par la méthode de phosphomolybdène de **Prieto et al, (1999)**.

#### **A- Mode opératoire**

Un volume de 300 µl de l'extrait dilué a été ajouté à 3 ml de solution de réactif (acide sulfurique 0.6M, phosphate de sodium 28 mM et molybdate d'ammonium 4 mM). Les tubes ont été fermés et incubés à 95 °C pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance des solutions a été mesurée à 695 nm contre le blanc qui contient 3 ml de la solution CAT et 0.3 ml de l'eau distillée et il a été incubé dans les mêmes conditions que l'échantillon.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide ascorbique comme contrôle positif. Les valeurs de la CAT sont exprimées en milligramme équivalents d'acide ascorbique par gramme de matière sèche (mg EAA/g MS).

#### **○ L'étude statistique**

Data were tested by one-way ANOVA and Tukey post hoc tests. Values with different superscript letters (a. b. c) are significantly different at  $p < 0.05$ ,  $p < 0.001$ .

*Résultats Interprétation et  
Discussion*

## Chapitre IX : Résultats Interprétation et Discussion

### IX.1. Étude phytochimiques

#### IX.1.1. Rendement d'extraction

Nous avons réalisé une extraction par le mode de macération après délipidation par l'hexane, nous avons obtenu des extraits de couleurs et odeurs bien distinguées. Leur rendement a été déterminé par rapport à **(40.0554 g)** de matière végétale sèche et non broyés exprimé en pourcentage.

Tableau 13 : Rendement et caractéristiques des huiles fixes des pétales séchées de safran.

| Caractéristiques | La masse des pétales de safran sèche (g) | La masse des huiles fixes (HF) (g) | Aspect des HF | Couleur des HF | Le solvant de solubilisation des HF | Rendements Des HF (%) |
|------------------|--|------------------------------------|---------------|----------------|-------------------------------------|-----------------------|
|                  | 40.0554                                  | 0.2857                             | Liquide       | Jaune foncé    | Hexane                              | 0.713                 |

- Les rendements et les caractéristiques pour les trois macérations des pétales sèche de safran dans différents solvants (dichlorométhane, le solvant acétone, et dans l'eau distillé), sont représentés dans le Tableau 14.

Tableau 14 : Rendements et caractéristiques des trois macérations des pétales de safran sèche dans différents solvants.

| Caractéristiques Macération | La masse du résidu(g) | La masse de l'extrait ou bien la fraction (g) | Aspect  | Couleur        | Le solvant de Solubilisation des extraits | Rendements (%) |
|-----------------------------|-----------------------|---|---------|----------------|---|----------------|
| Extrait Dichlorométhane     | 36.0575               | 0.7481  | Liquide | Jaune claire   | DMSO                                      | 2.075          |
| Fraction Acétonique         | 33.5279               | 0.5748  | Liquide | Jaune foncé    | DMSO                                      | 1.714          |
| Fraction Aqueuse            | 20.216                | 4.1352  | Liquide | Noir rougeâtre | L'eau distillée                           | 20.455         |

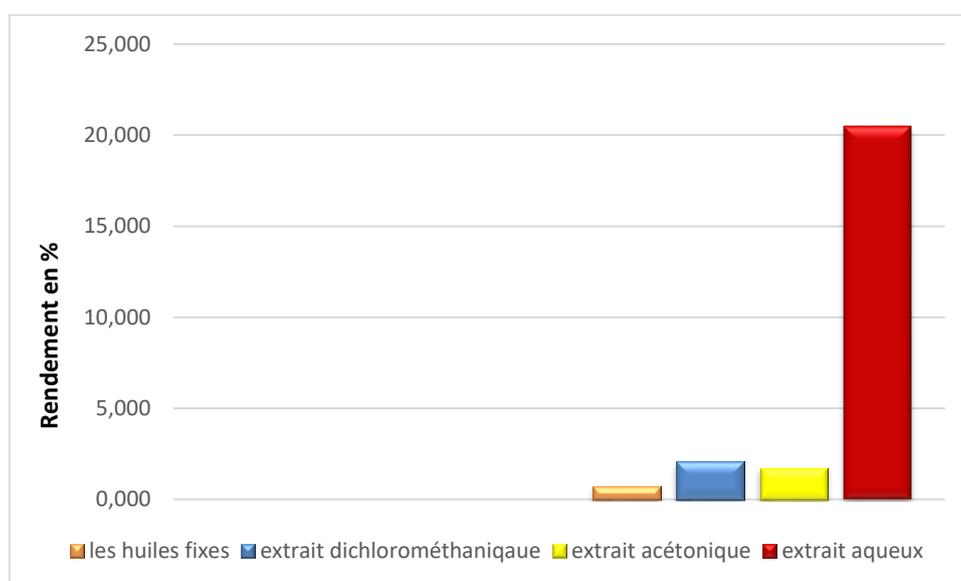


Figure 27 : rendements %, des extraits des pétales de safran sèche.

Les résultats obtenus (tableau 14 et l’histogramme dans la figure 27) montrent que le rendement le plus élevé est celui de la fraction aqueuse (**20.455 %**), suivi par l’extrait dichlorométhanique (**2.075 %**) et celui de la fraction acétonique (**1.714 %**). De plus, les composés phénoliques sont mieux extraits avec l’eau comparée à l’acétone et le dichlorométhane.

Nous remarquons que tous les extraits récupérés sont solubles dans le DMSO à l’exception de la fraction aqueuse qui est totalement soluble dans l’eau distillé.

Dans une étude similaire réalisée par (**Jadouali et al, 2017**) sur les fleurs entière (sans stigmate) de safran sèche, ont été obtenues de Dar ZAAFARANE (Tassousfi, Taliouine, Maroc) il a été montré que le rendement de l’extrait aqueux est de (**25.65 %**). Cependant, dans l’étude de (**Serrano-Díaz et al, 2013**) qui ont été obtenu auprès de la société “Agrícola Técnica de Manipulación y Comercialización S.L.” (Minaya, Espagne), ils ont trouvé un rendement de (**41.1 %**) qui est largement supérieure à nos résultats qui est de (**20.455 %**).

Par contre, **Adil Farooq Wali et al, 2020** trouvent un rendement de (**1.89 %**) de l’extrait dichlorométhanique (soxhlet) des pétales de safran sèches collectées à Pampore (34.02°N 74.93°E.), Cachemire, J&K, Inde est qui reste un résultat légèrement inférieur aux nôtres (**2.075 %**). Cependant, **Serrano-Díaz et al, 2013** montrent des résultats similaires aux nôtres (**2.3 %**).

-Le rendement dépend probablement de l'environnement dans lequel est cultivée notre espèce étudiée et de son contenu en métabolites secondaires, la partie utilisée dans l'extraction, les conditions de récolte et d'entreposage, ainsi que la méthode d'extraction elle-même.

-Aussi, que le rendement dépend de plusieurs paramètres tels que les propriétés chimiques des molécules à extraire, le solvant utilisé et l'humidité, la composition chimique des extraits préparés, aussi étaient liés à la polarité des solvants utilisés dans l'extraction. Il est donc difficile de comparer nos résultats avec ceux de la bibliographie vu la variabilité des paramètres.

Les rendements les plus élevés ont été trouvés à partir des solvants les plus polaires (eau) et le solvant moins polaire (dichlorométhane et acétone) a montré le rendement le plus faible.

## IX.1.2. Dosage des composés phénoliques

### IX.1.2.1. Dosage des polyphénols totaux

**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 ( $y = 4.5485x$ ) avec un coefficient de corrélation  $R^2 = 0,9909$  (Figure 28).

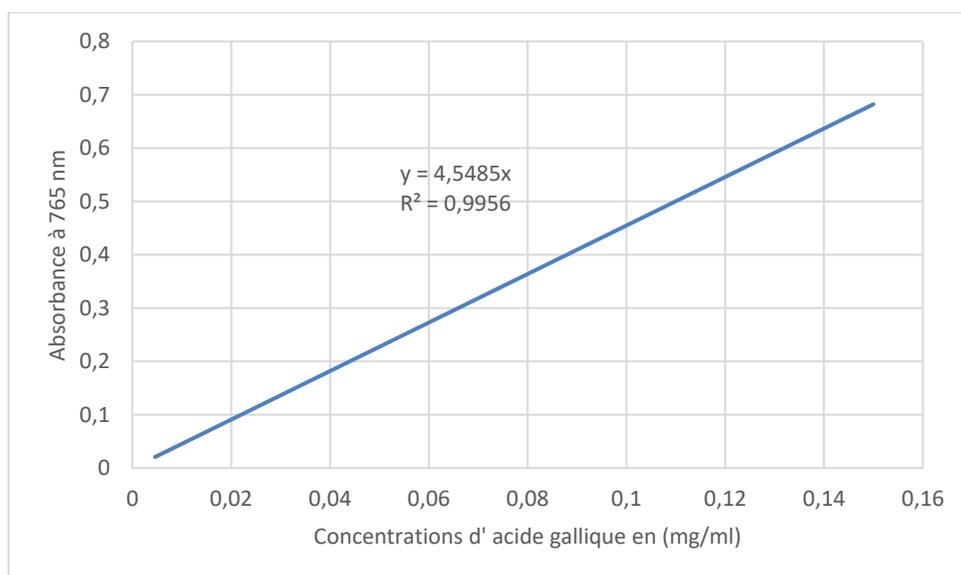


Figure 28 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

Les trois extraits ont été analysés quantitativement par spectrophotomètre, pour leurs teneurs en polyphénols totaux en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu. Les résultats obtenus sont exprimés en milligramme (mg) équivalents d'acide gallique (mg EAG) par gramme(g) de la matière sèche (g MS), en utilisant les équations de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage (Figure 28).

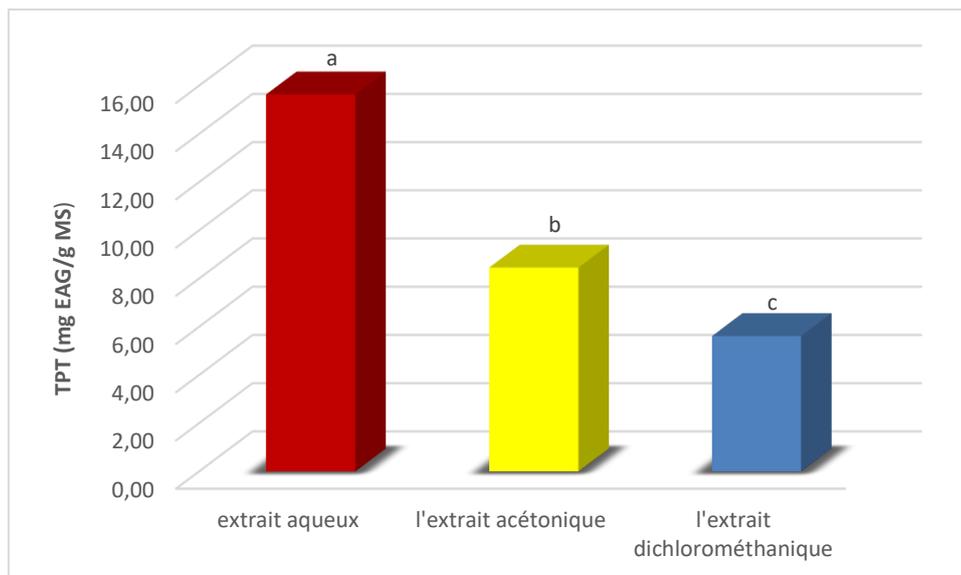


Figure 29 : Histogramme représentant la teneur en polyphénols totaux dans les trois extraits obtenus par macération des pétales de safran sèche.

Data were tested by one-way ANOVA and Tukey post hoc tests. Values with different superscript letters (a, b, c) are significantly different at  $p < 0.05$ ,  $p < 0.001$ .

D'après les résultats suivants, nous avons constaté que tous les extraits préparés contiennent des composés phénoliques, mais à des concentrations très variables. La fraction aqueuse préparée par macération à partir des pétales de *crocus sativus*, présente la teneur la plus élevée en phénols totaux (**15,64 mg EAG/g MS**) suivie de celles de la fraction acétonique (**8,45 mg EAG/g MS**). Cependant, l'extrait dichlorométhanique présente une teneur moins importante (**5,61 mg EAG/g MS**).

Et d'après l'ANOVA, la concentration de la fraction aqueuse est présente une différence hautement significative par rapport à la fraction acétonique et l'extrait dichlorométhanique  $p < 0.001$ . Cependant la concentration en polyphénols totaux au niveau de l'extrait dichlorométhanique est diminuée de manière hautement significative par rapport à la fraction acétonique  $p < 0.001$ .

Il paraît clairement que l'eau distillée est le solvant qui permet d'avoir un rendement en polyphénols totaux le plus élevé par rapport à l'acétone et le dichlorométhane, ce qui peut être expliqué par la lyse des cellules dans l'eau distillée et la libération d'un maximum de molécules poly-phénoliques.

Dans une étude réalisée par (Stelluti et al, 2021) il a été démontré que la teneur en polyphénols totaux dans un extrait aqueux des pétales de safran sèche qui ont été fournis

par la société "Lo Zafferano del Monviso" située à Martiniana Po, CN (Italie—44°230 N 7°330 E) est de l'ordre de **(1142.27 mg EAG/ 100 g)**, qui est très élevée par rapport à nos résultats. Et dans une étude similaire réalisée par **(Jadouali et al, 2017)** sur les fleurs entière (sans stigmates), ils ont trouvé une teneur en polyphénols totaux de l'extrait aqueux **(35.38 mg EAG/ g d'extrait brut en poudre)** qui reste largement supérieure à nos résultats qui est de **(15,64 mg EAG/g MS)**. De plus, **(Serrano-Díaz et al, 2013)** ont trouvé dans l'extrait aqueux des pétales de safran une teneur égale à **(20.50 mg AG/g)**. Ce dernier, semble similaire à nos résultats.

Les résultats de **Adil Farooq Wali et al, 2020**, montrent des teneurs en polyphénols totaux des pétales de safran sèche extraits par dichlorométhanique, de l'ordre de **(59.23 mg EAG/g d'extrait)** ; un taux nettement plus important que nos résultats. Cependant, l'étude de **(Serrano-Díaz et al, 2013)** montre des résultats similaires aux notre **(5.22 mg AG/g)**.

**(Belyagoubi et al., 2021)** ont trouvé une valeur en polyphénols totaux de **(69.187 mg EAG/ g MS)** mais pour un extrait méthanolique de la fleur de la même région du Tlemcen, qui une valeur supérieure à nos résultats des trois extraits étudiés. Ces résultats montrent que le méthanol est un meilleur solvant pour l'extraction des polyphénols totaux. On peut alors remplacer l'eau par le méthanol dans l'extraction des polyphénols totaux (PT).

Cette variation de la teneur en TPT dépend de plusieurs facteurs lesquels pourrait être les suivants :

-La différence entre les méthodes utilisées pour extraire les PT des pétales de safran sèche (rapport V/V, type de solvant).

-La teneur phénolique d'une plante dépend aussi d'un certains facteurs tels que, les conditions climatiques, le moment de la récolte, le solvant d'extraction, les conditions de stockage

-La durée de séchage des pétales de safran et le temps de macération.

### **IX.1.2.2. Dosage des flavonoïdes**

#### **IX.1.2.2.1. Teneur en flavonoïdes totaux**

Le dosage des flavonoïdes a été effectué par la méthode spectrophotométrique au trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>).

Les résultats obtenus pour le dosage des flavonoïdes totaux sont exprimés en mg équivalent de catéchine par g de matière sèche (mg EC/g MS). Ils sont basés sur la formule de la régression de ( $y = 1.1248x$ ) avec un coefficient de détermination ( $R^2 = 0,9984$ ), (Figure 30).

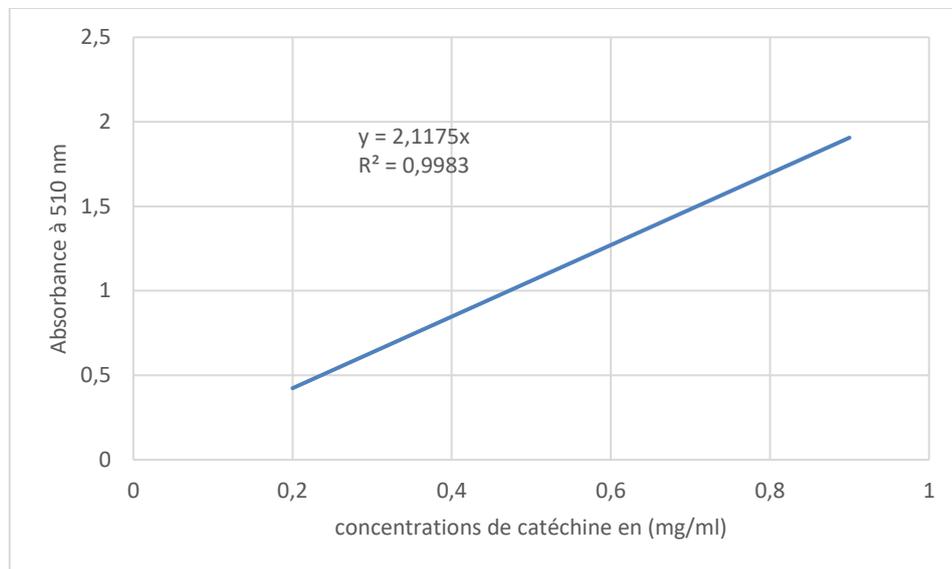


Figure 30 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes totaux.

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

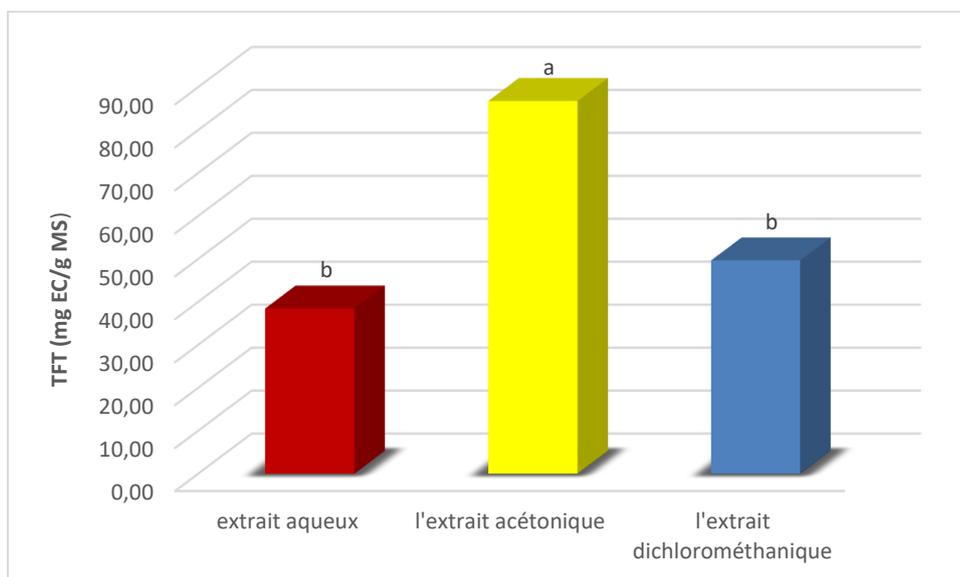


Figure 31 : Histogramme représentant la teneur en flavonoïdes totaux dans les trois extraits obtenus par macération des pétales de safran sèche.

Data were tested by one-way ANOVA and Tukey post hoc tests. Values with different superscript letters (a. b .c) are significantly different at  $p < 0.05$ ,  $p < 0.001$ ,  $p > 0.05$ .

Les trois extraits obtenus par macération à partir des pétales sèche de *Crocus sativus*. *L* ont montrés des valeurs importantes en flavonoïdes totaux, mais à des concentrations très variables. Les teneurs en flavonoïdes sont de **(86,77 mg EC /g de matière sèche)** dans la fraction acétonique suivie de celles de L'extraits dichlorométhanique avec **(49,65 mg EC /g de matière sèche)** et enfin celle de la fraction aqueuse avec **(38,46 mg EC/g de matière sèche)**.

Et d'après l'AVOVA, la concentration de la fraction aqueuse est présente une différence significatif modéré par rapport à la fraction acétonique  $p < 0.05$ , et ne présente aucune différent par rapport aux extrait dichlorométhanique  $p > 0.05$ . Cependant la concentration en flavonoïdes totaux au niveau de l'extrait dichlorométhanique est diminuée de manière significative modérée par rapport à la fraction acétonique  $p < 0.05$ .

Il parait clairement que l'acétone est le solvant qui permet d'avoir un rendement en flavonoïdes totaux plus élevé par rapport au dichlorométhane et l'eau. Alor pour extraire les flavonoïdes totaux il faut utiliser l'acétone préférentiellement.

La teneur en flavonoïdes totaux dans l'extrait aqueux des pétales de safran sèche obtenue dans l'étude effectué par **(Jadouali et al, 2017)** est de **(31.15 mg EC/g dry plant material)**, ce qui reste inférieure aux résultats obtenus lors de notre étude **(38.46 mg EC/g MS)**. Et dans une étude faite sur l'extrait dichlorométhanique des pétales de safran sèche par **(Adil Farooq Wali et al, 2020)**, ils ont trouvé une teneur en flavonoïdes totaux similaires aux nôtres **(49.84 µg EQ /g d'extrait)**.

Dans une autre étude réalisée par **(M Amin Mir et al, 2016)** sur la même partie du plant de safran mais a l'origine de la région de Kishtwar de J & K, a donné une TFT après l'extraction par le soxhlet des pétales de safran sèche dans le dichlorométhane suivi par l'éthanol et finalement ce dernier a été soumis à une extraction à l'eau par technique de décoction. Les teneurs sont **(1.8 mg/g)** pour l'extrait dichlorométhanique qui est nettement inférieure au résultat obtenu lors de notre étude **(49,65 mg EC /g MS)** et **(11.2 mg/g)** pour la fraction aqueuse qui aussi largement inférieure à nos résultats qui est de **(38,46 mg EC/g MS)**.

#### **IX.1.2.2.2. Teneur en flavonols**

La quercétine a été utilisée comme étalon à différentes concentrations, Les résultats obtenus pour le dosage des flavonols sont exprimés en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme de la matière sèche (mg EQ/g MS). Le taux des flavonols des trois extraits ont été

obtenus à partir d'une courbe d'étalonnage qui sont basés sur la formule de la régression de ( $y = 1.8696x + 0.0351$ ) avec un coefficient de détermination ( $R^2 = 0,9786$ ), (Figure 32).

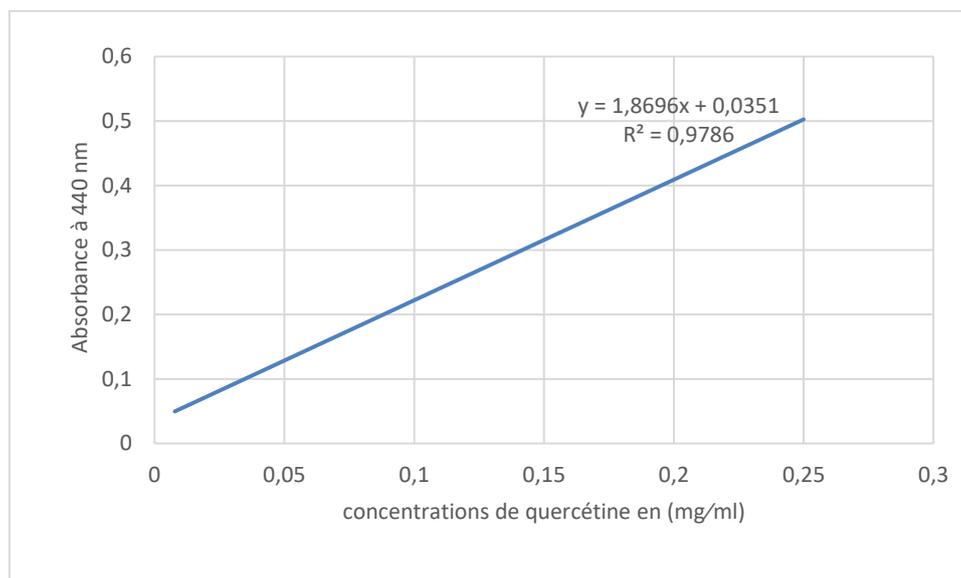


Figure 32 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonols.

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

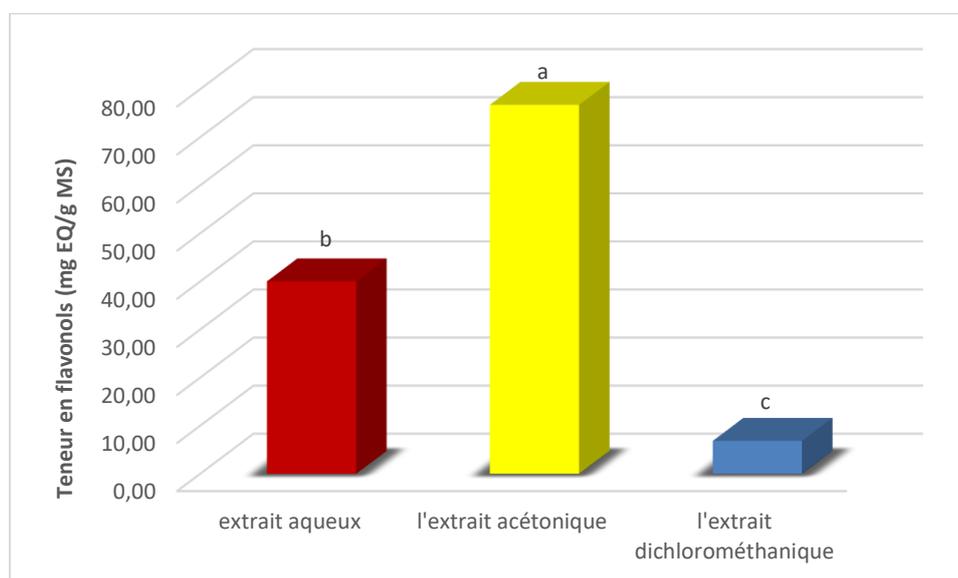


Figure 33 : Histogramme représentent la teneur en flavonols dans les trois extraits obtenus par macération des pétales de safran sèche.

Data were tested by one-way ANOVA and Tukey post hoc tests. Values with different superscript letters (a, b, c) are significantly different at  $p < 0.05$ ,  $p < 0.001$ .

Les trois extraits obtenus par macération à partir des pétales sèche de *Crocus sativus*. *L* ont montrés des teneurs plus importantes en flavonols, mais à des concentrations très variables. La fraction acétonique préparée par macération à partir des pétales de *crocus sativus*, présente la teneur la plus élevée en flavonols (**76,74 mg EQ/g MS**) suivie de celles de la fraction aqueuse (**40,04 mg EQ/g MS**). Cependant, l'extrait dichlorométhanique présente une teneur moins importante (**6,85 mg EQ/g MS**) par rapport aux deux fractions étudiées.

Et d'après l'ANOVA, la concentration de la fraction aqueuse est présent une différence hautement significative par rapport à la fraction acétonique et l'extrait dichlorométhanique  $p < 0.001$ . Cependant la concentration en flavonols au niveau de l'extrait dichlorométhanique est diminuée de manière hautement significative par rapport à la fraction acétonique  $p < 0.001$ .

Il paraît clairement que l'acétone est le solvant qui permet d'avoir un rendement en flavonols le plus élevé par rapport au dichlorométhane et l'eau. Alors pour extraire le maximum des flavonols il faut utiliser l'acétone.

On a comparé nos résultats par rapport à ceux obtenus par **Belyagoubi et al, 2021** sur l'extrait méthanolique de safran collecté à le Djebel Zaafran de l'Ain Commune de Fezza (coordonnée à Latitude : 34°52'36" La Nord, Longitude : 01°12'55" L'Ouest et L'altitude 863 m : Province de Tlemcen), en Algérie. C'est la même région que nous pondre nos safrans qui ont utilisé dans nos études.

La teneur en flavonols de l'extrait méthanolique des pétales de safran sèche obtenu par (**Belyagoubi et al, 2021**) est de (**5.452 mg EQ/g MS**) qui est un résultat nettement inférieur aux résultats obtenus dans notre étude par rapport à tous les trois extraits.

Alors ont dit que le méthanol, n'est pas le meilleur solvant pour extraire les flavonols. Ce qui nous amène à proposer comme solvant d'extraction pour les flavonols, l'acétone.

### **IX.1.2.3. Dosage des tanins**

#### **IX.1.2.3.1. Teneur en tanins condensés**

Cette courbe est établie en utilisant la vanilline comme référence. La formule de la régression linéaire de cette courbe est de ( $y=0,0889x + 0,0135$ ) avec un coefficient de corrélation  $R^2 = 0,9983$ . Les résultats obtenus pour le dosage des tanins condensés sont exprimés en mg équivalent de catéchine par g de matière sèche (mg EC/g MS). En utilisant les équations de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage (Figure 34).

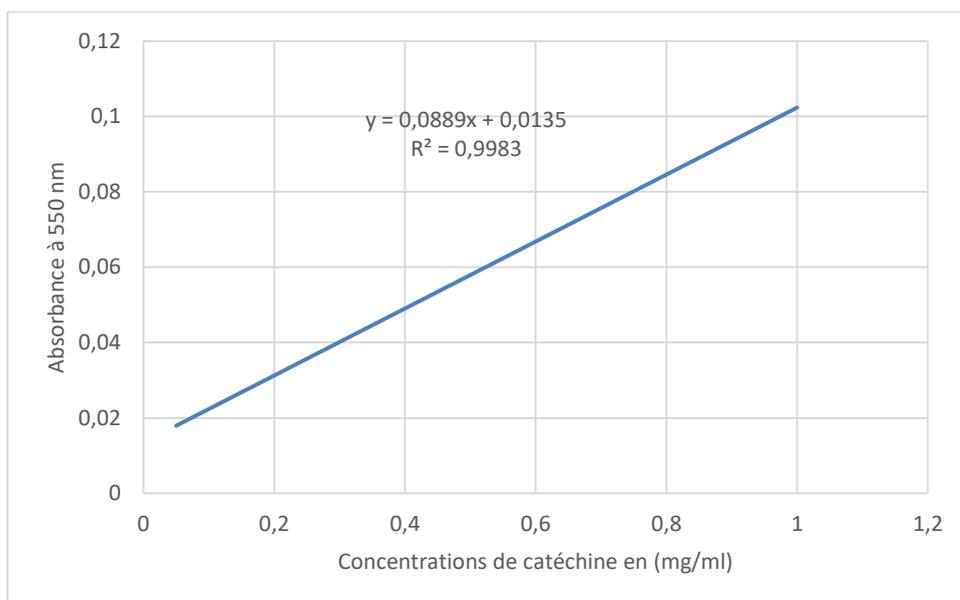


Figure 34 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés.

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

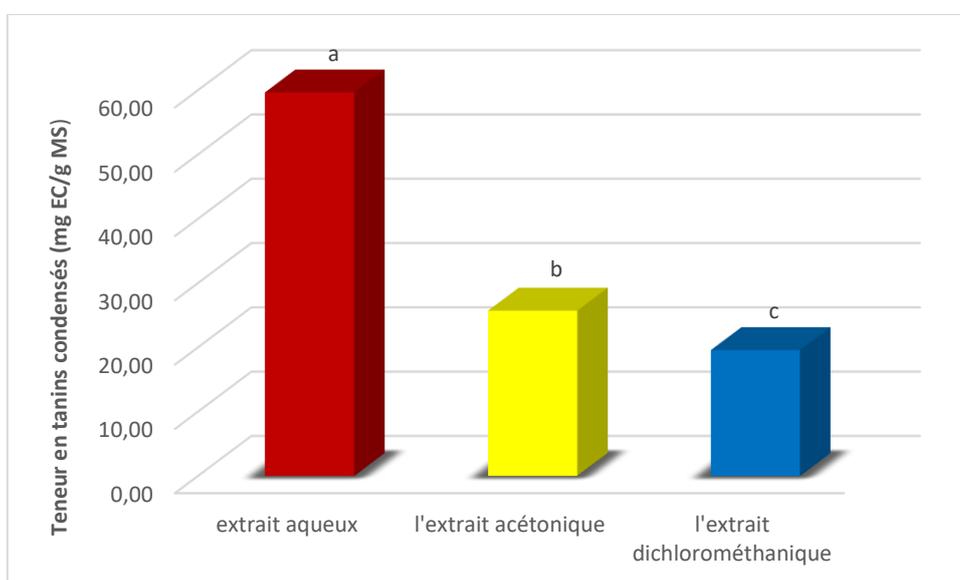


Figure 35 : Histogramme représentant la teneur en tanins condensés dans les trois extraits obtenus par macération des pétales de safran sèche.

Data were tested by one-way ANOVA and Tukey post hoc tests. Values with different superscript letters (a, b, c) are significantly different at  $p < 0.05$ ,  $p < 0.001$ .

Les trois extraits préparés par macération à partir de la fleur de *Crocus sativus.L*, ont montré la présence des tanins condensés avec des concentrations très variables. La fraction aqueuse, présente la teneur la plus élevée en tanins condensés (**59,66 mg EC/g MS**) suivie de celles de la fraction acétonique (**25,71 mg EC/g MS**). Cependant, l'extrait dichlorométhanique présente une teneur moins importante (**19,58 mg EC/g MS**) par rapport aux autres fractions.

Il paraît clairement que l'eau est le solvant qui permet d'avoir un rendement en tanins condensés le plus élevé par rapport au dichlorométhane et l'acétone. Alors pour extraire le maximum des tanins condensés il faut utiliser l'eau.

Puisque aucun résultat sur le dosage des tanins condensés n'a été rapporté par d'autres auteurs sur l'extrait ou bien la fraction (EDM, FAC, FAQ) des pétales de safran pour pouvoir comparer nos résultats. On a comparé nos résultats par rapport à les résultats de (**Belyagoubi et al, 2021**). La comparaison se fait entre les 3 extraits (EDM, FAC, FAQ) des pétales de safran sèche (PSS) par rapports à l'extrait méthanolique des PSS.

La teneur en tanins condensés de l'extrait méthanolique des pétales de safran sèche obtenu par (**Belyagoubi et al, 2021**) est de (**48.854 mg EC/g MS**) qui est un résultat nettement inférieur aux résultats obtenu dans notre étude par rapport à la fraction aqueuse mais qui reste largement supérieur par rapport à la fraction acétontique de l'ordre (**25,71 mg EC/g MS**) et aussi pour l'extrait dichlorométhanique de l'ordre (**19,58 mg EC/g MS**) qui obtenu dans notre étude.

L'eau reste le meilleur solvant pour l'extraction des tanins condensés par rapport aux autres solvants utilisés ou cités dans notre étude.

#### **IX.1.2.3.2. Teneur en tanins hydrolysables**

**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 ( $y = 0,3375x$ ) avec un coefficient de corrélation  $R^2 = 0,9978$  (Figure 36).

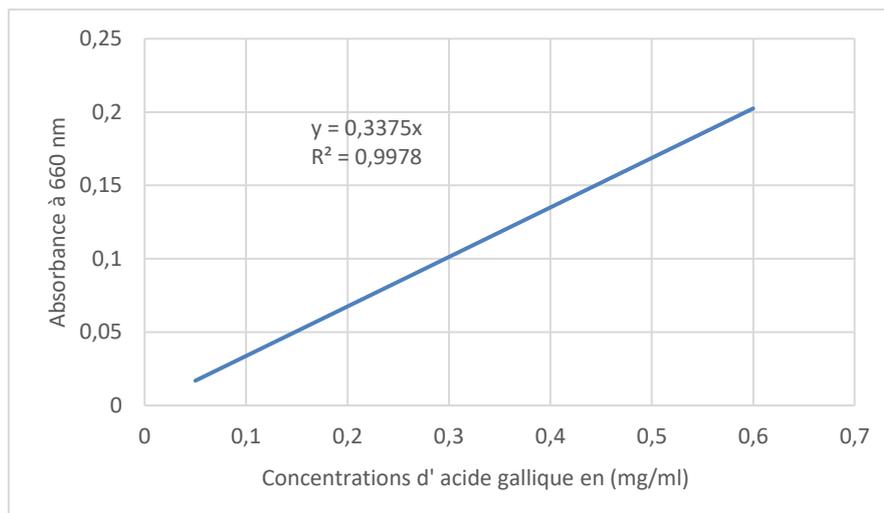


Figure 36 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des tanins hydrolysables.

Le dosage des tanins hydrolysables a été effectué par la méthode spectrophotométrique au chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ). Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent de l'acide gallique par g de matière sèche (mg EAG/g MS), en utilisant les équations de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage (Figure 36).

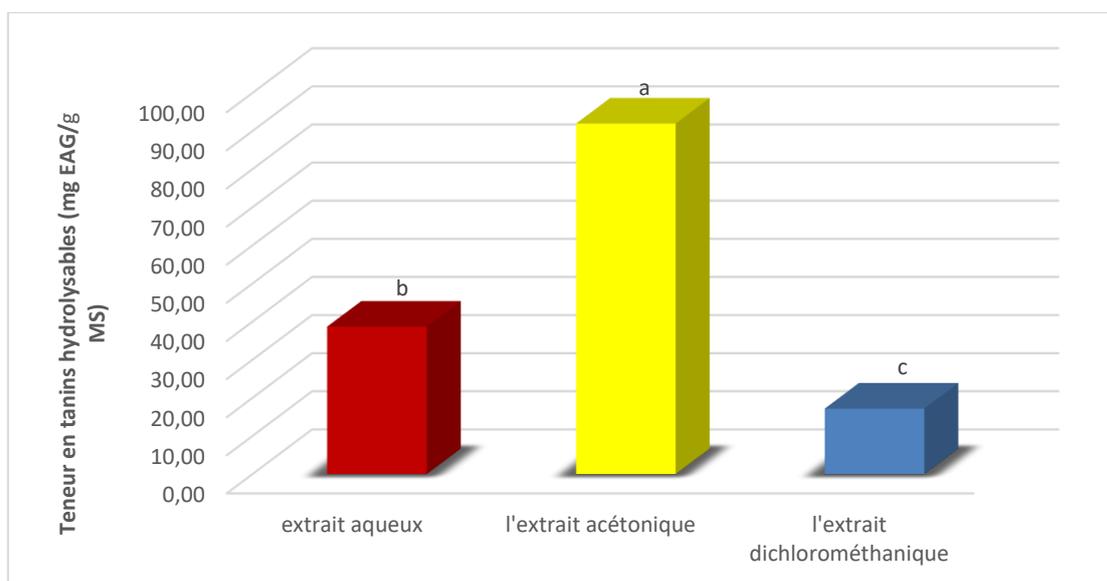


Figure 37 : Histogramme représentant la teneur en tanins hydrolysables dans les trois extraits obtenus par macération des pétales de safran sèche.

Data were tested by one-way ANOVA and Tukey post hoc tests. Values with different superscript letters (a. b .c) are significantly different at  $p < 0.05$ ,  $p < 0.001$ .

Les trois extraits préparés par macération à partir de la fleur de *Crocus sativus.L* ont montrés la présence des teneurs plus importante en tanins hydrolysables avec des concentrations très variables. La fraction acétonique préparée par macération à partir des pétales de *crocus sativus*, présente la teneur la plus élevée des tanins hydrolysables (**91,98 mg EAG/g MS**) suivie de celles de la fraction aqueuse (**38,69 mg EAG/g MS**). Cependant, l'extrait dichlorométhanique présente une teneur moins importante (**17,21 mg EAG/g MS**) par rapport aux autres fractions.

Et d'après l'ANOVA, la concentration de la fraction aqueuse est présente une différence très significative par rapport à la fraction acétonique  $p < 0.01$ , et présente une différent significatif modéré par rapport à l'extrait dichlorométhanique  $p < 0.05$ . Cependant la concentration en tanins hydrolysables au niveau de l'extrait dichlorométhanique est diminuée de manière hautement significative par rapport à la fraction acétonique  $p < 0.001$ .

Il paraît clairement que l'acétone est le solvant qui permet d'avoir un rendement en tanins hydrolysables le plus élevé par rapport au dichlorométhane et l'eau. Alors pour extraire le maximum des tanins hydrolysable il faut utiliser l'acétone.

On a comparé nos résultats par rapport à les résultats de (**Belyagoubi et al, 2021**). La comparaison se fait entre les 3 extraits (EDM, FAC, FAQ) des PSS par rapports à l'extrait méthanolique des PSS.

La teneur en tanins hydrolysables de l'extrait méthanolique des pétales de safran sèche obtenu par (**Belyagoubi et al, 2021**) est de (**277.304 mg EAG/g MS**) qui est un résultat nettement supérieur aux résultats obtenu dans notre étude par rapport à tous les extrait qui obtenu dans notre étude.

Alors ont dit que le méthanol, c'est le meilleure solvant pour extraire les tanins hydrolysables. On peut alors remplacer l'acétone par le méthanol dans l'extraction des tanins hydrolysables.

### **IX.1.3. Etude de l'activité antioxydante**

#### **IX.1.3.1. Capacité antioxydante totale (CAT)**

Le dosage de la CAT a été effectué par la méthode spectrophotométrique au phosphomolybdène.

Les résultats obtenus pour le dosage de la capacité antioxydante totale sont exprimés en mg équivalent de l'acide ascorbique par g de matière sèche (mg EAA/g MS) Ils sont basés sur la

formule de la régression de ( $y = 2.8554x$ ) avec un coefficient de détermination ( $R^2 = 0,9956$ ), (Figure 38).

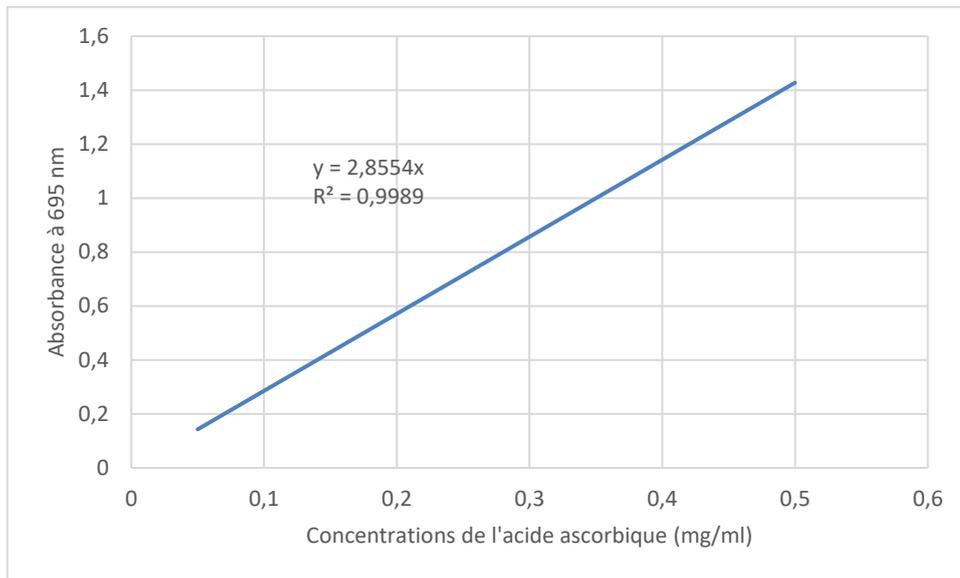


Figure 38 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour la capacité antioxydante totale.

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

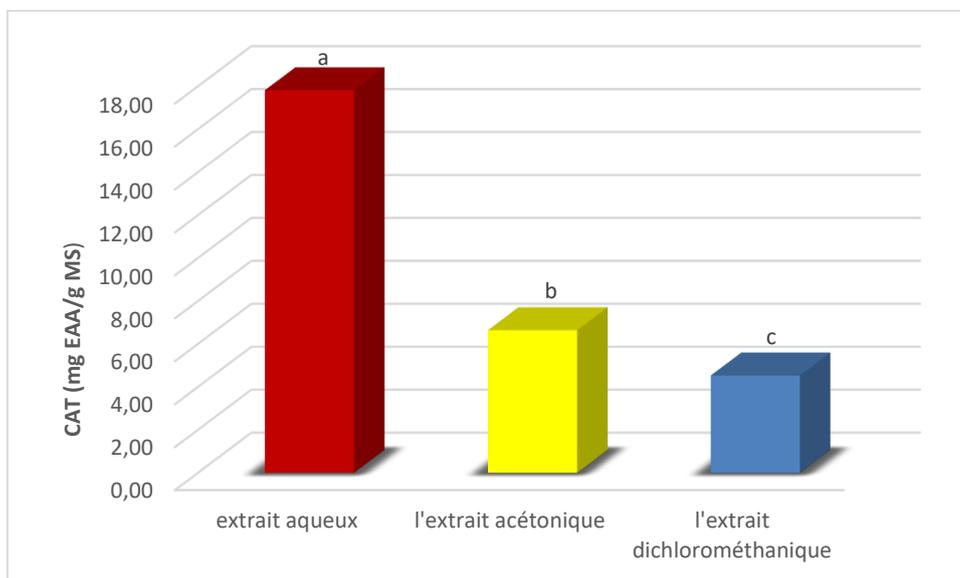


Figure 39 : Histogramme représentant la teneur en CAT dans les trois extraits obtenus par macération des pétales de safran sèche.

Data were tested by one-way ANOVA and Tukey post hoc tests. Values with different superscript letters (a, b, c) are significantly different at  $p < 0.05$ ,  $p < 0.001$ .

Les trois extraits préparés par macération à partir de la fleur de *Crocus sativus*.L ont montrés la présence des valeurs plus importante en CAT avec des valeurs très variables. La fraction aqueuse préparée par macération à partir des pétales de *crocus sativus*, présente la valeur la plus élevée on pouvoir antioxydant (**17.82 mg EAA/g MS**) suivie de celles de la fraction acétonique (**6.64 mg EAA/g MS**). Cependant, l'extrait dichlorométhanique présente un pouvoir faible qui est de l'ordre de (**4.53 mg EAA/g MS**) par rapport aux deux fractions.

Et d'après l'ANOVA, la concentration de la fraction aqueuse est présent une différence hautement significative par rapport à la fraction acétonique et l'extrait dichlorométhanique  $p < 0.001$ . Cependant la concentration en CAT au niveau de l'extrait dichlorométhanique est diminuée de manière significative modérée par rapport à la fraction acétonique  $p < 0.05$ .

Il parait clairement que l'eau est le solvant qui permet d'avoir la CAT (le pouvoir antioxydants) la plus élevé par rapport au dichlorométhane et l'acétone. Alors la fraction aqueuse des pétales de safran sèche possède un potentiel antioxydant le plus important.

Puisque aucun résultat sur la CAT n'a été rapporté par d'autres auteurs sur l'extrait au bien la fraction (EDM, FAC, FAQ) des pétales de safran pour pouvoir comparer nos résultats. On a comparé nos résultats par rapport à les résultats de (**Belyagoubi et al, 2021**). La comparaison se fait entre les 3 extraits (EDM, FAC, FAQ) des PSS par rapports à l'extrait méthanolique des PSS.

La CAT de l'extrait méthanolique des pétales de safran sèche obtenu par (**Belyagoubi et al., 2021**) est de (**69.792 mg EAA/g MS**) qui est un résultat nettement supérieur au résultats obtenu dans notre étude par rapport à tous les extrait qui obtenu dans notre étude.

Alors ont dit que le méthanol, c'est le meilleure solvant pour avoir la CAT la plus important. Ces résultats montrent que les extraits méthanoliques des pétales de safran sèche possèdent un potentiel antioxydant le plus important.

*Conclusion*

### Conclusion

Les plantes médicinales et aromatiques constituent une source très importante des molécules ayant des activités biologiques intéressantes. Dans les dernières années, les chercheurs font des études approfondies sur les composés d'origines végétales, plus précisément sur les métabolites secondaires des plantes, qui présentent des intérêts particuliers sur le plan pharmacologiques, cosmétique et agro-alimentaire. Dans le cadre de notre travail, nous nous sommes intéressés à une étude comparative en composés phénoliques et à l'activité antioxydante des pétales de safran sèche.

La production du safran engendre de nombreux sous-produits ou déchets qui sont représentés par les fleurs ou les pétales de safran. Ces déchets peuvent être exploités dans de nombreux domaines médicaux ou cosmétologies à cause de leur richesse en composés phénoliques et aussi leur effet antioxydants. Il serait donc mieux de les utiliser grâce à leur valeur importante.

C'est pour cela que notre étude est concentrée sur les pétales de safran mais l'objectif principal de nos études, est de connu quelle est le meilleur extrait des pétales de safran sèche qui extraire la meilleure teneur en composés phénolique qui est contenu dans les pétales de safran sèche.

La préparation des extraits est réalisée par la méthode de macération en utilisant trois solvants pour l'extraction : eau distillé, acétone, dichlorométhane. Vu que ne connut pas quelles est le meilleur solvant qui donne des rendements les plus élevés en composés phénoliques.

Dans cette étude, nous avons constaté que la fraction aqueuse des pétales de safran sèche est riche en polyphénols totaux avec une teneur de **(15,64 mg EAG/g MS)**, tanins condensés avec une teneur de **(59,66 mg EC/g MS)**, et présente un effet antioxydant intéressant qui a été évalué par la CAT d'ordre **(17.82 mg EAA/g MS)**, par rapport à les autres extraits.

Nous avons constaté aussi que la fraction aqueuse présente le rendement le plus élevé d'ordre (20.455 %).

Et pour la fraction acétonique des pétales de safran sèche est très riche en flavonoïdes totaux avec une teneur de **(86,77 mg EC /g de matière sèche)**, flavonols avec une teneur de **(76,74 mg EQ /g MS)** et les tanins hydrolysables avec une teneur de **(91,98 mg EAG/g MS)** par rapport aux autres extraits.

Donc on peut conclure que ces extraits possèdent une bonne activité, donc cette plante contient des molécules bioactives qui sont considérées comme des agents antioxydants de première classe et peuvent être employées pour des applications thérapeutiques, sachant que les

## *Conclusion*

antioxydants contribuent de manière très efficace à la prévention des maladies. Alors notre travail nous a permis de valoriser les pétales de safran et de conclure que ce ne sont pas des déchets et ne doivent pas être jetés.

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.

Enfin, il serait intéressant de poursuivre notre travail sur les recherches des principes actifs des épices afin de déterminer de nouvelles substances bioactives naturelles qui pourront lutter contre différents problèmes de la santé et de les utilisés comme des alternatifs au lieu des molécules de synthèse.

## *Références et annexes*

### Références bibliographiques

#### A

- **Abdellah et Mohammed (????)**. Les plantes médicinales et aromatiques. La chimie, la production, les profits.
- **Abdullaev FI (2002)**. Cancer chemopreventive and tumoricidal properties of saffron (*Crocus sativus* L). *Experimental biology and medicine*, 227 n°1,20-25.
- **Adil Farooq Wali, Houda Ahmed Abou Alchamat, Huda Khaled Hariri, Bushra Khaled Hariri, Godfred A. Menezes, Uzma Zehra, Muneeb U. Rehman and Parvaiz Ahmad (2020)**. Antioxidant, Antimicrobial, Antidiabetic and Cytotoxic Activity of *Crocus sativus* L. Petals. *Appl. Sci.*, 10, 1519.
- **Aloson G L, MR Salinas, MA Sánchez F, J Garijo (2001)**. Note. safranal content in Spanish saffron. *Food science and technology international* 7(3),225-229.
- **Anne-Laure B, Vessela A-P, Jacques G, Barreau C et Forget-Richard F (2007)**. Analyse de facteur biochimique interagissant dans le processus de biosynthèse des TCTB. Colloque Fusariotoxines des Céréales-Arcachon.
- **Ardalan T, Ardalan P, Heravi M (2012)**. Kinetic study of free radicals scavenging by saffron petal extracts. *J Chem Health Risks*, 2 : 29-36.
- **Aruoma O.I, Bahorun T et Jen L.S (2003)**. Neuroprotection par des composants bioactifs dans des extraits de plantes médicinales et alimentaires. *Recherche par mutation*, 544, 203-21.
- **Arvy M et Gallouin F (2003)**. Epices, aromates et condiments. Belin Ed, PP.216-219.
- **Asgarpanah J, Darabi-Mahboub E, Mahboubi A, Mehrab R, Hakemivala M (2013)**. In-Vitro Evaluation of *Crocus Sativus* L. Petals and Stamens as Natural Antibacterial Agents Against FoodBorne Bacterial Strains. *Iran J Pharm Sci* ; 9:69-82.
- **Astareh AR, Eskandari-Torbaghan M, Abbasi-Ali Kamar R, editors (2006)**. Effect of saffron (*crocus sativus* L.) petals on germination and primary growth of cotton (*gossypium hirsutum* L.). *II Int Symp Saffron Biol Technol* ; 739: 87-91.

### B

- **Balasundram N, Sundram K et Sammam S (2006)**. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*. 99 :191-203p.
- **Belyagoubi Larbi, Loukidi Bouchra, Belyagoubi-Benhammou Nabila, Gismondi Angelo, Di Marco Gabriele, D'Agostino Alessia, Canini Antonella, Benmahieddine Assia, Rouigueb Karima, Ben Menni Dounia et Atik-Bekkara Fawzia (2021)**. Valorization of Algerian Safron: Stigmas and Flowers as Source of Bioactive Compounds. (<https://doi.org/10.1007/s12649-021-01454-6>)
- **Benmostefa I et Guellil Z (2017)**. Dosage des polyphénols de la fleur de *Crocus sativus*. L. (Mémoire de master, université Abou bakr Belkaid, Tlemcen), 17-20-47.
- **Bergoin M (2005)**. Application du concept de raffinage végétal au safran du Quercy (*Crocus sativus*) pour la valorisation intégrée des potentiels aromatiques et colorants. (Thèse de doctorat, École doctorale : Sciences des Procédés, Toulouse), 3-21.
- **Bingham E et Corhssen B (2012)**. (Eds) - *Patty's toxicology*. 6 th edition. Volume 2. Oxford : John Wiley and Sons ; pp24-2.
- **Bonnin A L (2016)**. Autour du café (Thèse pour le diplôme de docteur en pharmacie, université agers. 16. Boulevard Daviers-49045 ANGER), 85.
- **Bretherick I (1999)**. *Handbook of reactive chemical hazards*, 6 e éd. Oxford, ButterworthHeinemann Ltd, 429-430.

### C

- **Chevalier A (1926)**. la culture de safran In : *Revue de botanique appliquée et l'agriculture coloniale*, 6<sup>o</sup>année bulletin n°59, juillet 1926. PP.407-419.
- **Chryssanthi DG, Dedes PG, Karamanos KN, Cordopatis P et Lamari FM (2011)**. Crocetin inhibits invasiveness of MDA-MB-231 Breast Cancer Cells via Downregulation of Matrix Metalloproteinases. *Planta medica*, 77(2), 146-151.
- **Clair P (2015)**. Le safran, précieuse épice ou précieux médicament ?. Université de Lorraine.

## *Références et annexes*

- **Crozet A, Durfort S, Sus-Rousset H (2012).** *Crocus sativus* L. (Iridaceae), le safran. *Phytothérapie*, 10 (2), pp. 121-125.

### **D**

- **Derbel S et Ghedira K (2005).** Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie et Nutrition*. 1 :28-34p.
- **Dupont J (2001).** Dimensions culturelles et culturelles du safran en France. *Empan*. 41:34-38.
- **Dupont G (2007).** abrégé de botanique systématique moléculaire.14<sup>e</sup>édition. Masson Ed, p108.

### **E**

- **Ebrahimzadeh H et Radjabian T (1998).** “Comparative analysis of pigments in petals and stigmata of *Crocus almezensis* C. Brickell and *B. Mathew* and *Crocus sativus* L.” *J. Sci. Islam. Repub. Iran*, 9 (2) : 127-135.
- **Eirini C, Nikolaos P, kolaos K, et Georgia V (2015).** Saffron: a natural product with potential pharmaceutical applications. *Royal Pharmaceutical Society, Journal of Pharmacy and Pharmacology*, Vol. 16 n° 67, p. 1635-1636-1645.
- **eka K, Ruparelia KC, Continenza MA, Stagos D, Vegliò F, Arroo RR (2015).** Petals of *Crocus sativus* L. as a potential source of the antioxidants crocin and kaempferol. *Fitoterapia* ;107 :128-134.
- **Elliott B (2006).** *The Royal Horticultural Society pocket diary*. Frances Lincoln Ltd, London, England.
- **Evrin Y (2007).** Developpement of in vitro micropropagation techniques for Saffron (*Crocus sativus*. L). (Mémoire de master, The graduate school of natural and applied sciences of middle east technical university, s.l). 8-9

### **F**

## *Références et annexes*

- **Fahim NK, Janati SF, Feizy J (2012).** Chemical composition of agriproduct saffron (*Crocus sativus* L.) petals and its considerations as animal feed. *GIAD J Food* ; 37:197-201.
- **Favre E (2008).** Le safran - l'anti kilo l'anti déprime. Terre d'hommes Ed. 177 p.
- **Fernández J-A (2004).** Biology, biotechnology and biomedicine of saffron. *Recent Research Developments in Plant Science*. 36, 127-159.
- **France agrimer (2013).** Établissement national des produits de l'agriculture et de la mer. Conseil spécialisé des plantes à parfum aromatiques et médicinales (PPAM) ; focus plante : cas du safran. Rapport de séance du 31/01/2013. 15 p. [En ligne] disponible sur : <http://www.franceagrimer.fr/content/download/21314/174562/file/2.2%20-%20Safran.pdf>. (Page consultée le 10/07/14)

### G

- **Garrido J. L, Diez de Bethencourt C et Revilla E (1987).** “Flavonoid composition of hydrolyzed tepal extracts of *Crocus sativus* L.” *An. Bromatol.*, 39 (1): 69-80.
- **Geneva (2003).** ISO-3632-2-2003, International Organisation For Standardization.
- **Goupy P, Abert Vian M, Caris-Veyrat C, Chemat F (2013).** « Identification and quantification of flavonols, anthocyanins and lutein diesters in tepals of *Crocus sativus* by ultra-performance liquid chromatography coupled to diode array and ion trap mass spectrometry detections. *Industrial crops and products* », P 496-510.
- **Guignard JL, Cosson L, Henry M (1985).** *Abrégé de phytochimie*. Masson Paris. P 138.
- **Gutheil WG, Reed G, Ray A, Anant S and Dhar A (2012).** Crocetin : an agent derived from saffron for prevention and therapy for cancer. *Curr pharm biotechnol* 13(1) : 173-9.

### H

- **Hadizadeh F, Khalili N, Hosseinzadeh H, Khair-Aldine R (2003).** Kaempferol from saffron petals. *Iran J Pharm Res*; 2: 251-252.

## *Références et annexes*

- **Heywood Vernon H (1996).** les plants à fleurs. Nathan.
- **Hosseini A, Razavi BM, Hosseinzadeh H (2018).** Saffron (*Crocus sativus*) petal as a new pharmacological target: A review. *Iran. J. Basic Med. Sci*, 21, 1091–1099.
- **Hosseinzadeh H et Younesi Hani M (2002).** “Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Crocus sativus* L. stigma and petal extracts in mice.” *BMC pharmacology*, 15 : 2-7.
- **Hosseinzadeh H, Motamedshariaty V, Hadizadeh F (2007).** Antidepressant effect of kaempferol, a constituent of saffron (*Crocus sativus*) petal, in mice and rats. *Pharmacologyonline* ; 2:367-370.
- **Hu Y, Lu-pings Q, Qiao-yan Z, Rahman K, Ting-Han, Ting-Ting H&Yu-Zhu (2008).** Comparative study of composition of essential oil from stigmas and of extract from corms of *Crocus sativus*. *Chemistry of natural compounds*.44 (55), pp 666-667.

### I

### J

- **Jadouali SM, Bouzoubaâ Z, Majourhat K, Mamouni R, Gharby S and Atifi H (2017).** Polyphenols content, flavonoids and antioxidant activity of petals, stamens, styles and whole flower of *Crocus sativus* of Taliouine. *ISHS*. ; 301-308.
- **John C, et Leffingwell Ph. D (2002).** Saffron. *Leffingwell Report*, Vol 2 n° 5, p. 2.
- **Julio E, José-Antonio F, Coca-Prados M et G L Alonso (1996).** Crocin , safranal and picrocrocin from saffron (*Crocus sativus* L )inhibit the growth of human cancer cells in vitro. *Cancer letters* 100 (1-2),23-30.

### K

- **Kesari (2014).** Quatresences. (En ligne) disponible sur : <http://www.quatresences.com/phtc-kesari-webapp/quatresences/fr/accueil/accueil>. Faces (page consultée le 5/12/14).

## *Références et annexes*

- **Khazaei KM, Jafari S, Ghorbani M, Kakhki AH, Sarfarazi M (2016).** Optimization of anthocyanin extraction from saffron petals with response surface methodology. *Food Anal Methods* ;9:1993-2001.
- **Khazdair MR, Boskabady MH, Hosseini M, Rezaee R, Tsatsakis AM (2015).** The effects of *Crocus sativus* (saffron) and its constituents on nervous system: A review. *Avicenna J Phytomed* ; 5:376-391.
- **Kirk-Othmer (2004).** Encyclopedia of chemical technology. 5 e éd., vol. 13. New York: John Wiley & sons ; 684-706.
- **Kirk-othmer (2004).** Encyclopedia of chemical technology, 5 e éd., vol. 1. New York : Wiley Interscience ; 160-177.
- **Krishna D, Chaluvadi M, Raj N and Sripal R (2001).** Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian J. Pharmacol.* 33: 2-16.
- **Kubo I et Kinst-Hori I (1999).** “Flavonols from Saffron flower: Tyrosinase inhibitory activity and inhibition mechanism.” *J. Agric. Food Chem.*, 47 (10) : 4121-4125.

### L

- **Lazérat V et Souny (2009).** Secrets desafranière. Lucien Souny Ed. Saint-paul.125p.
- **Li C-Y, Lee E J et Wu T-S (2004).** “Antityrosinase principles and constituents of the petals of *Crocus sativus*.” *J. Nat. Products*, 67 (3) : 437-440.

### M

- **Macheix JJ, Fleuriet A et Jay-Allemand C (2005).** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne. 4-5p.
- **Macheix JJ, Fleuriet A, Billot J (2006).** Fruit phenolics, CRC press, Boca Roton. In les polyphenols en agroalimentaire. Sarni-Manchado P, Cheynier V. Tec et Doc Lavoisier-Paris. P34.

## *Références et annexes*

- **Macheix JJ, Fleuriet A et Sarni-Manchado P (2006).** Composés phénoliques dans la plante, structure, biosynthèse, répartition et rôle. In : Les polyphénols en agroalimentaire. Edition Technologie et document. Paris, 380-398.
- **M Amin Mir, Kajal Parihar, Uzma Tabasum and Ekata Kumari (2016).** Estimation of alkaloid, saponin and flavonoid, content in various extracts of *Crocus sativa*. *Journal of Medicinal Plants Studies*. ; 4(5) : 171-174.
- **Melnyk J, Marcone M et Wang S (2010).** Chemical and biological properties of the world's most expensive spice : saffron, *food research international* ,43(8), pp.1981-1989.
- **Mzarbi I, Addin M, et Berrichi M (2019).** Traditional and Modern Uses of Saffron (*Crocus Sativus*). *Laboratory of Biology of Plants and Microorganisms, Faculty of Sciences, B. P. 717, Oujda 60000, Morocco ; Cosmetics, Vol. 12 n° 63, p. 1-2-3-4-6-7.*

### N

- **Nathalie C (2014).** Effet protecteur du safran contre la cardiotoxicité de la doxorubicine en condition ischémique. (Thèse de doctorat, université de Reims Champagne, Ardenne). 86-87- 93-95.
- **Nicholson R et Vermerris W (2006).** *Biochimie des composés phénoliques*. Édition : Springer. New York. 01-48p.

### O

- **Omidi A, Riahinia N, Torbati MBM et Behdani MA (2015).** Evaluation of protective effect of hydroalcoholic extract of saffron petals in prevention of acetaminophen-induced renal damages in rats. *Vet Sci Dev* ;5 : 68-71.
- **Orgaard A, Jensen L (2008).** The effects of soy isoflavones on obesity. *Exp Biol Med*. 233 : 1066-1080.
- **Oubahou AA et El otmani M (2002).** La culture de safran. *Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II Complexe Corticole d'Agadir, Vol 4 n° 9, p. 2.*

### P

- **Palomares C (1988).** Le safran, Precieuse Epice Ou Precieux Medicament. Thèse de doctorat. Université de Lorraine, Université Mentouri de costantine.

## *Références et annexes*

- **Palomares C (2015).** Le safran, précieuse épice ou précieux médicament. (Thèse de doctorat, université de Lorraine, Nancy). 14-15-43-46-88-89-101.
- **Phylactiv (2014).** Pour une beauté sans compromis. Capgeris. (En ligne) disponible sur : [http://www. Capgeris. Com/ beauté-1462 /phyl-active-pour-une-beauté-sans-compromisa13011. Htm](http://www.Capgeris.Com/beauté-1462/phyl-active-pour-une-beauté-sans-compromisa13011.Htm). (Page consultée le 5/12/14).
- **Pierlot G (1925).** “Le safran.” Chim. Ind., 14 (6) : 1-12.
- **Pohanish RP et Greene SA (2009).** Wiley guide to chemical incompatibilities. 3 edition. Hoboken : John Wiley and sons ; 1 110 p.

### Q

### R

- **Rahimi M (2015).** Chemical and Medicinal Properties of Saffron. Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences, Vol. 4 n° 3, p. 69-70-72-73-78-81.
- **Ramin R et Hossein H (2013).** Safranal : From an Aromatic Natural Product to a Rewarding Pharmacological Agent. Iranian Journal of Basic Medical Sciences, Vol 16 n° 01, p. 2.
- **Renaud S, De Lorgeril M (1992).** Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. Lancet. 339 : 1523-1526.

### S

- **Saitô N, Mitsui S et Hayashi K (1960).** “Delphin, the anthocyanin of medicinal saffron and its identity with hyacin as shown by paper chromatography of partial hydrolysates.” Bot. Mag. Tokyo, 36 : 340-345.
- **Sampathu S R, Shivashankar S et Luis Y S (1984).** “ Saffron (crocus sativus L) cultivation, processing, chemistry and standardization”. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 20(2) : 123- 157.
- **Scalbert A, Johnson IT et Saltmarsh M (2005).** Polyphenols : antioxidants and beyond. American J Clinical Nutrition. 81 : 215-217.

## *Références et annexes*

- **Seidel A (2007).** Kirk-Othmer encyclopedia of chemical technology. 26 volumes. New-York : John Wiley and Sons.
- **Serrano-Díaz J, Carmen Estevan, M. Ángel Sogorb, Manuel Carmona, Gonzalo L. Alonso, Eugenio Vilanova (2013).** Cytotoxic effect against 3T3 fibroblasts cells of saffron floral bio-residues extracts. Elsevier. Food Chemistry 147, 55–59.
- **Siddiqui M J, Saleh S M, Binti Basharuiddin N B, Binti Zamri S H, Mohd Najib M H, Muhammad Z B, binti Mohd Noor NA, Hanin N, Binti M, Norazian M H et Alfi K (2018).** Saffron (*Crocus sativus*. L) : As an antidepressant. Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences, Vol. 10 n° 4, p. 173.
- **Stelluti S, Caser M, Demasi S, Scariot V (2021).** Sustainable Processing of Floral Bio-Residues of Saffron (*Crocus sativus* L.) for Valuable Biorefinery Products. Plants. ; 10, 523. (<https://doi.org/10.3390/plants10030523>).

### T

- **Teixeira B, Marque A, Ramos C, Batista I, Serrano C, Matos O, Neng N R, Nogueira J M F, Saraiva J A et Nunes M L (2012).** Chemical composition of essential oil and antioxidant and antimicrobial properties of extracts and essential oil. Industrial Crops and Products, Vol 7 n° 36, p. 81-87.
- **Termentzi A, Kokkalou E (2008).** LC-DAD-MS (ESI+) analysis and antioxidant capacity of crocus sativus petal extracts. Planta Med ;74 : 573-581.
- **Terra X, Valls J, Vitrac X (2007).** Grape-seed procyanidins act as anti-inflammatory agents in endotoxin-stimulated RAW 264.7 macrophages by inhibiting NFκB signaling pathway. J Agric Food Chem. 55 : 4357-4365.
- **Teusher E, Anton R et Lobstein A (2005).** Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles Lavoisier Ed., Illkirch. pp. 429 -435.

### U

- **Urquiaga I et Leighton (2000).** N. E. S. et Leighton F. E. D. E. Antioxydants d e polyphénols végétaux et stress oxydatif. Biol. Res. 33 : 55-64p.

## *Références et annexes*

- **Ursat J (1913).** Le safran du Gatinais. Pithiviers. 45 p.

### V

- **Verma SK et Bordia A (1998).** antioxidant property of saffron in man. Indian Journal of medical sciences, 52(5), 205-207.

### W

- **Willard P (2001).** Secrets of saffron the vagabond Life of the world's Most seductive Spice (<http://books.google.com/books?ie=UTF-8&hl=en&id=WsUaFT713QsC>), beacon press, P.3, ISBN 0-8070-5008-3.
- **Winterhalter P and Straubinger M (2000).** Saffron-renewed interest in an ancient spice. Food Rev Int. 16(1):3959.

### X

### Y

### Z

- **Zakaria B, Aziza M et Thierry G (2017).** Développement de l'agriculture biologique dans la région de khénifra, Maroc : cas du safran. Afrique Science 13 (5), 262-274.
- **Zakaria B, Aziza M, Oumaima B et Theirry G (2018).** Effet des précédents cultureux et de la densité du semis sur la culture de safran biologique (crocus sativus L). Afrique science 14(3) :14-27.
- **Zarez, Adeh M, Vazifeshenas-Darimiyan K, Afshar M, Valavi M, Serki E et Hosseini M (2017).** Effects of Extract of Crocus sativus Petal on Renal Function in Diabetic Rats. J Mazandaran Univ Med Sci ;27:11-24.
- **Zimmer N et Cordesse R (1996).** Influence des tannins sur la valeur nutritive des aliments des ruminants. INRA productions animales. 9(3) :167-179p.

### Les Références électroniques

**Anonyme 01** : <https://fr-academic.com/dic.nsf/frwiki/1480903>

**Anonyme 02** : [https://www.gerbeaud.com/jardin/fiches/fp\\_crocus\\_safran.php3](https://www.gerbeaud.com/jardin/fiches/fp_crocus_safran.php3)

**Anonyme 03** : <https://www.techno-science.net/glossaire-definition/Solvant.html>

**Anonyme 04** : <http://www.sometrav-paca.org/sites/default/files/2016-08/EPP-Solvants-CARSAT.pdf>

**Anonyme 05** : <https://www.aquaportail.com/definition-13917-eau-distillee.html>

**Anonyme 06** : <https://biologiesansfrontieres.org/wp-content/uploads/2018/04/Fiche-infos-BSF-Humatem-Distillateur.pdf>

**Anonyme 07** : n-Hexane. Registration Dossier. ECHA, 2019 (<https://echa.europa.eu/fr/home>).

**Anonyme 08** : Toxicological Review of n-Hexane. Environmental Protection Agency (US EPA), 2005. (<https://www.epa.gov/iris>).

**Anonyme 09** : n-HEXANE. In : CORAP Substance evaluation conclusion and evaluation report for n-Hexane. 2017 : 55p. (<https://echa.europa.eu/fr/substance-information/-/substanceinfo/100.003.435>).

**Anonyme 10** : n-Hexane. 2001. In : TLVs and BEIs documentation. Cincinnati, ACGIH ; 2019 : CD-ROM.

**Anonyme 11** : n-HEXANE. In : HSDB. NLM, 2013 ([toxnet.nlm.nih.gov/](http://toxnet.nlm.nih.gov/)).

**Anonyme 12** : Hexane normal. In : Répertoire toxicologique. CNESST, 2017 ([www.csst.qc.ca/prevention/reptox/pages/repertoire-toxicologique.aspx](http://www.csst.qc.ca/prevention/reptox/pages/repertoire-toxicologique.aspx)).

**Anonyme 13** : n-HEXANE. Fiche IPCS. ICSC 0279, 2017 (<https://www.cdc.gov/niosh/>).

**Anonyme 14** : n-Hexane. Toxicological profile. ATSDR, 1999 (<https://www.atsdr.cdc.gov/>).

**Anonyme 15** : n-Hexane. In : Gestis Substance Database on hazardous substance. IFA, 2018 ([www.dguv.de/ifa/gestis-database](http://www.dguv.de/ifa/gestis-database)).

**Anonyme 16** : n-Hexane. In : CAMEO Chemicals. National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA) (<https://cameochemicals.noaa.gov/>).

**Anonyme 17** : Dichlorométhane. Données technico-économiques sur les substances chimiques en France. INERIS (<https://substances.ineris.fr/fr/>).

**Anonyme 18** : Dichloromethane. In HSDB. US NLM, Date de publication (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>).

**Anonyme 19** : Dichloromethane. Dossier d'enregistrement REACH. ECHA (<https://echa.europa.eu/fr/home>).

**Anonyme 20** : Acetone - Data sheet 398. Chicago : National safety council ; 1982.

**Anonyme 21** : Hazard data bank - Sheet number 62. Acetone, The safety practitioner, 1985, 2 : 6-7.

## *Références et annexes*

### Liste des Annexes

Tableau 01 : les résultats de spectrophotomètre à 765 nm pour la gamme de la solution mère d'acide gallique à 1mg/ml, pour le dosage des polyphénols totaux.

|                                     |        |       |        |        |       |       |
|-------------------------------------|--------|-------|--------|--------|-------|-------|
| <b>C (d'acide gallique) (mg/ml)</b> | 0,0046 | 0,009 | 0,0187 | 0,0375 | 0,075 | 0,15  |
| <b>DO1</b>                          | 0,025  | 0,048 | 0,099  | 0,255  | 0,353 | 0,688 |
| <b>DO2</b>                          | 0,016  | 0,046 | 0,089  | 0,203  | 0,349 | 0,665 |
| <b>DO3</b>                          | 0,013  | 0,046 | 0,085  | 0,2    | 0,338 | 0,646 |
| <b>Moyenne</b>                      | 0,018  | 0,047 | 0,091  | 0,219  | 0,347 | 0,666 |

Tableau 02 : les résultats de spectrophotomètre à 765 nm pour les trois extraits des pétales de safran sèche et aussi leur moyenne, pour le dosage des polyphénols totaux.

|            | <b>Dilution</b> | <b>DO1</b> | <b>DO2</b> | <b>DO3</b> | <b>C mg/ml (1)</b> | <b>C mg/ml (2)</b> | <b>C mg/ml (3)</b> | <b>Masse mg/g (1)</b> | <b>Masse mg/g (2)</b> | <b>Masse mg/g (3)</b> | <b>Moyenne (mg/g)</b> |
|------------|-----------------|------------|------------|------------|--------------------|--------------------|--------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| <b>FAQ</b> | 1/32            | 0,612      | 0,611      | 0,615      | 4,31               | 4,30               | 4,33               | 15,62                 | 15,59                 | 15,69                 | 15,64                 |
| <b>FAC</b> | 1/4             | 0,91       | 0,923      | 0,93       | 0,80               | 0,81               | 0,82               | 8,35                  | 8,47                  | 8,54                  | 8,45                  |
| <b>EDM</b> | 1/4             | 0,801      | 0,794      | 0,793      | 0,70               | 0,70               | 0,70               | 5,65                  | 5,60                  | 5,59                  | 5,61                  |

Tableau 03 : les résultats de spectrophotomètre à 510 nm pour la gamme de la solution mère de catéchine à 1mg/ml, pour le dosage des flavonoïdes totaux.

|                                 |       |       |       |       |       |       |       |       |
|---------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| <b>C (de catéchine) (µg/ml)</b> | 50    | 100   | 200   | 300   | 400   | 500   | 600   | 700   |
| <b>C (mg/ml)</b>                | 0,05  | 0,1   | 0,2   | 0,3   | 0,4   | 0,5   | 0,6   | 0,7   |
| <b>DO1</b>                      | 0,155 | 0,184 | 0,362 | 0,62  | 0,742 | 0,995 | 1,19  | 1,164 |
| <b>DO2</b>                      | 0,231 | 0,266 | 0,504 | 0,752 | 0,703 | 1,003 | 1,244 | 1,488 |
| <b>DO3</b>                      | 0,185 | 0,98  | 0,431 | 0,515 | 0,903 | 1,283 | 1,682 | 1,084 |
| <b>Moyenne</b>                  | 0,190 | 0,477 | 0,432 | 0,629 | 0,783 | 1,094 | 1,372 | 1,245 |

Tableau 04 : les résultats de spectrophotomètre à 510 nm pour les trois extraits des pétales de safran sèche et aussi leur moyenne, pour le dosage des flavonoïdes totaux.

|            | <b>Dilution</b> | <b>DO1</b> | <b>DO2</b> | <b>DO3</b> | <b>C mg/ml (1)</b> | <b>C mg/ml (2)</b> | <b>C mg/ml (3)</b> | <b>Masse mg/g (1)</b> | <b>Masse mg/g (2)</b> | <b>Masse mg/g (3)</b> | <b>Moyenne (mg/g)</b> |
|------------|-----------------|------------|------------|------------|--------------------|--------------------|--------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| <b>EDM</b> | 1/25            | 0,18       | 0,248      | 0,309      | 4,00               | 5,51               | 6,87               | 32,09                 | 44,21                 | 55,08                 | 49,65                 |
| <b>FAC</b> | 1/25            | 0,391      | 0,28       | 0,357      | 8,69               | 6,22               | 7,93               | 90,71                 | 64,96                 | 82,83                 | 86,77                 |
| <b>FAQ</b> | 1/25            | 0,488      | 0,56       | 0,466      | 10,85              | 12,45              | 10,36              | 39,34                 | 45,15                 | 37,57                 | 38,46                 |

## *Références et annexes*

Tableau 05 : les résultats de spectrophotomètre à 440 nm pour la gamme de la solution mère de quercétine à 1mg/ml, pour le dosage des flavonols.

| <b>C (de quercétine)<br/>(mg/ml)</b> | 1     | 0,5   | 0,25  | 0,125 | 0,0625 | 0,03125 | 0.015625 | 0.0078125 |
|--------------------------------------|-------|-------|-------|-------|--------|---------|----------|-----------|
| <b>DO1</b>                           | 0.719 | 0,669 | 0,559 | 0,241 | 0,17   | 0,14    | 0.072    | 0.045     |
| <b>DO2</b>                           | 0,693 | 0,632 | 0,44  | 0,201 | 0,153  | 0,113   | 0.066    | 0.042     |
| <b>DO3</b>                           | 0,736 | 0,555 | 0,566 | 0,228 | 0,132  | 0,113   | 0.065    | 0.046     |
| <b>Moyenne</b>                       | 0,716 | 0,619 | 0,522 | 0,223 | 0,152  | 0,122   | 0.068    | 0.044     |

Tableau 06 : les résultats de spectrophotomètre à 440 nm pour les trois extraits des pétales de safran sèche et aussi leur moyenne, pour le dosage des flavonols.

|            | <b>Dilution</b> | <b>DO1</b> | <b>DO2</b> | <b>DO3</b> | <b>C<br/>mg/ml<br/>(1)</b> | <b>C<br/>mg/ml<br/>(2)</b> | <b>C<br/>mg/ml<br/>(3)</b> | <b>Masse<br/>mg/g<br/>(1)</b> | <b>Masse<br/>mg/g<br/>(2)</b> | <b>Masse<br/>mg/g<br/>(3)</b> | <b>Moyenne<br/>(mg/g)</b> |
|------------|-----------------|------------|------------|------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|---------------------------|
| <b>FAQ</b> | 1/25            | 0,81       | 0,85       | 0,871      | 10,36                      | 10,90                      | 11,18                      | 37,59                         | 39,53                         | 40,55                         | 40,04                     |
| <b>FAC</b> | 1/50            | 0,34       | 0,321      | 0,299      | 8,15                       | 7,65                       | 7,06                       | 85,12                         | 79,81                         | 73,67                         | 76,74                     |
| <b>EDM</b> | 1/25            | 0,105      | 0,093      | 0,084      | 0,93                       | 0,77                       | 0,65                       | 7,50                          | 6,21                          | 5,24                          | 6,85                      |

Tableau 07 : les résultats de spectrophotomètre à 550 nm pour la gamme de la solution mère de catéchine à 1mg/ml, pour le dosage des tanins condensé.

| <b>C (de catéchine)<br/>(µg/ml)</b> | 50    | 100   | 200   | 300   | 400   | 500   | 600   | 700   | 800   | 900   | 1000  |
|-------------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| <b>C(mg/ml)</b>                     | 0,05  | 0,1   | 0,2   | 0,3   | 0,4   | 0,5   | 0,6   | 0,7   | 0,8   | 0,9   | 1     |
| <b>DO1</b>                          | 0,016 | 0,013 | 0,011 | 0,02  | 0,036 | 0,047 | 0,059 | 0,023 | 0,111 | 0,071 | 0,078 |
| <b>DO2</b>                          | 0,02  | 0,034 | 0,052 | 0,022 | 0,035 | 0,071 | 0,046 | 0,048 | 0,051 | 0,073 | 0,103 |
| <b>DO3</b>                          | –     | –     | 0,061 | 0,034 | 0,019 | 0,048 | 0,049 | 0,086 | 0,095 | 0,096 | 0,127 |
| <b>Moyenne</b>                      | 0,018 | 0,024 | 0,041 | 0,025 | 0,030 | 0,055 | 0,051 | 0,052 | 0,086 | 0,080 | 0,103 |

Tableau 08 : les résultats de spectrophotomètre à 550 nm pour les trois extraits des pétales de safran sèche et aussi leur moyenne, pour le dosage des tanins condensé.

|            | <b>Dilution</b> | <b>DO1</b> | <b>DO2</b> | <b>DO3</b> | <b>C<br/>mg/ml<br/>(1)</b> | <b>C<br/>mg/ml<br/>(2)</b> | <b>C<br/>mg/ml<br/>(3)</b> | <b>Masse<br/>mg/g<br/>(1)</b> | <b>Masse<br/>mg/g<br/>(2)</b> | <b>Masse<br/>mg/g<br/>(3)</b> | <b>Moyenne<br/>(mg/g)</b> |
|------------|-----------------|------------|------------|------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|---------------------------|
| <b>EDM</b> | Sans            | 0,101      | 0,181      | 0,28       | 0,98                       | 1,88                       | 3,00                       | 7,89                          | 15,11                         | 24,04                         | 19,58                     |
| <b>FAC</b> | Sans            | 0,221      | 0,279      | 0,244      | 2,33                       | 2,99                       | 2,59                       | 24,36                         | 31,17                         | 27,06                         | 25,71                     |
| <b>FAQ</b> | 1/2             | 0,986      | 0,839      | 0,993      | 21,88                      | 9,29                       | 11,02                      | 79,36                         | 33,68                         | 39,97                         | 59,66                     |

Tableau 09 : les résultats de spectrophotomètre à 660 nm pour la gamme de la solution mère d'acide gallique à 1mg/ml, pour le dosage des tanins hydrolysables.

## *Références et annexes*

|  |        |        |       |        |       |       |       |       |       |       |       |
|--|--------|--------|-------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| <b>C (de l'acide gallique) (µg/ml)</b> | 50     | 100    | 200   | 300    | 400   | 500   | 600   | 700   | 800   | 900   | 1000  |
| <b>C(mg/ml)</b>                        | 0,05   | 0,1    | 0,2   | 0,3    | 0,4   | 0,5   | 0,6   | 0,7   | 0,8   | 0,9   | 1     |
| <b>DO1</b>                             | 0,016  | 0,026  | 0,045 | 0,089  | 0,13  | 0,149 | 0,197 | 0,251 | 0,296 | 0,32  | 0,38  |
| <b>DO2</b>                             | 0,021  | 0,041  | 0,071 | 0,106  | 0,126 | 0,191 | 0,225 | 0,315 | 0,346 | 0,354 | 0,392 |
| <b>Moyenne</b>                         | 0,0185 | 0,0335 | 0,058 | 0,0975 | 0,128 | 0,17  | 0,211 | 0,283 | 0,321 | 0,337 | 0,386 |

Tableau 10 : les résultats de spectrophotomètre à 660 nm pour les trois extraits des pétales de safran sèche et aussi leur moyenne, pour le dosage des tanins hydrolysables.

|            | <b>Dilution</b> | <b>DO1</b> | <b>DO2</b> | <b>DO3</b> | <b>C mg/ml (1)</b> | <b>C mg/ml (2)</b> | <b>C mg/ml (3)</b> | <b>Masse mg/g (1)</b> | <b>Masse mg/g (2)</b> | <b>Masse mg/g (3)</b> | <b>Moyenne (mg/g)</b> |
|------------|-----------------|------------|------------|------------|--------------------|--------------------|--------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| <b>FAQ</b> | 1/8             | 0,418      | 0,595      | 0,482      | 9,91               | 14,10              | 11,43              | 35,94                 | 51,16                 | 41,44                 | 38,69                 |
| <b>FAC</b> | 1/4             | 0,701      | 0,62       | 0,786      | 8,31               | 7,35               | 9,32               | 86,72                 | 76,70                 | 97,24                 | 91,98                 |
| <b>EDM</b> | 1/4             | 0,173      | 0,012      | 0,189      | 2,05               | 0,14               | 2,24               | 16,44                 | 1,14                  | 17,97                 | 17,21                 |

Tableau 11 : les résultats de spectrophotomètre à 695 nm pour la gamme de la solution mère d'acide ascorbique à 1mg/ml, pour la CAT.

|  |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
|--|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| <b>C (de l'acide ascorbique) (µg/ml)</b> | 50    | 100   | 200   | 300   | 400   | 500   | 600   | 700   | 800   | 900   | 1000  |
| <b>C(mg/ml)</b>                          | 0,05  | 0,1   | 0,2   | 0,3   | 0,4   | 0,5   | 0,6   | 0,7   | 0,8   | 0,9   | 1     |
| <b>DO1</b>                               | 0,144 | 0,289 | 0,575 | 0,883 | 1,113 | 1,302 | 1,496 | 1,65  | 1,818 | 2,027 | 2,229 |
| <b>DO2</b>                               | 0,159 | 0,29  | 0,625 | 0,887 | 1,134 | 1,329 | 1,541 | 1,74  | 1,78  | 1,943 | 2,131 |
| <b>DO3</b>                               | 0,181 | 0,295 | 0,638 | 0,915 | 1,162 | 1,538 | 1,636 | 1,43  | 1,86  | 1,924 | 2,12  |
| <b>Moyenne</b>                           | 0,161 | 0,291 | 0,613 | 0,895 | 1,136 | 1,390 | 1,558 | 1,607 | 1,819 | 1,965 | 2,16  |

Tableau 12 : les résultats de spectrophotomètre à 695 nm pour les trois extraits des pétales de safran sèche et aussi leur moyenne, pour la CAT.

|            | <b>Dilution</b> | <b>DO1</b> | <b>DO2</b> | <b>DO3</b> | <b>C mg/ml (1)</b> | <b>C mg/ml (2)</b> | <b>C mg/ml (3)</b> | <b>Masse mg/g (1)</b> | <b>Masse mg/g (2)</b> | <b>Masse mg/g (3)</b> | <b>Moyenne (mg/g)</b> |
|------------|-----------------|------------|------------|------------|--------------------|--------------------|--------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| <b>FAQ</b> | 1/25            | 0,558      | 0,527      | 0,598      | 4,89               | 4,61               | 5,24               | 17,72                 | 16,74                 | 18,99                 | 17,82                 |
| <b>FAC</b> | 1/25            | 0,064      | 0,071      | 0,083      | 0,56               | 0,62               | 0,73               | 5,85                  | 6,49                  | 7,59                  | 6,64                  |
| <b>EDM</b> | 1/8             | 0,205      | 0,194      | 0,206      | 0,57               | 0,54               | 0,58               | 4,61                  | 4,36                  | 4,63                  | 4,53                  |

## Résumé

Notre travail porte sur l'étude d'une plante médicinale *Crocus sativus.L* connue sous le nom de safran et désignée par l'appellation de l'or rouge en raison de son prix élevé, vendu entre 4500 et 5000 DA pour le gramme. C'est l'épice la plus chère au monde.

La présente étude décrit l'effet du solvant par rapport à l'extraction de différents composés phénoliques des pétales de la plante *Crocus sativus.L* et leur caractérisation physicochimique et aussi pour évaluer le potentiel antioxydant. Ces pétales sont considérés comme des déchets et presque totalement négligés sur le plan commercial.

Nous avons réalisé une seule méthode d'extraction (macération) avec trois solvants différents (l'eau distillée, acétone, dichlorométhane). L'analyse quantitative des extraits montre la richesse des pétales du safran en composés phénoliques. Concernant le dosage des polyphénols totaux et les tanins condensés des pétales de safran, les résultats démontrent que la fraction aqueuse, présente une concentration plus importante que les autres. Et pour le dosage des flavonoïdes totaux, flavonols et les tanins hydrolysables, les résultats démontrent que la fraction acétonique, présente une concentration plus importante que les autres. L'activité antioxydante des extraits a été évaluée par la capacité antioxydante totale (CAT). Les résultats obtenus révèlent que la fraction aqueuse possède un effet antioxydant le plus intéressant.

**Mots clés :** *Crocus sativus.L*, pétales, polyphénols, CAT.

## Abstract

Our work focuses on the study of a medicinal plant *Crocus sativus. L* known as saffron and designated by the name of red gold because of its high price, sold between 4500 and 5000 DA for the gram. It is the most expensive spice in the world.

The present study describes the effect of the solvent with respect to the extraction of different phenolic compounds from the petals of the *Crocus sativus.L* plant and their physicochemical characterization and also to evaluate the antioxidant potential. These petals are considered waste and almost totally neglected commercially.

We carried out a single extraction method (maceration) with three different solvents (distilled water, acetone, dichloromethane). The quantitative analysis of the extracts shows the richness of saffron petals in phenolic compounds. Regarding the dosage of total polyphenols and condensed tannins of saffron petals, the results show that the aqueous fraction has a higher concentration than the others. And for the determination of total flavonoids, flavonols and hydrolysable tannins, the results show that the acetone fraction has a higher concentration than the others. The antioxidant activity of the extracts was evaluated by the total antioxidant capacity (CAT). The results obtained reveal that the aqueous fraction has the most interesting antioxidant effect.

**Key words:** *Crocus sativus.L*, petals, polyphenols, CAT.

## المخلص

يتعلق عملنا بدراسة نبات طبي (*Crocus sativus. L*) المعروف بالزعفران ويسمى أيضاً بالذهب الأحمر نظراً لارتفاع سعره ، وبياع بين 4500 و 5000 دج للغرام. إنها أعلى أنواع التوابل في العالم. تصف الدراسة الحالية تأثير المذيب فيما يتعلق باستخراج المركبات الفينولية المختلفة من بتلات نبات *Crocus sativus.L* وخصائصها الفيزيائية والكيميائية وأيضاً لتقييم إمكانات مضادات الأكسدة. تعتبر هذه البتلات نفايات ومهمة تجارياً تقريباً.

نفذنا طريقة استخلاص واحدة (النقع) باستخدام ثلاث مذيبات مختلفة (ماء مقطر، أسيتون، ثنائي كلورو ميثان). يظهر التحليل الكمي للمستخلصات ثراء بتلات الزعفران في المركبات الفينولية. فيما يتعلق بجرعة البوليفينول الكلي والتانينات المكثف لبتلات الزعفران، أظهرت النتائج أن الجزء المائي يحتوي على تركيز أعلى من البقية. ولتحديد إجمالي مركبات الفلافونويد والفلافونول والتانينات القابلة للتحلل بالماء، أظهرت النتائج أن جزء الأسيتون يحتوي على تركيز أعلى من الأجزاء الأخرى. تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات من خلال القدرة الكلية المضادة للأكسدة (CAT)، وأظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن الجزء المائي له تأثير مضاد للأكسدة الأكثر إثارة للاهتمام.

**الكلمات المفتاحية:** *Crocus sativus.L* ، بتلات ، بوليفينول ، CAT.