



République Algérienne Démocratique et Populaire Ministère
de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université ABOU BEKR BELKAID –TLEMCEM–



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

Département de Biologie

Laboratoire :

Antibiotiques, Antifongiques, Physico-chimie :

Synthèse et activité biologique

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie

Thème :

**Etude phytochimique, analyse chimique d'huile et re-
cherche d'activité antioxydante des extraits bruts aqueux
des graines de carthame (*Carthamus tinctorius* L.)**

Présenté par : M^{elle} SEMMOUDI Imane

Soutenu le 30-06-2025 devant les membres de jury :

Président	CHAOUCHE Mohammed Tarik	Pr	Univ. Tlemcen
Examineur	ABBOU Fayza	MCB	Univ. Tlemcen
Encadrant	AZZI Rachid	Pr	Univ. Tlem- cen

Année Universitaire : 2024/2025

Remerciements

Avant tout, mes remerciements vont à ALLAH le Tout-Puissant, qui m'a donné la force, la patience et la santé nécessaires pour mener à bien ce travail. C'est grâce à Sa volonté et Sa miséricorde que j'ai pu franchir toutes les étapes de ce parcours universitaire.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à mes parents, ainsi qu'à mon frère et mes sœurs, pour leur amour inconditionnel, leur soutien constant et leurs encouragements tout au long de ces années d'étude. Votre présence à mes côtés a été une source de force inestimable.

*J'adresse mes remerciements les plus sincères à Mr **AZZI Rachid**, Professeur au département de biologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'Université de Tlemcen, pour avoir accepté de superviser ce travail. Je suis honorée et profondément reconnaissante pour ses conseils avisés, sa disponibilité, et la qualité de son encadrement, qui ont grandement contribué à la réalisation de ce mémoire.*

*J'exprime également mes remerciements à Mr **CHAUCHE Mohammed Tarik**, Professeur et chef de département de Biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Abou Bekr Belkaïd - Tlemcen, pour l'honneur qu'il me fait de présider le jury.*

*J'adresse mes sincères remerciements à Melle **ABBOU Fayza**, maitre de conférences B. au Département de Biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie, sciences de la terre et de l'univers Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen, d'avoir accepté d'examiner ce travail ainsi que sa gentillesse.*

*Je tiens également à remercier la doctorante **AZZOUZ Marwa** pour ses efforts et sa présence constante à mes côtés. Vous avez été comme une sœur pour moi, je vous remercie du fond du cœur et je lui souhaite du succès et la réalisation de ses objectifs.*

*Je remercie chaleureusement les techniciennes de laboratoire, **Mme Fouzia et Mme Rachida**, pour leur disponibilité, leur assistance technique et leur gentillesse.*

Je n'oublie pas d'exprimer ma gratitude envers tous les enseignants du département de biologie de l'Université de Tlemcen, qui nous ont transmis leur savoir et guidé durant ces cinq années d'étude.

Dédicaces

Avec l'aide de Dieu Tout Puissant, source de force et de lumière, je suis parvenue à franchir les étapes de ce parcours, et à achever ce travail qui me tient tant à cœur.

Tous les mots ne peuvent pas exprimer la gratitude, l'amour, le respect et L'appréciation. Je dédie simplement ce travail à :

À ma merveilleuse mère, Nadjia

Dans mon cœur, tu es un symbole d'amour pur, de tendresse infinie et de dévouement sans limite. Ton soutien inébranlable, tes prières silencieuses et ton regard bienveillant m'ont accompagnée tout au long de ce chemin. Tu as été là dans les moments de doute comme dans les moments de joie, avec des mots doux ou simplement ta présence rassurante. Aujourd'hui, ce travail n'est pas seulement un accomplissement personnel, c'est une déclaration d'amour, un merci du fond du cœur. C'est à toi que je le dédie. Toi qui es mon pilier, mon inspiration, mon refuge.

Que Dieu te comble de paix, de santé et de jours heureux, comme toi tu as comblé ma vie d'amour et de lumière.

Je t'aime d'un amour que rien ne pourra jamais mesurer

À mon cher père, Ahmed,

Tu es pour moi la personne la plus honorable, mon exemple de force tranquille et de sagesse. Ma fierté, mon repère, l'homme dont la présence seule suffit à me rassurer. Dans mon cœur, tu représentes bien plus qu'un père, tu es mon appui, ma boussole dans les instants de doute. Ton regard plein de bienveillance, ton silence plein de sens, et tes efforts que je n'oublierai jamais m'ont accompagnée tout au long de ce parcours. Dans les moments difficiles comme dans les moments heureux, tu as été là, toujours, avec une patience sans faille et un amour discret mais profond. À toi, papa, ce succès est le reflet de ton courage et de ton soutien discret, mon pilier, mon inspiration, la force de mes jours et l'espoir de mes lendemains.

Que Dieu tout-puissant te protège, t'accorde la santé, la paix intérieure et de longues années de bonheur.

Je t'aime papa

À mes frères, Mohammed et Fathallah,

Merci pour votre présence rassurante et vos encouragements sincères. Vous êtes ma source de force, de rires et de confiance

À ma sœur bien-aimée Ikram,

Pour son affection constante et son soutien de chaque instant, ainsi qu'à son époux Zirar Tawfik, pour sa gentillesse et son attention.

À mon neveu adoré Oussaid,

Petite source de joie et de lumière dans ma vie.

À mes amies sincères, Zemmour Fatima Zahra et Zaoui Chaïmae,

Merci pour votre amitié précieuse, vos mots réconfortants et votre indéfectible soutien.

À toute ma famille Semmoudi,

*Pour leur affection, leur confiance et leur fierté,
je vous dédie ce travail avec tout mon amour et ma reconnaissance.*

À moi-même,

*Pour avoir persévéré malgré les doutes, les obstacles et les nuits blanches,
pour avoir cru en mes capacités et n'avoir jamais renoncé à mes rêves.
Ce mémoire est le fruit de mes efforts, de ma patience et de ma détermination.*

Et finalement, à ma grand-mère défunte,

*À celle dont la tendresse était indescriptible, dont les prières ne s'interrompaient jamais, et dont le souvenir demeure impérissable.
Malgré ton absence, ta présence continue d'éclairer mon chemin.
Qu'Allah t'enveloppe de Sa miséricorde, t'accorde le Paradis éternel, et fasse de ce travail une part de tes hassanates.*

Imane

المخلص

القرطم (*Carthamus tinctorius*) ، الذي ينتمي إلى فصيلة النجميات، هو نبات طبي وزيتي، يُعرف ببذوره الغنية بالزيت وبأزهاره التي تُستخدم تقليدياً لاستخلاص الأصباغ، والتي تُستعمل في تلوين وتطبيب الأطعمة، وكذلك في صناعة الصبغات.

تدرج هذه الدراسة في إطار البحث الكيميائي النباتي، والذي يشمل تحديد كمية المركبات الفينولية (البوليفينولات الكلية، الفلافونويدات والتانينات)، وتقييم النشاط المضاد للأكسدة باستخدام طريقة التقاط الجذور الحرة DPPH وطريقة القدرة الاختزالية للحديد (FRAP) ، من خلال المستخلصات الخام المائية التي تم الحصول عليها عبر الغلي والنقع لبذور *Carthamus tinctorius*، بالإضافة إلى تحليل كيميائي للزيت المستخلص من البذور وفصل المركبات الموجودة في المستخلص الأسييتوني للأزهار باستخدام تقنية الكروماتوغرافيا على الطبقة الرقيقة.

أظهر الزيت المستخلص من بذور القرطم بطريقة سوكسليت سائلاً ذا لون أصفر ذهبي، بنسبة مردود بلغت 48.42%. وقد بيّن هذا الزيت جودة جيدة، مطابقة لمعايير دستور الأغذية (Codex Alimentarius) لعام 2024، حيث بلغت قيمة دليل الحموضة 0.44 ملغ KOH / غ من الزيت، ودليل البيروكسيد 0.07 ميلي مكافئ/ O₂ كغ من الزيت.

كشفت الدراسة الكيميائية النباتية للمستخلصات الخام المائية المُحضرة بالغلي والنقع، عن وجود الفلويونات، الفلافونويدات، التانينات، التربينويدات، الصابونين، الكومارينات، والكينونات الحرة، مع الغياب التام للمركبات المختزلة والأنثراكينونات.

أظهرت المستخلصات الخام المائية للقرطم محتوى ملحوظاً من المركبات الفينولية. وقد قُدرت كمية البوليفينولات الكلية بـ 181.33 ± 0.003 ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك/ملغ مستخلص جاف للغلي، و 207 ± 0.006 ميكروغرام مكافئ حمض الغاليك/ملغ مستخلص جاف للنقع. وتم تحديد كمية الفلافونويدات بـ 29.75 ± 0.007 ميكروغرام مكافئ كاتيشين /ملغ مستخلص جاف في مستخلص الغلي، و 28.35 ± 0.003 ميكروغرام مكافئ كاتيشين /ملغ مستخلص جاف في مستخلص النقع. أما التانينات فقد تم استخلاصها بكميات أكبر عبر الغلي (101.5 ± 0.015 ميكروغرام مكافئ كاتيشين/ملغ مستخلص جاف)، مقارنة بالنقع (56 ± 0.003 ميكروغرام مكافئ كاتيشين/ملغ مستخلص جاف).

سجل المستخلص الخام المائي المحضر بالغلي أعلى نشاطات مضادة للأكسدة من حيث التقاط الجذور الحرة DPPH والقدرة الاختزالية للحديد، حيث بلغت قيم CI50 حوالي 1.451 ملغ/مل، و EC50 حوالي 1.42 ملغ/مل، على التوالي. ومع ذلك، تبقى هذه القيم أقل من تلك الخاصة بالجزينات المرجعية مثل حمض الأسكوربيك و BHA.

أظهرت الدراسة الكروماتوغرافية للمستخلص الأسييتوني لأزهار القرطم باستخدام الكروماتوغرافيا على الطبقة الرقيقة وجود عدة مجموعات من المستقلبات الثانوية، موزعة على خمس حزم رئيسية. وتُبرز هذه النتائج التنوع الكيميائي للمكونات وتؤكد على إمكانات نبات القرطم كمصدر طبيعي واعد للأصباغ النباتية.

الكلمات المفتاحية: بذور القرطم، زيت، مؤشرات، مستخلصات خام، النشاط المضاد للأكسدة، DPPH، FRAP، مركبات فينولية، أصباغ، كروماتوغرافيا على الطبقة الرقيقة.

Résumé

Le carthame (*Carthamus tinctorius*), appartenant à la famille des Astéracées, est une plante médicinale et oléagineuse, connue pour ses graines riches en huile et ses fleurs utilisées traditionnellement pour l'extraction de pigments, servant à colorer et aromatiser les aliments, ainsi qu'à la fabrication de teintures.

Ce travail s'inscrit dans le cadre de l'étude phytochimique, le dosage des composés phénoliques (Polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins), et à l'évaluation de l'activité antioxydante par la méthode de piégeage du radical DPPH et la méthode du pouvoir de réduction du Fer (FRAP), des extraits bruts aqueux obtenus par décoction et macération des graines de carthame (*Carthamus tinctorius*), ainsi qu'une analyse chimique de l'huile extraite des graines et une séparation des composés présents dans l'extrait acétonique des fleurs par chromatographie sur couche mince (CCM).

L'huile extraite des graines de *Carthamus tinctorius* par la méthode de Soxhlet a présenté un liquide de couleur jaune doré avec un rendement de 48,42%. Cette huile a montré une bonne qualité, conformes aux normes du **Codex Alimentarius (2024)**, avec des valeurs d'indice d'acide de 0,44 mg de KOH/g d'huile et un indice de peroxyde de 0,07 méq O₂/Kg d'huile.

L'étude phytochimique des extraits bruts aqueux préparés par décoction et macération, a révélé la présence des alcaloïdes, des flavonoïdes, des tanins, des terpénoïdes, des Saponines, des coumarines et des quinones libres et l'absence totale des composés réducteurs et des anthraquinones.

Les extraits bruts aqueux de carthame, ont noté des teneurs significatives en composés phénoliques. Les teneurs en polyphénols totaux sont estimées à $181,33 \pm 0,003 \mu\text{g Eq AG/mg ES}$ pour la décoction et à $207 \pm 0,006 \mu\text{g Eq AG/mg ES}$ pour la macération. Les flavonoïdes ont été quantifiés à $29,75 \pm 0,007 \mu\text{g Eq C/mg ES}$ dans l'extrait de décoction et à $28,35 \pm 0,003 \mu\text{g Eq C/mg ES}$ dans l'extrait de macération. En revanche, la décoction a permis une extraction plus élevée de tanins ($101,5 \pm 0,015 \mu\text{g Eq C/mg ES}$) par rapport à la macération ($56 \pm 0,003 \mu\text{g Eq C/mg ES}$).

L'extrait brut aqueux préparé par décoction a enregistré les activités antioxydantes du piégeage du radical libre DPPH et du pouvoir réducteur du fer, les plus élevés, avec des CI₅₀ de l'ordre de 1,451 mg/ml et des EC₅₀ de l'ordre de 1,42 mg/ml, respectivement. Ces activités restent inférieures à celles des molécules de référence telles que l'acide ascorbique et le BHA.

L'étude chromatographique de l'extrait acétonique des fleurs de *Carthamus tinctorius* par CCM a permis de révéler la présence de plusieurs groupes de métabolites secondaires, répartis sur cinq bandes principales. Ces observations mettent en évidence la diversité chimique des constituants et confirment le potentiel du carthame en tant que source naturelle prometteuse de colorants végétaux.

Les mots clés : Graines de *Carthamus tinctorius*, huile, les indices, extraits bruts, activité antioxydante, DPPH, FRAP, composés phénoliques, pigments, chromatographie sur couche mince.

Abstract

Safflower (*Carthamus tinctorius*), belonging to the Asteraceae family, is a medicinal and oilseed plant known for its oil-rich seeds and flowers, traditionally used for pigment extraction, used to color and flavor foods, as well as for dye production.

This work involves a phytochemical study, the determination of phenolic compounds (total polyphenols, flavonoids, and tannins), and the evaluation of antioxidant activity using the DPPH radical scavenging method and the Iron Reducing Power (FRAP) method. The crude aqueous extracts obtained by decoction and maceration of *Carthamus tinctorius* seeds were also analyzed. The chemical analysis of the oil extracted from the seeds and the separation of compounds present in the acetone extract of the flowers were performed using thin-layer chromatography (TLC). The oil extracted from *Carthamus tinctorius* seeds using the Soxhlet method was a golden-yellow liquid with a yield of 48.42%. This oil demonstrated good quality, compliant with the Codex Alimentarius (2024) standards, with acid values of 0.44 mg KOH/g of oil and a peroxide value of 0.07 meq O₂/kg of oil.

Phytochemical studies of the crude aqueous extracts prepared by decoction and maceration revealed the presence of alkaloids, flavonoids, tannins, terpenoids, saponins, coumarins, and free quinones, and the complete absence of reducing compounds and anthraquinones.

The crude aqueous safflower extracts contained significant levels of phenolic compounds. Total polyphenol contents were estimated at $181.33 \pm 0.003 \mu\text{g Eq FA/mg ES}$ for the decoction and $207 \pm 0.006 \mu\text{g Eq FA/mg ES}$ for the maceration. Flavonoids were quantified at $29.75 \pm 0.007 \mu\text{g Eq C/mg ES}$ in the decoction extract and $28.35 \pm 0.003 \mu\text{g Eq C/mg ES}$ in the maceration extract. On the other hand, the decoction allowed a higher extraction of tannins ($101.5 \pm 0.015 \mu\text{g Eq C/mg ES}$) compared to the maceration ($56 \pm 0.003 \mu\text{g Eq C/mg ES}$). The crude aqueous extract prepared by decoction demonstrated the highest antioxidant activities in DPPH free radical scavenging and iron reducing power, with CI₅₀ values of 1.451 mg/ml and EC₅₀ values of 1.42 mg/ml, respectively. These activities remain lower than those of reference molecules such as ascorbic acid and BHA.

Chromatographic study of the acetone extract of *Carthamus tinctorius* flowers by TLC revealed the presence of several groups of secondary metabolites, distributed across five main bands. These observations highlight the chemical diversity of the constituents and confirm the potential of safflower as a promising natural source of plant dyes.

Key words: *Carthamus tinctorius* seeds, oil, indices, crude extracts, antioxidant activity, DPPH, FRAP, phenolic compounds, pigments, thin-layer chromatography.

Table des matières

المخلص	
Résumé.....	
Abstract.....	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux.....	

Synthèse bibliographique

1.La famille oléique	7
2.La famille linoléique	8
3.La famille alpha-linolénique.....	8
4.La famille des corps gras riches en acides gras saturés (AGS)	8

Matériel et méthode

1 Matériel végétal	16
2 Préparation des extraits	16
2.1 Extraction des huiles par méthode Soxhlet	16
2.2 Extrait brut aqueux préparé par Macération	17
2.3 Extrait brut aqueux préparé par Décoction	18
2.4 Extrait brut acétonique préparé par Macération.....	18
2.5 Calcul du rendement.....	18
3 Tests phytochimiques	19
3.1 Composés azotés : alcaloïdes	19
3.2 Les composés phénoliques	19
3.3 Les composés terpéniques	20
3.4 Les composés réducteurs :.....	20
4 Analyse chimique d'huile fixe.....	20
4.1 Indice d'acide	20
4.2 Indice de saponification.....	21
4.3 Indice d'ester.....	22
4.4 Indice de peroxyde.....	22
5 Dosages des composés phénoliques	23
5.1 Dosage des polyphénols totaux	23
5.2 Dosage des Flavonoïdes	25
5.3 Dosage des Tanins	26
6 Recherche d'activité antioxydante	28
6.1 Recherche d'activité anti radicalaire DDPH.....	28
6.2 Pouvoir réducteur du fer (Ferric Reducing Antioxidant Power ; FRAP).....	29
7 Séparation de l'extrait acétonique par chromatographies	30

7.1 Chromatographie sur Couche Mince (CCM)	30
8 Analyse Statistique	32
Résultat et discussion	
1.Caractéristiques et rendement d'extraction	34
2.Tests phytochimiques.....	35
3.Dosages des composés phénoliques	37
4.Caractéristiques chimiques d'huile des graines de carthame	40
5.Evaluation de l'activité antioxydante.....	42
5.1. Test Piégeage du radical libre DPPH.....	42
5.2. Test du pouvoir réducteur de fer (FRAP).....	46
6.Séparation de l'extrait acétonique par chromatographie sur couche mince	49
Conclusion	
Références bibliographiques	55

Liste des abréviations

µg Eq AG/ mg ES : microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait sec

µg Eq AG/ mg ES : Microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait sec

µg Eq C /mg ES : Microgramme équivalent Catéchine par milligramme d'extrait sec

µmol Fe²⁺/g : Micromoles de fer (II) par gramme d'échantillon

AC (%) : Acidité exprimée en pourcentage d'acide oléique

AFNOR : Association Française de Normalisation

AGMI : Acides gras mono-insaturés

AGPI : Acide gras polyinsaturé

AGS : Acides gras saturés

BHA : Butylhydroxyanisol

C. albicans : *Candida albicans*

C. parapsilosis : *Candida parapsilosis*

C. sake : *Candida sake*

CCM : Chromatographie sur couche mince

CI50 : Concentration inhibitrice à 50%

DPPH : 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl

EBA : extrait brut Acétonique préparé par macération

EBD : Extrait brut aqueux préparé par décoction

EBM : Extrait brut aqueux préparé par macération

EC50 : Concentration efficace à 50%

ERA : Espèces réactives de l'azote

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

FRAP : Ferric reducing antioxidant power

GC-MS : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

I (%) : Pourcentage d'inhibition

IA : Indice d'acide

IE : Indice d'ester

II : Indice d'iode

IP : Indice de peroxyde

IS : Indice de saponification

JORADP : Journal Officiel de la République Algérienne Démocratique et Populaire

méq O₂/kg d'huile : Milliéquivalents d'oxygène par kilogramme d'huile

mg de KOH/g d'huile : Milligrammes de potasse (KOH) par gramme d'huile

mg GAE/g : Milligramme équivalent acide gallique par gramme d'extrait sec

mg QE/g : Milligramme équivalent quercétine par gramme d'extrait sec

R (%) : Rendement exprimé en pourcentage

R_f : rapport frontal

UV : Ultraviolet

Liste des figures

Figure 1:Distribution de la culture du carthame dans le monde (Zemour <i>et al.</i> ,2020).	3
Figure 2:Graines et huile de carthame (www.mundopajaros.com consulté le 7 mai 2025).....	4
Figure 3: <i>Carthamus tinctorius</i> (www.gardenia.net consulté le 7 mai 2025)	4
Figure 4:Graines de <i>Carthamus tinctorius</i> (photo personnelle).....	6
Figure 5:Pétales de carthame (photo personnelle).	10
Figure 6:Colorants de carthame (<i>Carthamus tinctorius</i>) 100% naturel (www.ginaepices.com consulté le 14 mai 2025)	11
Figure 7: différentes parties du carthame (<i>Carthamus tinctorius</i>) broyées ; (A) fleurs de carthame broyées ;(B) Graines de carthame broyées (Photo personnelle).....	16
Figure 8:Montage d'appareil de Soxhlet.....	17
Figure 9:Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux	38
Figure 10:Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes	38
Figure 11:Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins.....	39
Figure 12:Evolution des pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique.....	43
Figure 13:Evolution des pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations de BHA	43
Figure 14:Evolution des pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations d'EBD	44
Figure 15:Evolution des pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations d'EBM.....	44
Figure 16:Pouvoir réducteur du fer en présence de l'acide ascorbique	46
Figure 17:Pouvoir réducteur du fer en présence de butylhydroxyanisole.....	47
Figure 18:Pouvoir réducteur de Fer en présence de l'extrait EBD des graines de carthame <i>Carthamus tinctorius</i>	47
Figure 19:Pouvoir réducteur de Fer en présence de l'extrait EBM des graines de carthame <i>Carthamus tinctorius</i>	48
Figure 20:Séparation par chromatographie sur couche mince (CCM) du filtrat acétonique des fleurs de carthame (<i>Carthamus tinctorius</i>), révélée par exposition aux vapeurs d'iode puis observation sous lumière UV.....	50
Figure 21:Valeurs des rapports frontaux (Rf) des taches révélées dans l'extrait acétonique des fleurs de carthame (<i>Carthamus tinctorius</i>).....	51

Liste des tableaux

Tableau 1:Classification de Ghedira & Goetz (2018).	5
Tableau 2:Classification APG III (2009).....	5
Tableau 3:Méthode de dosage des polyphénols totaux	24
Tableau 4:Méthode de dosage des flavonoïdes	26
Tableau 5:Méthode de dosage des Tanins	27
Tableau 6:Caractéristiques et rendements des extraits préparés à partir des graines de Carthame (<i>Carthamus tinctorius</i>).....	34
Tableau 7:Les tests phytochimique des extraits bruts aqueux préparés de graines de carthame (<i>Carthamus tinctorius</i> L).....	36
Tableau 8:Teneurs en composés phénoliques dans les extraits bruts aqueux préparés des graines de carthame (<i>Carthamus tinctorius</i>)	39
Tableau 9:Caractéristiques chimiques d'huile des graines de carthame (<i>Carthamus tinctorius</i>)	41
Tableau 10:Les valeurs des CI50 pour le test de DPPH des différents extraits préparés de graines de carthame (<i>Carthamus tinctorius</i>) et des molécules de référence (acide ascorbique et BHA)	45
Tableau 11:Les valeurs des EC50 pour le test de FRAP des différents extraits préparés de graines de carthame (<i>Carthamus tinctorius</i>) et des molécules de référence (acide ascorbique et BHA).	48

Synthèse bibliographique



Pendant longtemps, les remèdes naturels, et surtout les plantes médicinales, ont été le principal recours de la médecine de nos grands-parents, malgré l'important développement de l'industrie pharmaceutique qui a permis à la médecine moderne de soigner un grand nombre de maladies souvent mortelles ; Actuellement, environ 80 % de la population mondiale bénéficie des bienfaits de la médecine traditionnelle à base de plantes, ce qui témoigne de la reconnaissance des connaissances empiriques transmises par nos ancêtres **(El Rhaffari & Zaid, 2002)**.

Les plantes médicinales sont des végétaux utilisés pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Elles constituent des drogues végétales dont une ou plusieurs parties possèdent des propriétés thérapeutiques **(Benmansour, 2020)**.

Les plantes médicinales occupent une place croissante sur les marchés national et international. Elles sont commercialisées afin de répondre à la demande d'une population démographique croissante, non seulement comme produits alimentaires, mais également pour leurs usages thérapeutiques et cosmétiques. Elles se présentent sous diverses formes (sèches, fraîches, extraits, distillats, etc.), à destination de multiples domaines (aromathérapie, phytothérapie, herboristerie, homéopathie, allopathie, etc.) et sont distribuées par différents canaux (pharmacies, parapharmacies, vente directe, magasins bio, à distance ou en ligne). **(Benslimane, 2020)**. *Carthamus tinctorius* est l'un de ces plantes médicinales en raison de ses nombreuses applications thérapeutiques **(Delshad et al., 2018)**.

Le carthame (*Carthamus tinctorius* L.) est une plante oléagineuse appartenant à la famille des Astéracées qui comprend environ 1623 genres et 24700 espèces. Son nom scientifique *Carthamus* provient d'une latinisation du terme arabe « quartum » ou « gurtum », qui fait référence à la teinte du colorant extrait de ses fleurs. En anglais, cette plante est connue sous le nom de *safflower*. Le carthame est mentionné sous le nom de *kusumba* dans les textes anciens. De nos jours, en Inde, il est couramment appelé *kardai* en marathi et *kusum* en hindi. En Chine, il est désigné sous le nom de *hong hua* **(Singh & Nimbkar, 2006 ; Asgarpanah & Kazemivash, 2013 ; Christenhusz & Byng, 2016 ; Mani et al., 2020)**. Il est également cultivé dans diverses régions du monde, avec une production majoritairement assurée par l'Asie, l'Amérique du Nord et l'Amérique du Sud **(Sabikhi & Kumar, 2012)**. Selon **Zemour et al., (2020)**, Le carthame se distingue par sa capacité à résister à des conditions environnementales défavorables, telles que la sécheresse et les températures élevée, Cette propriété est particulièrement remarquable, car elle confère à cette plante une adaptabilité et une résilience remarquables face aux stress abiotiques. Actuellement, son aire de production

se localise principalement dans les zones arides et semi-arides. La figure (1) indique les principales aires de culture de carthame dans le monde.

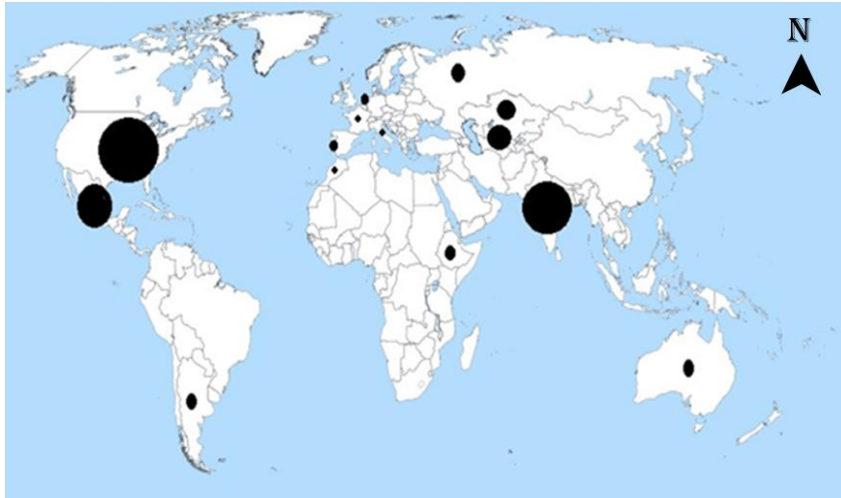


Figure 1: Distribution de la culture du carthame dans le monde (Zemour *et al.*, 2020).

Le carthame, une plante polyvalente, dont les graines, les huiles et les fleurs sont utilisées à des fins médicinales dans de nombreux pays. Il est cultivé depuis des siècles en Inde pour le colorant rouge orangé (carthamine) extrait de ses fleurs aux couleurs vives et pour son huile de qualité riche en acides gras polyinsaturés (acide linoléique) (Figure 2) (Singh & Nimbkar, 2006 ; Li & Mündel, 1996). Cette plante domestique trouve de nombreuses applications dans l'industrie pharmaceutique et cosmétique (Zemour *et al.*, 2020) ; c'est une source de nombreux composants chimiques aux activités pharmacologiques diverses, dont les plus notables sont les suivantes : activités nerveuses centrales, cardiaques, vasculaires, anticoagulantes, reproductives, gastro-intestinales, antioxydantes, hypolipidémiques et métaboliques. Ces composants offrent de nombreux autres avantages pour la santé humaine (Mani *et al.*, 2020).



Figure 2:Graines et huile de carthame (www.mundopajaros.com consulté le 7 mai 2025)

Le carthame est une plante aux multiples usages et compte parmi les plus anciennes cultures oléagineuses. Il s'agit d'une herbacée à port ramifié, dotée de fleurs munies de courtes épines. Chaque branche se termine par un capitule de forme globulaire, entouré de plusieurs rangées de bractées involucales vertes, généralement munies d'épines (Flemmer *et al.*, 2015). Les fleurs alternent, sont sessiles, disposées en spirale et épineuses. Les fleurs tubulaires (fleurons) sont bisexuées et regroupées en inflorescences terminales de couleur jaune ou rouge orangé. La plante est généralement autogame. Les graines apparaissent 20 à 30 jours après la floraison (Figure 3) (Siyoucef & Lebboukh, 2023).



Figure 3:Carthamus tinctorius (www.gardenia.net consulté le 7 mai 2025)

Classification botanique de l'espèce *Carthamus tinctorius* L. est présentée dans les tableaux 1 et 2 :

Tableau 1:Classification de Ghedira & Goetz (2018).

Règne	Plantae
Sous-règne	Viridiplantae
Super division	Embryophyta
Subdivision	Spermatophytina
Classe	Magnoliopsida
Super ordre	Asteranae
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae
Genre	<i>Carthamus</i>
Espèce	<i>Tinctorius</i>
Genre espèce	<i>Carthamus tinctorius L.</i>

Tableau 2:Classification APG III (2009).

Règne	Plantae
Clade	Angiospermae
Clade	Eudicotyledones
Clade	Asteridae
Clade	Campanulidae
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae
Genre	<i>Carthamus</i>
Espèce	<i>Tinctorius</i>
Nom binomial	<i>Carthamus tinctorius L.</i>

Le genre *Carthamus* compte environ 25 espèces et sous-espèces, dont *Carthamus tinctorius* L., qui représente l'espèce cultivée (Yesilyurt *et al.*, 2020). En raison de la reconnaissance traditionnelle de ses propriétés pharmacologiques, le carthame a fait l'objet d'un intérêt particulier de la part des spécialistes en phytogénétique, biochimie et pharmacologie. Sa composition chimique ainsi que la diversité de ses métabolites ont été bien identifiées, mettant en lumière son potentiel dans les domaines pharmaceutique et agroalimentaire. L'analyse de ses constituants non pigmentaires a révélé la présence d'acides organiques, d'acides gras, de composés polyphénoliques, de phytostérols, de sucres libres et de minéraux (Mani *et al.*, 2020). Plus de 200 substances chimiques ont été identifiées dans *Carthamus tinctorius*, parmi lesquels on retrouve principalement des flavonoïdes, des coumarines, des acides gras, des stéroïdes, des polysaccharides et des glycosides phényléthanoïdes (Asgarpanah & Kazemivash, 2013).

Le carthame génère des fruits secs appelés akènes, de couleur blanche, à surface lisse et brillante, munis d'un péricarpe épais, dont le poids unitaire varie entre 0,01 et 0,1 g (Figure 4) (sharma *et al.*, 2022).



Figure 4: Graines de *Carthamus tinctorius* (photo personnelle)

Le carthame est une plante importante en raison de ses graines riches en huiles (40 %) et de la richesse de cette huile en acide linoléique (Han *et al.*, 2009 ; Yesilyurt *et al.*, 2020). Ces graines sont connues pour être une source de protéines végétales de haute qualité. Elles en contiennent jusqu'à 16 %. Elles sont également riches en acides gras polyinsaturés, tels que les acides linoléique et linoléique, ainsi qu'en fibres alimentaires, vitamines et minéraux (Kutsenkova *et al.*, 2020). Les graines de carthame sont utilisées à des fins thérapeutiques,

notamment dans le traitement de certaines affections osseuses telles que la fragilité osseuse, l'ostéoporose, et même de la polyarthrite rhumatoïde (**Lee et al.,2002**). Ces graines sont pareillement utilisées pour obtenir de l'huile de cuisson en Europe (**Bacchetti et al., 2020**).

Les graisses et les huiles font partie intégrante de l'alimentation quotidienne. En tant que principales sources d'énergie, elles sont considérées comme des nutriments essentiels pour l'organisme humain (**Alajtal et al.,2018**). En général, chez les plantes, l'huile une substance insoluble dans l'eau est extraite des structures dures et lignifiées de certaines graines, noix, céréales et fruits issus de diverses plantes oléagineuses (**Benslimane, 2020**).

Les huiles sont les principales sources lipidiques d'origine végétale, elles sont composées en grande majorité de triglycérides (95 à 97 %), qui assurent principalement un rôle énergétique en servant de réserve de combustible pour l'ensemble des êtres vivants, ainsi que de phospholipides (moins de 1 %) et de lipides insaponifiables (0,1 à 3 %). Représentant une part significative de l'apport lipidique dans l'alimentation, les huiles végétales présentent un intérêt nutritionnel important en raison de leur richesse et de la diversité en acides gras, notamment en acides gras polyinsaturés et monoinsaturés, tels que l'acide oléique. Chez l'homme, les besoins nutritionnels en acides gras représentent environ 35 à 40 % de l'apport énergétique total, ces acides gras jouent d'abord un rôle de source d'énergie, avec une capacité importante de stockage dans les tissus. Toutefois, l'intérêt nutritionnel majeur des huiles réside dans leur apport en acides gras dits indispensables, précurseurs exclusivement végétaux des familles oméga-6 et oméga-3. Ces acides gras essentiels interviennent, directement ou indirectement, dans diverses fonctions physiologiques, telles que la structuration des membranes cellulaires, la croissance cellulaire, la régulation du métabolisme lipidique, de l'inflammation, de l'agrégation plaquettaire, ainsi que de l'expression des gènes (**Pascal et al., 2023**).

Les corps gras d'origine végétale, tels que les huiles, graisses et beurres végétaux, sont regroupés en différentes familles selon leur composition en acides gras. On distingue généralement quatre familles (**Morin & Pagès-Xatart-Parès, 2012 ; Tuitou, 2005**) :

1. **La famille oléique** dont l'acide oléique est le principal représentant des acides gras mono-insaturés (AGMI), est majoritaire dans certaines huiles. C'est le cas notamment des huiles d'olive, d'arachide, de noisette, des variétés de tournesol et de colza riches en acide oléique, ainsi que de l'huile de colza elle-même.

2. **La famille linoléique** est caractérisée par la prédominance de l'acide linoléique (C18:2 oméga-6), un acide gras polyinsaturé (AGPI), que l'on trouve principalement dans les huiles de soja, de tournesol, de germe de maïs et de pépins de raisin.
3. **La famille alpha-linolénique** est définie par une teneur significative en acide alpha-linolénique (C18 :3 oméga-3), un AGPI présent en grande quantité dans les huiles de colza, de soja, de noix et de lin, parfois en position majoritaire.
4. **La famille des corps gras riches en acides gras saturés (AGS)** se caractérise par une teneur élevée en acides gras saturés, notamment les C12:0, C16:0 et C18:0. Ces composés sont présents en quantités moyennes à élevées dans les huiles de palme, de palmiste et de coprah particulièrement riches en acide laurique, ainsi que dans le beurre de cacao et, à titre comparatif, dans la matière grasse du beurre.

On distingue aussi plusieurs catégories d'huiles végétales alimentaires selon leur méthode d'extraction et leur degré de raffinage (**Rombaut, 2013**). D'après le **Codex Alimentarius (2023)** et **Gagnon (2021)** on classe :

- **Les huiles vierges** : obtenues par pressage, accompagnés éventuellement d'une application de chaleur, sans modification de la nature de l'huile ; Leur purification se limite à des méthodes physiques comme le lavage à l'eau, la décantation, la filtration ou la centrifugation ;
- **Huiles obtenues par pressage à froid** : Elles ressemblent aux huiles vierges, mais s'en distinguent par une extraction mécanique sans apport de chaleur ;
- **Les huiles raffinées** : sont obtenues après un traitement visant à purifier les huiles extraites des graines oléagineuses. Lors de l'extraction, la rupture des cellules végétales libère, en plus de l'huile, divers composants liposolubles tels que les acides gras libres, les glycolipides, les phospholipides et les composés insaponifiables. Bien que présents en faibles quantités, ces éléments peuvent nuire à la stabilité de l'huile et altérer ses qualités nutritionnelles et sensorielles. Le raffinage consiste alors à éliminer ces substances indésirables ainsi que d'autres impuretés comme les pigments, les composés odorants et les résidus de pesticides, afin d'obtenir une huile plus stable, neutre en goût et adaptée à la consommation.

L'évaluation de la qualité d'une huile repose sur plusieurs critères de composition, notamment le profil en acides gras, la teneur en antioxydants comme les tocophérols et les polyphénols, ainsi que les marqueurs d'altération de l'huile.

Les indicateurs couramment utilisés pour l'évaluation des altérations de l'huile sont (**Ollé, 2002**) :

- L'indice d'acide (IA) correspond à la quantité, exprimée en milligrammes, d'hydroxyde de potassium requise pour neutraliser les acides gras libres contenus dans 1 gramme de corps gras (**Noumi et al., 2011**), cet indice exprime la concentration d'acides gras libres présente dans l'huile. Lorsque l'huile se dégrade, la teneur en acides gras libres augmente, ce qui entraîne une élévation de son indice d'acide. La mesure de cette acidité libre constitue donc un indicateur de l'état d'altération de l'huile (**Dupré et al., 2017**). Selon Le **CODEX Alimentarius (2023)**, la valeur maximale de l'indice d'acide pour les huiles vierges et obtenues par pression à froid est fixée à 4 mg de KOH par gramme d'huile ;
- L'indice de saponification (IS) correspond à la quantité, exprimée en milligrammes, d'hydroxyde de potassium (KOH) requise pour saponifier 1 gramme de matière grasse (**Ollivier et al., 2015**). Il reflète le poids moléculaire moyen des acides gras, Il existe une relation inverse entre l'indice de saponification et le poids moléculaire moyen des acides gras (**Odoom & Edusei, 2015**).
- L'indice d'iode (II) représente la quantité, en grammes, d'iode fixé sur les doubles liaisons de 100 grammes de matière grasse (**Ollivier et al., 2015**). Il mesure le degré d'insaturation des acides gras (**Noumi et al., 2011**). Ce qui montre la facilité avec laquelle l'huile peut s'oxyder (**Odoom & Edusei, 2015**).
- L'indice de peroxyde (IP) correspond au nombre de milliéquivalent d'oxygène actif de peroxyde contenu dans 1 gramme de corps gras. Ce dernier est susceptible d'oxyder l'iodure de potassium, entraînant la libération d'iode (**M'baye et al., 2012**). Le **CODEX Alimentarius (2023)** fixe la valeur de l'indice peroxyde à un maximum de 15 méq O₂/kg d'huile pour les huiles.

L'huile de carthame est de haute qualité grâce à sa teneur en acides gras, elle représente également une source importante de vitamine E. Comme il est bien établi, la composition en acides gras de l'huile constitue un élément déterminant pour ses applications commerciales ; La composition standard de l'huile de carthame est approximativement 6-8 % d'acide palmitique, 2-3 % d'acide stéarique, 16-20 % d'acide oléique et 71-75 % d'acide linoléique et contient aussi de l'acide alpha-linolénique. En outre, son huile a présenté des concentrations

particulièrement faibles d'acide myristique 0,24 % et d'acide docosanoïque 0,43 %. Cette huile a fait l'objet d'une attention croissante en tant qu'excellent produit de santé, en raison de son efficacité dans le traitement de l'hyperlipidémie, de l'athérosclérose et des maladies coronariennes, ainsi que de sa capacité à améliorer la microcirculation (**Coşge et al., 2007 ; Han et al., 2009 ; Sabah & Saleh, 2015**).

En dehors des graines et des huiles fixes, les fleurs représentent l'une des parties les plus valorisées de la plante de carthame (**Erbaş & Mutlucan, 2023**). Cette plante est cultivée pour ses fleurs, employées pour colorer et aromatiser les aliments ainsi que pour la fabrication de teintures (**Asgarpanah & Kazemivash, 2013**). On les utilise aussi comme ingrédient de base dans un thé au goût agréable développée en Chine et en Inde. Les fleurs de carthame sont également reconnues pour leurs propriétés médicinales, elles sont employées dans le traitement de maladies chroniques telles que l'hypertension artérielle, les troubles cardiovasculaires, l'arthrite, la spondylose et les problèmes de fertilité chez l'homme et la femme (**Singh & Nimbkar, 2006**).

Les pétales de ces fleurs renferment 1,82 % de protéines, 4,8 % de lipides, 11,6 % de fibres brutes et 10,8 % de cendres. Ils contiennent également divers composés bioactifs, tels que des alcaloïdes, des flavonoïdes, des lignanoïdes, des acides organiques, des polyacétylènes, des alcanédiols, de la riboflavine, des stéroïdes ainsi que des C-glycosides de quinochalcone (**Figure 5**) (**Adamska & Biernacka, 2021**).



Figure 5: Pétales de carthame (photo personnelle).

La demande pour des additifs alimentaires naturels a augmenté en réponse aux effets toxiques et au potentiel mutagène des colorants synthétiques sur la santé humaine, parmi les origines de ces colorants naturels, on retrouve le *Carthamus tinctorius* L. (Hadjadj *et al.*, 2023).

Les fleurs de carthame sont connues comme une source de pigments rouges (carthamine) et jaunes (carthamidine) qui appartiennent à la famille des C-glucosylquinochalcons des flavonoïdes, que l'on ne trouve pas dans d'autres produits naturels. Le pigment principal du carthame, la carthamine est un composé flavonoïde de formule chimique $C_{28}H_{36}O_{12}$ constitué de deux chalconoïdes, Elle est produite par un processus d'oxydation de la précarthamine. Elle est de couleur rouge, insoluble dans l'eau et représente 3-6 % de la composition des pétales, la formation de la carthamine s'accompagne d'un changement progressif de la couleur des fleurs, du jaune vers le rouge. Tandis que la couleur jaune provient de ces composants l'hydroxysafflor jaune A et le safflor jaune B, qui sont solubles dans l'eau, Parmi les autres pigments jaunes mineurs signalés jusqu'à présent, on trouve le précarthamine, le safflor jaune A, l'anhydrosafflor jaune B, le safflomin A, le safflomin C, le cartormin et la tinctormine (Figure 6). Ces pigments rouge et jaune provenant de carthame sont utilisés dans les domaines médical, cosmétique et alimentaire (Adamska & Biernacka, 2021 ; Setshogela & Emongor, 2021 ; Hadjadj *et al.*, 2023).



Figure 6:Colorants de carthame (*Carthamus tinctorius*) 100% naturel
(www.ginaepices.com consulté le 14 mai 2025)

Les colorants naturels de carthame possèdent des propriétés antibactériennes et antifongiques, attribuées à la présence de quinones dans leur structure chimique (**Hadjadj et al., 2023**).

En complément de son emploi en tant que plante colorante, *Carthamus tinctorius* suscite un intérêt accru pour ses bienfaits potentiels contre le stress oxydatif.

Le stress oxydatif est une condition malade qui survient lorsque la production de radicaux libres excède la capacité des systèmes antioxydants à les maîtriser, provoquant un déséquilibre pour l'organisme. Elle joue un rôle clé dans le développement de nombreuses pathologies, comme les maladies pulmonaires obstructives chroniques, la maladie d'Alzheimer, le cancer, le diabète sucré, l'hypertension et les maladies liées à l'âge. Structuellement, les radicaux libres sont des substances hautement réactives contenant au moins un électron non apparié. Ce sont des dérivés actifs des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et des espèces réactives de l'azote (ERA), qui jouent un rôle clé dans le déclenchement du stress oxydatif (**Zhang et al., 2023**). Les antioxydants sont des composés capables de neutraliser l'action de ces radicaux libres, en limitant ou en stoppant les réactions qu'ils provoquent, ce qui permet de prévenir ou de ralentir les dommages au niveau cellulaire. Bien que les mécanismes de défense antioxydante varient selon les espèces, leur présence est un phénomène universel. On retrouve ces antioxydants aussi bien sous forme enzymatique que non enzymatique, dans les milieux intracellulaires et extracellulaires (**Nimse & Pal, 2015**).

Les plantes médicinales sont largement reconnues pour leurs propriétés antioxydantes, ce qui explique leur utilisation croissante dans la prévention et le traitement de nombreuses pathologies, notamment celles liées au stress oxydatif. Elles produisent naturellement divers métabolites secondaires aux effets antioxydants, tels que les acides phénoliques, les flavonoïdes et les caroténoïdes. Parmi ces composés, les polyphénols en particulier les flavonoïdes se distinguent par leur capacité à neutraliser les radicaux libres et à protéger les macromolécules contre les processus oxydatifs (**Van Acker et al., 1996 ; Dai et al., 2010 ; Sharifi-Rad et al., 2020**). Sur cette base la présence d'antioxydants dans l'alimentation joue désormais un rôle clé dans l'amélioration de la qualité et de la sécurité des aliments, les effets indésirables associés aux antioxydants synthétiques incitent à les remplacer par des composés d'origine naturelle (**El Kalamouni, 2010**).

La richesse en composés phénoliques des graines oléagineuses joue un rôle essentiel dans la protection des acides gras polyinsaturés présents dans les huiles, en limitant leur oxydation, ce qui traduit une activité antioxydante élevée. L'huile de carthame, en particulier, se

distingue par sa forte teneur en polyphénols, qui lui confère cette capacité à neutraliser les effets des espèces réactives de l'oxygène. Cette propriété antioxydante justifie son utilisation croissante dans les domaines pharmaceutique et cosmétique (**Zemour, 2022**).

En particulier les graines de carthame dégraissées contiennent une diversité de composés phénoliques, notamment des dérivés de la sérotonine, des flavonoïdes et des lignanes. Ces composés exercent une activité antioxydante, observable par leur capacité à neutraliser différents types de radicaux libres tels que DPPH, superoxyde et hydroxyle. Les dérivés de la sérotonine montrent une efficacité marquée contre les radicaux DPPH et hydroxyles, tandis que les flavonoïdes et les lignanes présentent une activité significative, en particulier vis-à-vis des radicaux superoxydes et hydroxyles. Ainsi, ces composés phénoliques pourraient contribuer à la protection contre les dommages liés aux espèces réactives de l'oxygène (**Kim et al., 2007**).

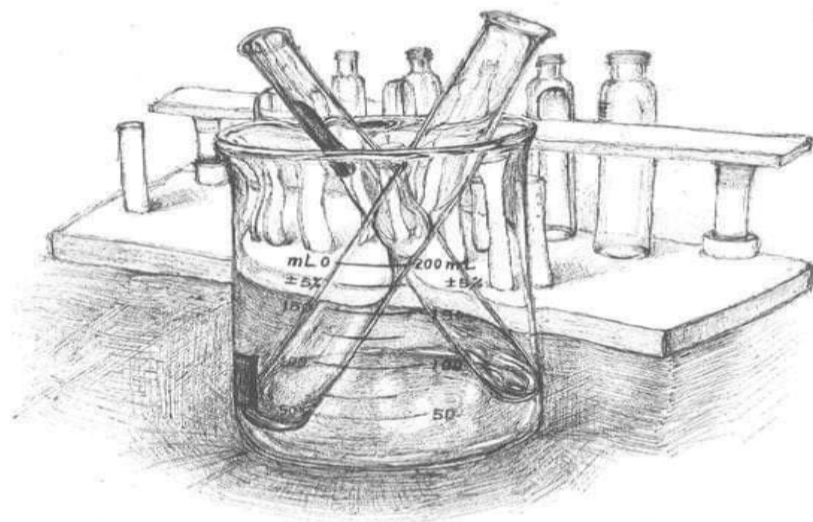
Bien que ce travail se concentre sur l'activité antioxydante du carthame, il est intéressant de noter que cette plante présente également d'autres propriétés biologiques. Telles que des activités anti-inflammatoires (**Lin et al., 2017**), antidiabétiques (**Higa et al., 2010 ; Rahimi et al., 2014**), antimicrobiennes (**Khémiri et al., 2020**), anticoagulantes (**Wang et al., 2018 ; Liu et al., 2018**), Activités antitumorales (**Tang et al., 2024**) ou encore anti-âges (**Zemour et al., 2021 ; Zemour et al., 2019**).

L'huile extraite des graines de carthame a été évaluée pour ses propriétés antimicrobiennes contre divers agents pathogènes cutanés, notamment des bactéries, des levures et des champignons filamenteux. Les essais ont révélé une efficacité contre plusieurs souches bactériennes telles qu'*Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus agalactiae*. De plus, l'huile a montré une activité notable vis-à-vis de plusieurs espèces de levures du genre *Candida* (*C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. sake*), ainsi que contre des moisissures telles qu'*Aspergillus niger*, *Penicillium digitatum* et *Fusarium oxysporum*. Son action antimicrobienne semble résulter de mécanismes à la fois bactériostatiques et bactéricides, incluant l'activation de l'enzyme lysozyme. Par ailleurs, un effet inhibiteur sur la germination des spores fongiques a été constaté. Ces résultats suggèrent que l'huile de carthame pourrait représenter une alternative naturelle prometteuse pour la prévention ou le traitement des infections microbiennes associées aux lésions cutanées (**Khémiri et al., 2020**).

Dans notre étude, nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique d'extrait bruts, l'analyse chimique d'huile fixe, le dosage des composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins) et l'évaluation de l'activité antioxydante par la méthode de piégeage du

radical DPPH et la méthode du pouvoir de réduction du Fer (FRAP), des extraits bruts hydro-méthanoliques, obtenus par décoction ou macération, et de l'huile extraite des graines de *Carthamus tinctorius*, Par ailleurs, l'extraction des colorants à partir des fleurs séchées de *Carthamus tinctorius* constitue un aspect complémentaire de cette recherche, apportant une dimension supplémentaire à la valorisation de la plant

Matériel et méthodes



Notre Travail a été réalisé au sein de laboratoire de recherche « Antibiotiques, antifongiques, physico - chimie, synthèse et activité biologique », département de biologie, faculté des sciences de la nature et de la vie, des sciences de la terre et de l'univers, université Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen.

1 Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude comprend des graines et des fleurs séchées de carthame (*Carthamus tinctorius*). Les graines ont été achetées chez un herboriste à Nedroma en décembre 2024, tandis que les fleurs séchées proviennent d'Arabie Saoudite (La Mecque).

Les fleurs ont été obtenues déjà séchées. Après leur acquisition, les graines et les fleurs ont été broyées séparément à l'aide d'un moulin électrique, afin d'obtenir des poudres utilisées pour les différentes analyses expérimentales (**Figure 7**).



Figure 7: Différentes parties du carthame (*Carthamus tinctorius*) broyées ; (A) fleurs de carthame broyées ;(B) Graines de carthame broyées (Photo personnelle).

2 Préparation des extraits

2.1 Extraction des huiles par méthode Soxhlet

❖ Principe

L'extraction par Soxhlet est une méthode très utilisée, offrant des performances supérieures aux autres techniques d'extraction conventionnelles (**Figure 8**) (**Luque de Castro & Priego-Capote, 2010**).

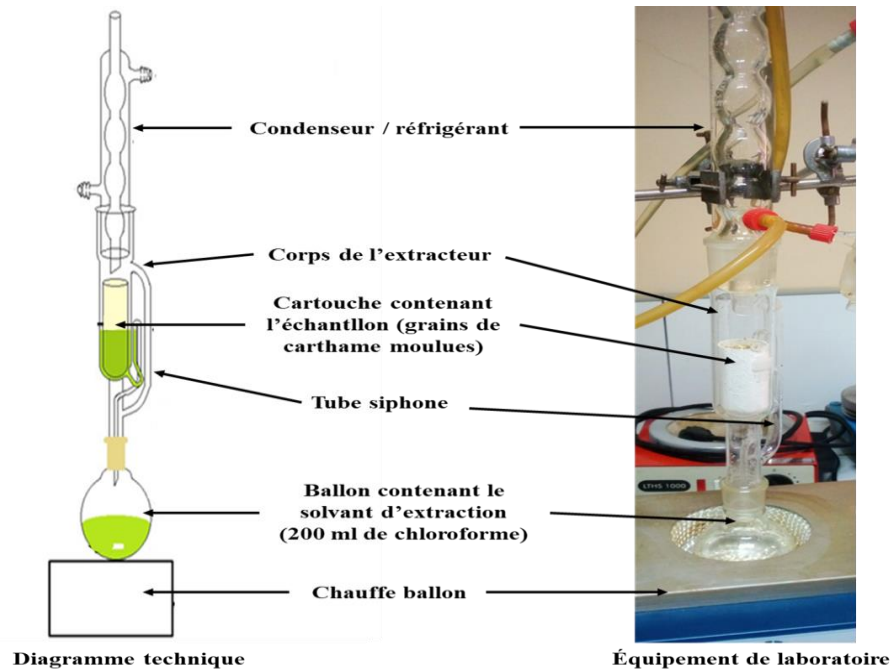


Figure 8: Montage d'appareil de Soxhlet

❖ Mode opératoire

- Placer les graines de carthame broyées dans la cartouche de l'appareil Soxhlet ;
- Ajouter 200 ml de chloroforme dans le ballon de Soxhlet ;
- Chauffer le ballon jusqu'à l'ébullition de solvant ;
- Maintenir la température d'ébullition stable pour permettre l'extraction pendant 3 heures ;
- Evaporer l'hexane à l'aide d'un Rotavapor à 60°C ;

L'huile obtenue est récupérée dans un tube à hémolyse et conservée à 4°C et à l'abri de la lumière.

Le marc obtenu est récupéré pour préparer des extraits bruts aqueux.

2.2 Extrait brut aqueux préparé par Macération

- Dans un Erlenmeyer, introduire 15 g de graines de carthame broyées et dégraissées préalablement par extraction au Soxhlet, puis ajouter 200 mL d'eau distillée ;
- Agiter le mélange pendant 48 h à l'obscurité et à température ambiante ;

- Filtrer le mélange à l'aide d'une passoire pour éliminer les particules végétales les plus volumineuses ;
- Centrifuger le filtrat obtenu à 3000 tour/min pendant 5 minutes ;
- Filtrer le mélange à l'aide d'un papier filtre ;
- Sécher l'extrait obtenus dans une étuve à 37°C

L'extrait brut aqueux préparé par macération (**EBM**) est ainsi récupéré et conservé à l'abri de lumière.

2.3 Extrait brut aqueux préparé par Décoction

- Dans un ballon surmonté d'un réfrigérant mélanger 15 g du matériel végétal (graines de carthame broyées et dégraissées), avec 200 ml d'eau distillée ;
- Chauffer le mélange à une température d'ébullition stable, pendant 1 heure ;
- Filtrer le mélange à l'aide d'une passoire pour éliminer les particules végétales les plus volumineuses ;
- Centrifuger le filtrat obtenu à 3000 tour/min pendant 5 minutes ;
- Filtrer le mélange à l'aide d'un papier filtre ;
- Sécher l'extrait obtenus dans une étuve à 37°C

L'extrait brut aqueux préparé par décoction (**EBD**) est ainsi récupéré et conservé à l'abri de lumière.

2.4 Extrait brut acétonique préparé par Macération

- Dans un Erlenmeyer, introduire 5 g de poudre obtenue à partir de fleurs de carthame broyées, puis ajouter 35 ml d'acétone ;
- Agiter le mélange pendant 48 h à l'obscurité et à température ambiante ;
- Filtrer le mélange à l'aide d'un papier filtre ;

L'extrait brut Acétonique préparé par macération (**EBA**) est ainsi récupéré pour la séparation des colorants.

2.5 Calcul du rendement

Les rendements des extraits bruts aqueux obtenus par macération et décoction, ainsi que celui de l'huile extraite, sont calculés selon la formule suivante :

$$R (\%) = (M1 / M0) \times 100$$

R (%) : rendement exprimé en pourcentage ;

M1 : masse en gramme « g » de l'extrait sec obtenu ou d'huile ;

M0 : masse en gramme « g » du matériel végétal ;

3 Tests phytochimiques

Dans le but de mettre en évidence la présence des métabolites secondaires dans les extraits bruts des graines de carthame (*Carthamus tinctorius*) préparés, nous avons effectué une analyse qualitative basée sur des réactions de coloration, de précipitation et d'observation sous lumière ultra-violette. Cette analyse a été réalisée selon les techniques décrites par **Bruneton, (1999)** et **Harbone (1998)**.

3.1 Composés azotés : alcaloïdes

Dans deux tubes à essai, introduire 0,5 ml de l'extrait à analyser. Acidifier le milieu par quelques gouttes de HCl (1%) et ajouter 0,5 ml de réactif de Mayer dans le premier tube et 0,5ml de réactif de Wagner dans le second tube. L'apparition d'un précipité blanc ou brun, respectivement, révèle la présence d'alcaloïdes.

3.2 Les composés phénoliques

➤ Les tanins

Dans un tube à essai, introduire 1 ml d'extrait à analyser et ajouter 0,25 ml d'une solution aqueuse de FeCl₃ (1%). Le mélange est incubé pendant 15 min à température ambiante. La présence des tanins est indiquée par une coloration verdâtre ou bleu noirâtre.

➤ Les flavonoïdes

Dans un tube à essai, introduire 1 ml d'extrait à analyser et ajouter 1 ml de HCl concentré et quelques copeaux de magnésium. L'apparition d'une coloration rose ou rouge ou jaune prouve la présence des flavonoïdes.

➤ Les quinones libres

Dans un tube à essai, introduire 1 ml d'extrait à analyser et ajouter 0,1 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH à 1%). L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libres.

➤ Anthraquinones

Dans un tube à essai, introduire 1 ml d'extrait à analyser et ajouter 1ml de NH_4OH (10%) puis agiter. L'apparition d'une coloration violette indique la présence des anthraquinones.

➤ **Les coumarines : Fluorescence UV**

Dans deux tubes à essai, introduire 1ml de l'extrait à analyser, prendre le premier comme témoin et ajouter à l'autre 0,1 ml de NH_4OH (10%). Mettre deux taches sur un papier filtre et examiner sous la lumière UV à 366 nm. Une fluorescence intense indique la présence des coumarines.

3.3 Les composés terpéniques

➤ **Les saponines : test de mousse**

Dans un tube à essai, introduire 10 ml de l'extrait à analyser, agiter pendant 15 secondes et laisser le mélange au repos pendant 15min. Une hauteur supérieure à 1 cm de mousse indique la présence de saponines.

➤ **Terpénoïdes :**

Test de Slakowski : Dans un tube à essai, introduire 1 ml de l'extrait à analyser, ajouter 0,4 ml de chloroforme et 0,6 ml d'acide sulfurique concentré. La formation de deux phases et une couleur marronne à l'interphase indique la présence des terpénoïdes.

3.4 Les composés réducteurs :

Dans un tube à essai, ajouter 1 ml de liqueur de Fehling (0,5 ml réactif A et 0,5 ml réactif B) à 1 ml d'extrait à analyser et incuber l'ensemble 08 min dans un bain marie bouillant. L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs.

4 Analyse chimique d'huile fixe

4.1 Indice d'acide

➤ **Définition**

L'indice d'acide est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaires pour neutraliser les acides gras libres présents dans 1 g de corps gras (**JORADP N° 68, 2012**).

L'Acidité c'est l'expression conventionnelle du pourcentage d'acides gras libres (**JORADP N° 68, 2012**).

➤ Principe

Il consiste à neutraliser les acides libres par une solution alcoolique d'hydroxyde de potassium ou de sodium titrée (**Benosman et Mamchaoui, 2005**).

➤ Mode opératoire

Selon la méthode décrite dans la réglementation **CEE/2568/91**.

- Une prise d'essai d'huile de 1g a été dissoute dans 5ml d'éthanol ;
- Le mélange a été titré à l'aide d'une solution KOH éthylique (0,1 N) en présence de phénolphtaléine à 2% jusqu'à l'apparition d'une coloration rose persistante ;
- Un témoin a été réalisé dans les mêmes conditions ;

➤ Expression des résultats

L'acidité est exprimée en pourcentage d'acide oléique qui se détermine ainsi :

$$\text{Acidité (AC)\% (d'acide oléique)} = (V - V_0) * (N * M / 10 * m)$$

- ✓ V : volume en millilitre de KOH nécessaire pour neutraliser l'échantillon ;
- ✓ V₀ : volume en millilitre de KOH nécessaire pour neutraliser le blanc ;
- ✓ N : normalité de l'hydroxyde de potassium ;
- ✓ M : masse molaire (g/mol) d'acide oléique qui est égale à 282g/mol ;
- ✓ m : masse en gramme de la prise d'essai ;

Chaque essai est répété 3 fois.

4.2 Indice de saponification

➤ Définition

L'indice de saponification correspond aux nombres de milligrammes de potasse nécessaires pour saponifier les acides gras contenus dans un gramme de matière grasse. Cette valeur est d'autant plus élevée que les acides gras sont de plus faible poids moléculaire (**AFNOR, 2013**).

➤ Principe

La Saponification de l'échantillon en ébullition à reflux avec une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium, est titrée par l'excès d'hydroxyde de potassium par une solution titrée d'acide chlorhydrique (**ISO 3657, 2020**).

➤ Mode opératoire

- Mettre dans un ballon 1g d'huile avec 25 ml de KOH éthylique (0,5 mol/l) ;
- Porter le mélange à l'ébullition à reflux pendant 60 min ;

- Laisser refroidir et ajouter 2 à 3 gouttes de phénolphtaléine à 2% ;
- Titrer par l'acide chlorhydrique de 0,5 mol/l ;
- Agiter jusqu'au virage à l'incolore de la phénolphtaléine ;
- Déterminer le volume V_1 de la neutralisation de l'échantillon
- Réaliser un témoin (1 ml d'eau distillée +25 ml de KOH éthylique), dans les mêmes conditions de l'échantillon, pour déterminer le volume V_0 du titrage ;

➤ **Expression des résultats**

Calcul de l'indice de saponification IS (mg de KOH/g huile) :

$$IS = \frac{M_{KOH} \times (V_0 - V_1) \times C_{HCl}}{m}$$

- ✓ V_0 : Volume de neutralisation de témoin en ml ;
- ✓ V_1 : Volume de neutralisation de l'échantillon en ml ;
- ✓ C_{HCl} : concentration de la solution d'acide chlorhydrique en mol/l (0,5mol/ l) ;
- ✓ M_{KOH} : masse molaire du KOH en g/mol (56,1g/mol) ;
- ✓ m : masse d'huile pesée en g (1g).

Chaque essai est répété 3 fois.

4.3 Indice d'ester

➤ **Définition**

L'indice d'ester (IE) est la quantité en milligrammes de KOH nécessaire à la saponification des glycérides présents dans 1 gramme de matière grasse. IE n'est pas mesurable. Il est calculé à partir des deux indices IS (indice de saponification) et IA (indice d'acidité). C'est la différence entre l'indice de saponification et l'indice d'acidité ($IE = IS - IA$).

4.4 Indice de peroxyde

➤ **Définition**

L'indice de peroxyde représente la quantité des substances de l'échantillon (exprimée en milliéquivalent d'oxygène actif par kilogramme), qui oxydent l'iodure de potassium.

➤ Principe

Ce paramètre nous renseigne sur le degré d'oxydation des huiles.

➤ Mode opératoire

Le protocole décrit par le règlement **CEE2568/91** a été adopté pour la détermination de cet indice :

- 1g d'huile sont mis en solution dans 10 ml de chloroforme, 15ml d'acide acétique glacial et 1ml d'une solution saturée d'iodure de potassium ;
- Après incubation pendant 5min à l'obscurité, 75ml d'eau distillée sont ajoutés ;
- Titrage par une solution de thiosulfate de sodium (0,01 N) en présence d'empois d'amidon comme indicateur ;
- Un essai témoin (sans matière grasse) est réalisé dans les mêmes conditions.

➤ Expression des résultats

L'indice de peroxyde IP est déterminé selon la formule :

$$IP = (V - V_0) / m \times 1000 \times N$$

- ✓ **N** : Normalité $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$;
- ✓ **V** : Volume en ml de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ nécessaire pour le titrage de l'échantillon ;
- ✓ **V₀** : le volume de thiosulfate de sodium requis pour titrer le blanc ;
- ✓ **m** : masse en gramme de la prise d'essai.

Chaque essai est répété 3 fois.

5 Dosages des composés phénoliques

5.1 Dosage des polyphénols totaux

➤ Principe

Afin de doser les polyphénols totaux des extraits de la plante étudiée, nous avons suivis la méthode de dosage décrite par **Vermerius** et **Nicholson** en **2006**. Le principe de cette méthode est basé sur une réaction de coloration par le réactif « Folin-Ciocalteu », de couleur jaune, composé de l'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_4$). Ce réactif induit l'oxydation des composés phénoliques et la formation d'un complexe bleu « tungstène (W_8O_{23}) - molybdènes (Mo_8O_{23}) ».

➤ Mode opératoire

- Prendre 100 µl de chaque extrait (**EBM** et **EBD**) ;
- Ajouter 2000µl de la solution de Na₂CO₃ (7%) ;
- Incuber pendant 6min à température ambiante avec agitation ;
- Ajouter 100µl du réactif de Folin-Ciocalteu 0,2 N ;
- Ajouter 2000 µl d'eau distillée ;
- Incuber pendant 30 minutes à l'abri de la lumière et à température ambiante ;
- Lire l'absorbance à 760 nm contre un blanc (**Tableau 3**) ;

Dans les mêmes conditions opératoires réaliser une gamme d'étalonnage utilisant l'acide gallique à différentes concentrations (50 à 500µg/ml) (**Tableau 3**).

	Gamme d'étalonnage											Extraits (1mg/ml)	
Tube	Blanc	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	EBD	EBM
[Acide gallique] µg/ml	-	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500	-	-
Acide gallique (µl)	-	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	-	-
Eau distillée (µl)	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Extrait (µl)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	100
Na ₂ CO ₃ (2%) (µl)	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000
Incubation pendant 6 min à température ambiante avec agitation													
Folin Ciocalteu (0,2N) (µl)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Eau distillée (µl)	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000
Incubation pendant 30 min à l'obscurité et à température ambiante													
Lecture de l'absorbance à 760 nm													

Tableau 3: Méthode de dosage des polyphénols totaux

EBM : extrait brut aqueux préparé par macération ; **EBD** : extrait brut aqueux préparé par décoction.

➤ Expression des résultats

La teneur en polyphénols totaux des extraits étudiés est déterminée à partir de l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage ($y = a x$) établie avec des concentrations précises d'acides gallique et exprimée en microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait sec ($\mu\text{g Eq AG/ mg ES}$).

5.2 Dosage des Flavonoïdes

➤ Principe

Le principe basé sur l'oxydation des flavonoïdes par trichlorure d'aluminium AlCl_3 et nitrite de sodium NaNO_2 (Zhishen *et al.*, 1999).

➤ Mode opératoire

- Prendre 250 μl de chaque extrait (**EBM** et **EBD**) ;
- Additionner 75 μl de nitrite de sodium NaNO_2 à 7% ;
- Incuber le mélange pendant 6 min à température ambiante ;
- Ajouter 75 μl de trichlorure d'aluminium AlCl_3 à 10% ;
- Laisser reposer 5min dans une température ambiante ;
- Ajouter 1000 μl de soude NaOH à 1 M ;
- Additionner 2500 μl d'eau distillée et agiter afin d'homogénéiser le contenu ;
- Lire l'absorbance de la solution à 510 nm contre un blanc (**Tableau 4**) ;

Dans les mêmes conditions opératoires réaliser une gamme d'étalonnage utilisant la catéchine à différentes concentrations (50 à 500 $\mu\text{g/ml}$) (**Tableau 4**).

Tableau 4: Méthode de dosage des flavonoïdes

Tube	Gamme d'étalonnage											Extraits (1mg/ml)	
	Blanc	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	EBD	EBM
[Catéchine] $\mu\text{g/ml}$	-	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500	-	-
Catéchine (μl)	-	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	-	-
Eau distillée (μl)	250	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Extrait (μl)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	250	250
NaNO_2 7% (μl)	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75
Incubation pendant 6 min à température ambiante													
AlCl_3 10% (μl)	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75
Incubation pendant 5 min à température ambiante													
NaOH (1M) (μl)	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Eau distillée (μl)	2500	2500	2500	2500	2500	2500	2500	2500	2500	2500	2500	2500	2500
Incubation pendant 30 min à température ambiante													
Lecture de l'absorbance à 510nm													

EBM : extrait brut aqueux préparé par macération ; **EBD** : extrait brut aqueux par décoction.

➤ Expression des résultats

La teneur en flavonoïdes totaux des extraits étudiés ont été calculées à partir de l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage ($y = a x$) établie avec des concentrations précises de la catéchine et exprimée en microgramme équivalent Catéchine par milligramme d'extrait sec ($\mu\text{g Eq C /mg ES}$).

5.3 Dosage des Tanins

➤ Principe

Les tanins condensés sont déterminés par la méthode de **Price *et al.*, 1978** en présence de vanilline en milieu acide. Cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés en présence d'acide pour produire un complexe de couleur rouge mesurable à 550nm.

➤ **Mode opératoire**

- Prendre 50 µl de chaque extrait (**EBM** et **EBD**) ;
- Ajouter 1500 µl de la solution vanilline/méthanol (4%) ;
- Ajouter 750 µl de chlorure d'hydrogène HCl concentré ;
- Lire l'absorbance de la solution à 510 nm contre un blanc (**Tableau 5**) ;

Dans les mêmes conditions opératoires, réaliser une gamme d'étalonnage utilisant la catéchine comme contrôle positif à différentes concentrations de (50 à 500µg/ml) (**Tableau 5**).

Tableau 5: Méthode de dosage des Tanins

Tube	Gamme d'étalonnage											Extraits (1mg/ml)	
	Blanc	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	EBD	EBM
[Catéchine] µg/ml	-	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500	-	-
Catéchine (µl)	-	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	-	-
Méthanol (µl)	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Extrait (µl)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50	50
Solution vanilline/méthanol (4%) (µl)	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500
HCl concentré (µl)	750	750	750	750	750	750	750	750	750	750	750	750	750
Lecture de l'absorbance à 550nm													

EBM : extrait brut aqueux préparé par macération ; **EBD** : extrait brut aqueux par décoction.

➤ **Expression des résultats**

La teneur en tannins condensés est déterminée à partir de l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage de la catéchine ($y = a x$). Les résultats sont exprimés en microgramme équivalent de catéchine par milligramme d'extrait sec (µg Eq C /mg ES).

6 Recherche d'activité antioxydante

6.1 Recherche d'activité anti radicalaire DPPH

➤ Principe

Le principe de ce test se résume dans la capacité de l'extrait à réduire le radical libre DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl) de couleur violette foncée, qui se transforme en coloration jaunâtre (après réduction). Cette décoloration est mesurable par Spectrophotométrie (**Brand-Williams *et al.*, 1995**).

➤ Mode opératoire

Le test de DPPH a été réalisé suivant la méthode décrite par **Bektas *et al.*, (2005)**

- Préparer une série de concentration des extraits étudiés : **EBM** et **EBD** (solubilisés dans l'eau distillée) ;
- Ajouter à chaque 50µl de concentrations préparées, 1250 µl d'une solution méthanolique de DPPH (0,0025%) ;
- Préparer pour chaque concentration d'extraits étudiés un tube blanc en mélangeant 50µl d'extraits préparés avec 1250µl du méthanol ;
- Préparer un contrôle négatif en ajoutant 50µl de méthanol à 1250µl d'une solution méthanolique de DPPH ;
- Incuber l'ensemble des tubes 30 min à l'obscurité ;
- Lire l'absorbance à 517 nm ;

Chaque essai est répété 3 fois ;

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les extraits dans différentes concentration (0.04 à 0.4 mg/ml).

➤ Expression des résultats

L'inhibition du radical libre de DPPH en pourcentage (I %) a été calculée de la manière suivante :

$$I \% = [(A \text{ contrôle négatif} - A \text{ échantillon}) / A \text{ contrôle négatif}] \times 100$$

Une courbe de régression logarithmique des concentrations de chaque extrait en fonction de I % (pourcentages d'inhibitions) a été tracée afin de déterminer CI50. Ce paramètre est défini comme Concentration (mg/ml des extraits) nécessaire pour inhiber 50% du radical libre DPPH ;

Le graphique de la variation de l'absorbance en fonction de la concentration a permis de déterminer les CI50 (concentration correspondant à 50% d'inhibition).

6.2 Pouvoir réducteur du fer (Ferric Reducing Antioxidant Power ; FRAP)

➤ Principe

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. Cette technique permet de mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}) (Karagözler *et al.*, 2008).

➤ Mode opératoire

- Mélanger 200 μl de l'extrait (EBM, EBD) à différentes concentrations (de 1 à 4 mg/ml) avec 500 μl d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 500 μl d'une solution de ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (1%) ;
- Incuber l'ensemble à 50°C pendant 20 minutes dans l'étuve ;
- Laisser le mélange refroidis ;
- Ajouter 500 μl de Trichloroacétate (10%) ;
- Centrifuger, l'ensemble à 3000 tours/min pendant 10 min ;
- Combiner 500 μl de surnageant avec 500 μl d'eau distillée et 100 μl d'une solution aqueuse de chlorure de fer FeCl_3 (0,1%) ;
- Mesurer l'absorbance à l'aide d'un spectrophotomètre à 700 nm contre un blanc, préparé en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée ;
- Pour chaque concentration, le test est répété 3fois ;

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les extraits dans différentes concentration (0.04 à 0,4 mg/ml).

Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés.

➤ Expression des résultats

Tracer des courbes de régression linéaire des absorbances obtenus en fonction des différentes concentrations utilisées pour les différents extraits de la plante étudiée.

Les résultats obtenus sous forme de courbe de régression linéaire permettent de calculer EC50. La EC50 est la concentration efficace de l'extrait ou du standard qui donne une réponse demi-maximale. La concentration efficace de 50% de la réduction ferrique (EC50) est exprimée en mg/ml.

7 Séparation de l'extrait acétonique par chromatographies

➤ Définition

La chromatographie est une méthode physique et chimique de séparation et d'identification, basée sur les différences d'affinités des substances à analyser à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe et l'autre mobile.

7.1 Chromatographie sur Couche Mince (CCM)

➤ Principe

La chromatographie sur couche mince (CCM) utilise des phases stationnaires solides fixées sur des supports rigides, maintenus verticaux dans une cuve à chromatographie. La phase mobile est un solvant organique (ou un mélange de solvants) qui est déposé au fond de la cuve à la base de chromatographie, Cette phase mobile monte par capillarité le long de la plaque.

➤ Mode opératoire

La CCM se déroule en quatre étapes : préparation de la cuve, préparation de la plaque, élution et révélation.

a) Préparation de la cuve chromatographique

- Mettre le mélange éluant (n-butanol/eau/acide acétique, 84:14:7) au fond de la cuve sur une hauteur de 0,5 cm
- Fermer la cuve afin de la saturer de vapeur d'éluant ;

b) Préparation de la plaque

- Mettre la plaque dans les étuves à 100°C pendant 45 min ;

- Tracer au crayon un trait à 1 cm du bas de la plaque ;
- Sur ce trait tracer 3 petits points espacés de 1,5 cm, où seront déposées les taches (l'extrait brut acétonique) ;
- Déposer à l'aide d'une micropipette une petite quantité de chaque solution sur les points correspondants ;
- Répéter l'opération trois fois pour chaque point, en laissant sécher complètement entre chaque dépôt ;

c) **Élution**

- Introduire la plaque à position verticale dans la cuve Fermer de façon étanche pour assurer la saturation ;
- Laisser le temps nécessaire pour que le solvant monte par capillarité jusqu'à 1 cm environ du bord supérieur de la plaque ;
- Sortir délicatement la plaque et laisser sécher à l'air libre ;

d) **Révélation des taches**

- Placer la plaque sèche dans un bécher contenant des cristaux d'iode au fond (sans contact direct entre la plaque et l'iode) ;
- Fermer le bécher pour permettre aux vapeurs d'iode de révéler les taches ;
- Laisser la plaque dans le bécher pendant quelques minutes jusqu'à l'apparition des taches colorées ;
- Retirer la plaque, puis procéder à la révélation des taches sous une lampe UV à 336nm afin de visualiser les composants révélés.

➤ **Expression des résultats**

Après révélation sous lampe UV, mesurer la distance parcourue par chaque tache et par le front du solvant.

Pour chaque tache visible, calculer le rapport frontal (Rf) selon la formule suivante :

$$RF = \frac{\textit{distance parcourue par la tache}}{\textit{distance parcourue par le solvant}}$$

8 Analyse Statistique

Les teneurs en composés phénoliques des extraits étudiés sont réalisées en trois répétitions et les résultats sont présentés en moyenne et en écart type :

❖ La moyenne

$$\bar{x} = \frac{(x_1 + x_2 + \dots + x_n)}{(n)} = \frac{1 \sum x_j}{n}$$

❖ Écart-type

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum x_i - x^2}{n - 1}}$$

Résultat et discussion



Les résultats issus des différentes analyses menées sur *Carthamus tinctorius L.* sont présentés ci-après. Ils concernent à la fois les caractéristiques physico-chimiques de l'huile extraite des graines, les teneurs en composés phénoliques, flavonoïdiques et tanniques des extraits aqueux, leur activité antioxydante, ainsi que le profil chimique révélé par chromatographie sur couche mince. Ces données sont discutées à la lumière de la littérature, afin de mieux apprécier le potentiel biochimique et fonctionnel de cette plante.

1. Caractéristiques et rendement d'extraction

Les extraits bruts aqueux préparés par macération et de décoction (**EBD** et **EBM**) des graines de carthame (*Carthamus tinctorius*) broyées et dégraissées, sont pesés pour déterminer le poids sec obtenu. Les rendements sont calculés à partir de la masse de la matière végétale sèche initiale et de la masse de l'extrait sec obtenu.

De même, l'huile obtenue par méthode Soxhlet, est récupérée après évaporation de chloroforme. Le rendement est calculé à partir de la matière végétale sèche initiale et de la matière grasse extraite.

Les résultats sont exprimés en pourcentage massique.

Les caractéristiques (couleur, odeur, aspect et solubilité) ainsi que les rendements de chaque extrait sont mentionnées dans le tableau suivant :

Tableau 6: Caractéristiques et rendements des extraits préparés à partir des graines de Carthame (*Carthamus tinctorius*)

Les extraits	EBD	EBM	Huile
Rendement (%)	3,44	4,51	48,42
Couleur	Jaune	Jaune	Jaune doré
Odeur	Caractéristique	Caractéristique	Odeur des graines
Aspect	Cristallisé	Cristallisé	Fluide, légèrement visqueuse
Solubilité	Eau distillée	Eau distillée	-

EBD : extrait brut aqueux préparé par décoction ; **EBM** : extrait brut aqueux préparé par macération.

D'après les résultats obtenus, les graines de *Carthamus tinctorius* contiennent une quantité importante d'huile, avec un rendement de 48,42%. Cette huile se caractérise par un aspect fluide et légèrement visqueux, une couleur jaune doré et une odeur rappelant celle des graines.

Ces résultats sont en accord avec ceux qui sont rapportés dans la littérature. En effet, **Conte et al., (2016)** ont noté un rendement de 36,53 % après extraction d'huile de graines de carthame par méthode de Soxhlet, en présence d'éthanol

Des rendements variants entre 22,8 % et 28,4 % ont été rapportés par **Zemour et al. (2021)**, selon les génotypes et les années, en utilisant également la méthode de Soxhlet avec le cyclohexane comme solvant. Ces taux sont relativement proches, mais inférieures à ceux obtenus dans notre étude.

Par ailleurs, une étude récente réalisée par **Sajid et al., 2024** sur les graines de *Carthamus tinctorius* a rapporté un rendement en huile pouvant atteindre jusqu'à 31,5 % obtenu par Soxhlet en utilisant n-hexane comme solvant.

En outre, les extraits bruts aqueux issus de la décoction (EBD) et de la macération (EBM) se présentent sous forme des poudres cristallisées, de couleur jaune, d'odeur caractéristique. Avec des rendements d'ordre de 3.44% et 4.51%, respectivement. Ces extraits montrent une bonne solubilité dans l'eau distillée.

2. Tests phytochimiques

Les tests phytochimiques ont été effectués afin de mettre en évidence la présence ou l'absence de différentes familles de métabolites secondaires. Ces tests reposent sur des réactions qualitatives telles que la précipitation, le changement de couleur, la formation de mousse, ou encore l'observation sous lumière UV.

Les résultats des tests phytochimiques effectués sur les extraits bruts aqueux préparés par décoction et macération sont mentionnés dans le **tableau 7**.

Tableau 7: Les tests phytochimique des extraits bruts aqueux préparés de graines de carthame (*Carthamus tinctorius* L)

Métabolites secondaires		EBD	EBM
Alcaloïdes	Mayer	+	++
	Wagner	++	+
Terpénoïdes		+++	+++
Saponines		-	++
Flavonoïdes		+++	++
Tanins		+	+
Quinones libres		+	+
Anthraquinones		-	-
Coumarines		+	-
Composés réducteurs		-	-

(+++): présence fortement marquée ; (++) : présence modérée ; (+) : présence faible ; (-) : absence ; **EBD** : extrait brut aqueux préparé par décoction ; **EBM** : extrait brut aqueux préparé par macération.

Les résultats que nous avons obtenus nous ont permis de mettre en évidence la présence ou l'absence de plusieurs groupes de composés bioactifs. Nous avons noté la présence des composés azotés (alcaloïdes), des flavonoïdes, des tanins, des terpénoïdes et des quinones libres dans les deux extraits bruts aqueux testés (**EBD** et **EBM**). Nous avons également observé la présence des saponines uniquement dans l'extrait **EBM**. Tandis que, les coumarines sont retrouvées seulement dans l'**EBD**.

Par contre, nous avons observé l'absence totale des composés réducteurs, des anthraquinones dans les deux extraits étudiés (**EBD** et **EBM**).

Nos observations sont en accord avec celles de **Mani et al. (2022)**, qui ont rapporté la présence de flavonoïdes, tanins, alcaloïdes et saponines dans différentes parties de *Carthamus tinctorius*. Ils sont également en accord avec ceux rapportés par **Wang et al. (2021)**, qui ont identifié 75 flavonoïdes et 10 alcaloïdes dans les extraits de *Carthamus tinctorius* à l'aide d'une chromatographie multidimensionnelle.

Al-Farga et al. (2017) ont isolé et quantifié des saponines à partir des graines de carthame en utilisant la chromatographie liquide.

Zhu et al. (2014) ont mis en évidence, par analyse GC-MS, la présence de composés terpéniques dans les graines de carthame.

Mandade et Sreenivas (2011) ont détecté des coumarines dans des extraits aqueux chauds de plantes, dont le carthame.

Cette différence entre les résultats de notre étude et ceux des autres études peut s'expliquer principalement par la nature des solvants utilisés pour l'extraction, ainsi que par la variabilité génétique entre les différentes variétés de *Carthamus tinctorius* étudiées.

3. Dosages des composés phénoliques

Les méthodes colorimétriques employées lors des dosages nous ont permis d'estimer la teneur en composés phénoliques totaux et en flavonoïdes ainsi que des tanins dans les deux extraits bruts aqueux issus des graines de carthame.

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé à l'aide de la méthode de Folin-Ciocalteu avec une mesure d'absorbance à 760 nm ; Tandis que celui des flavonoïdes a été effectué par la réaction avec le nitrite de sodium (NaNO_2) et le trichlorure d'aluminium (AlCl_3) en milieu alcalin avec une mesure d'absorbance à 510 nm. Dans la continuité des dosages phénoliques, les tanins ont été dosés à l'aide de la méthode à la vanilline en milieu acide, avec une mesure d'absorbance effectuée à 550 nm.

Les teneurs en composés phénoliques ont été déterminées à partir des équations de régression linéaire issues des courbes d'étalonnage : celle de l'acide gallique pour les polyphénols totaux ($y = 0,0003x$; $R^2 = 0,999$) (**Figure 9**), et celle de la catéchine pour les flavonoïdes ($y = 0,002x$; $R^2 = 0,9994$) (**Figure 10**). Ainsi que celle de la catéchine pour les tanins ($y = 0,0002x$; $R^2 = 0,988$) (**Figure 11**). Les résultats sont exprimés respectivement en microgrammes équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait sec ($\mu\text{g Eq AG/mg ES}$) pour les polyphénols totaux et en microgrammes équivalents de catéchine par milligramme d'extrait sec ($\mu\text{g Eq C/mg ES}$) pour les flavonoïdes et les tanins.

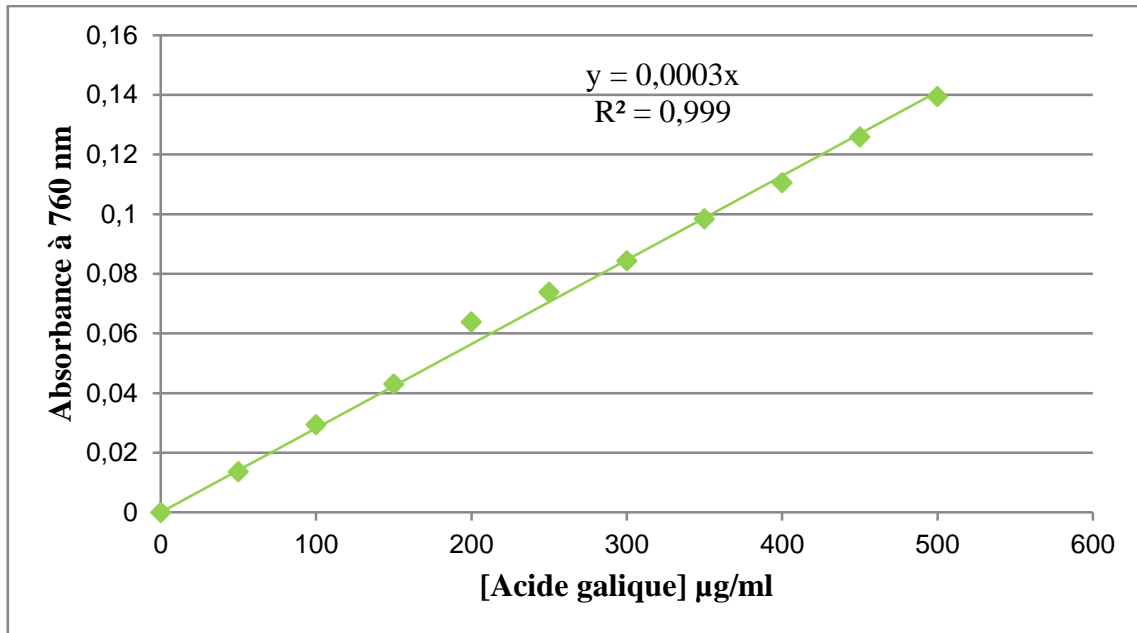


Figure 9: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux

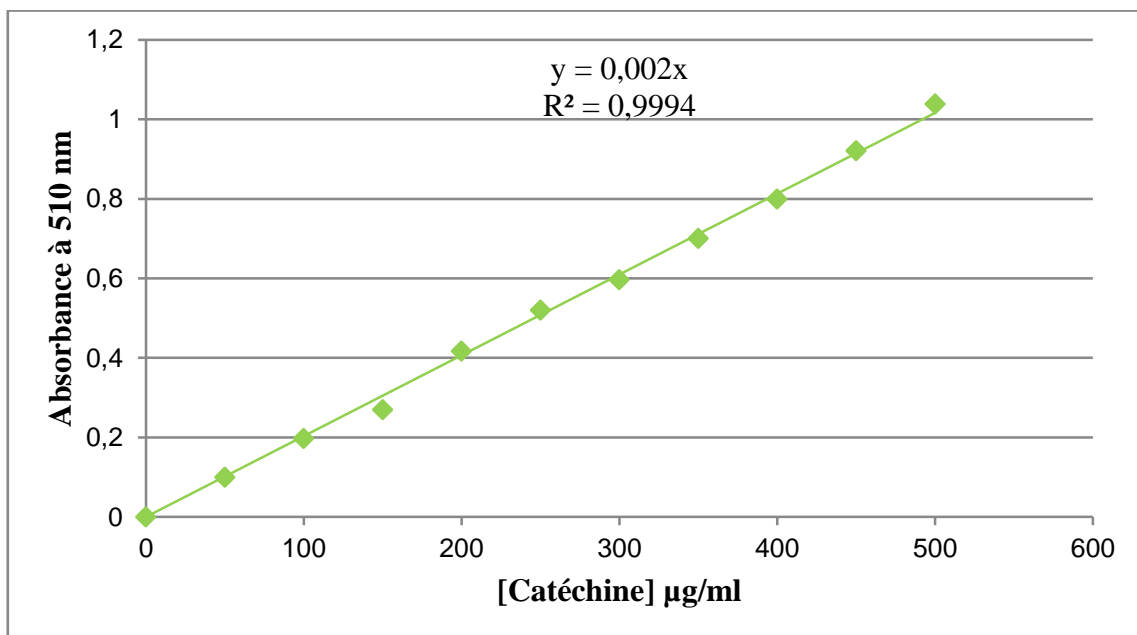


Figure 10: Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes

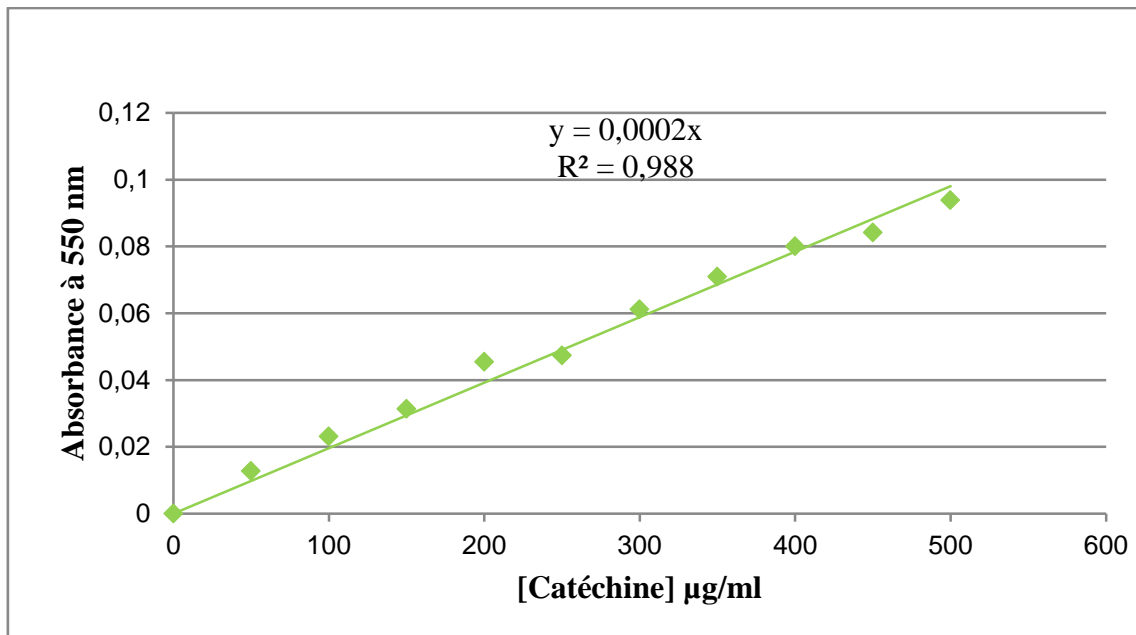


Figure 11: Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins

Les résultats des teneurs en composés phénoliques dans les extraits bruts aqueux sont présentés dans le **Tableau 8**.

Tableau 8: Teneurs en composés phénoliques dans les extraits bruts aqueux préparés des graines de carthame (*Carthamus tinctorius*)

Extraits bruts	Polyphénols totaux (µg Eq AG/ mg ES) ± Ecart type (n=3)	Flavonoïdes (µg Eq C/mg ES) ± Ecart type (n=3)	Tanins (µg Eq C/mg ES) ± Ecart type (n=3)
EBD	181,33 ± 0,003	29,75 ± 0,007	101,5 ± 0,015
EBM	207 ± 0,006	28,35 ± 0,003	56 ± 0,003

EBD : extrait brut aqueux préparé par décoction ; **EBM** : extrait brut aqueux préparé par macération.

Selon les résultats du tableau ci-dessus les deux extraits aqueux préparés par macération et par décoction présentent des teneurs élevées en polyphénols totaux et en flavonoïdes ainsi qu'en tanins.

L'extrait EBM a présenté la teneur la plus élevée en polyphénols totaux, estimée à $207 \pm 0,006 \mu\text{g Eq AG/mg ES}$, tandis que l'extrait EBD a montré une teneur de $181,33 \pm 0,003 \mu\text{g Eq AG/mg ES}$. En revanche. L'extrait EBD a révélé une concentration légèrement supérieure en flavonoïdes, évaluée à $29,75 \pm 0,007 \mu\text{g Eq C/mg ES}$, comparativement à $28,35 \pm 0,003 \mu\text{g Eq C/mg ES}$ pour l'EBM. S'agissant des tanins, l'EBD a présenté également une teneur plus

élevée, atteignant $101,5 \pm 0,015 \mu\text{g Eq C/mg ES}$, comparativement à $56 \pm 0,003 \mu\text{g Eq C/mg ES}$ pour l'EBM.

Ces teneurs, notamment en polyphénols totaux, sont nettement supérieures à celles rapportées par **Yu et al. (2013)**, qui ont obtenu, à partir d'un extrait aqueux de graines de *Carthamus tinctorius* préparé par infusion à chaud, une concentration en polyphénols totaux de $126,0 \pm 2,4 \text{ mg équivalent acide gallique par gramme d'extrait sec (mg GAE/g)}$. En revanche, leurs résultats montrent une teneur en flavonoïdes de $62,2 \pm 1,9 \text{ mg équivalent quercétine par gramme d'extrait sec (mg QE/g)}$, sensiblement plus élevée que celle obtenue pour nos extraits

Ces résultats sont comparables à ceux rapportés par **Ghazghazi et al. (2014)**, qui ont trouvé une teneur en polyphénols totaux de l'ordre de $192 \mu\text{g Eq AG/mg}$ dans des extraits aqueux de graines de carthame récoltées en Tunisie. De même, **Zhang et al. (2011)** ont rapporté une valeur de $198 \mu\text{g Eq AG/mg}$ pour des extraits hydrosolubles de graines, ce qui confirme nos observations.

Concernant les flavonoïdes, nos résultats sont proches de ceux rapportés par **Ragab et al. (2012)**, qui ont mesuré une teneur de $27,4 \mu\text{g Eq C/mg}$ dans des extraits aqueux de carthame.

En ce qui concerne les tanins, **Sadeghipour et al. (2020)** ont montré que l'infusion à chaud permet d'extraire des teneurs élevées, atteignant jusqu'à $110 \mu\text{g Eq C/mg}$. Une tendance similaire est observée dans nos résultats, où l'extrait par décoction soit près du double de celui obtenu par macération.

En somme, les résultats obtenus dans notre étude sont en accord avec la majorité des données de la littérature. Les variations observées peuvent être expliquées par plusieurs facteurs, notamment le solvant utilisé, le mode d'extraction, l'origine géographique des graines et leur variété. La richesse en composés phénoliques, particulièrement marquée dans l'extrait obtenu par décoction, indique un potentiel antioxydant important, qui sera confirmé par les tests biologiques ultérieurs.

4. Caractéristiques chimiques d'huile de graines de carthame

L'huile de graines de carthame (*Carthamus tinctorius*) a été soumise à des analyses chimiques afin de vérifier sa qualité par rapport aux normes officielles du Codex Alimentarius (1983 et 2024).

Les résultats obtenus lors de la détermination des caractéristiques chimiques de l'huile sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 9:Caractéristiques chimiques d'huile de graines de carthame (*Carthamus tinctorius*)

Les indices	IA	IS	IE	IP
Huile de graines de carthame	0,44	202,89	202,45	0,07
Codex Alimentarius	≤ 0,6 (2024)	186 – 198 (2024)	186-187,94 (1983)	≤ 10 (2024)

IA : Indice d'acide (mg de KOH/g d'huile) ; **IS** : Indice de saponification (mg KOH/g d'huile) ; **IE** : Indice d'ester (mg KOH/g d'huile) ; **IP** : Indice de peroxyde (méq O₂/kg).

D'après les résultats obtenus (**Tableau 9**), nous avons constaté que l'indice d'acide et l'indice de peroxyde de l'huile des graines de carthame sont conformes aux normes établies par le **Codex Alimentarius (2024)**, avec des valeurs estimées à 0,44 mg de KOH/g d'huile et 0,07 méq O₂/Kg d'huile respectivement, ce qui indiquant une huile peu oxydée et de bonne qualité.

Par contre, nous avons constaté des valeurs supérieures aux normes du **Codex Alimentarius (1983 et 2024)** en ce qui concerne l'indice de saponification et l'indice d'ester. L'indice de saponification a été mesuré à 202,89 mg KOH/g d'huile, dépassant la valeur de référence fixée en **2024**. De même, l'indice d'ester a atteint 202,45 mg KOH/g d'huile, excédant la norme établie en **1983**.

Comparativement à la littérature **Khémiri et al. (2020)** ont obtenu, à partir d'une extraction par macération à froid utilisant un mélange éthanol/chloroforme, une huile caractérisée par un indice d'acide de 1,523 mg KOH/g d'huile, un indice de saponification de 191,2 mg KOH/g d'huile et un indice de peroxyde de 1,985 méq O₂/kg d'huile.

Le travail de **Rafiqzaman et al. (2006)**, qui ont enregistré les résultats suivants : 2,27 meq O₂/Kg d'huile pour l'indice de peroxyde, 190 mg KOH/g d'huile pour l'indice de saponification de l'huile de graines de carthame, extraite par Soxhlet à l'aide de n-hexane.

L'étude de **Katkade et al., (2018)** a mentionné que l'huile extraite des graines de *Carthamus tinctorius* a présenté un indice d'acide de 0,22 mg KOH/g d'huile, un indice de peroxyde de 2.81 meqO₂/kg d'huile, ainsi qu'un indice de saponification de 162.69 mg KOH/g d'huile.

Ces variations entre nos résultats et ceux rapportés dans la littérature pourraient être dues à des paramètres expérimentaux tels que la méthode d'extraction, ainsi que le type de solvant employé.

5. Evaluation de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante des extraits de graines de carthame a été évaluée à l'aide de deux méthodes : le test Piégeage du radical libre DPPH et le test du pouvoir réducteur de fer (FRAP). Ces deux tests reposent sur des réactions de coloration ou de décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel.

5.1. Test Piégeage du radical libre DPPH

L'activité antiradicalaire des extraits obtenus à partir des graines de carthame a été évaluée par le test de piégeage du radical libre DPPH.

L'absorbance a été mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. À partir des valeurs obtenues, nous avons calculé les pourcentages d'inhibition.

Les résultats sont présentés graphiquement sous forme de pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations des extraits (EBD, EBM) ainsi que des molécules de référence (acide ascorbique et BHA : Butylated hydroxyanisole) (**Figure 12,13 ,14 et 15**).

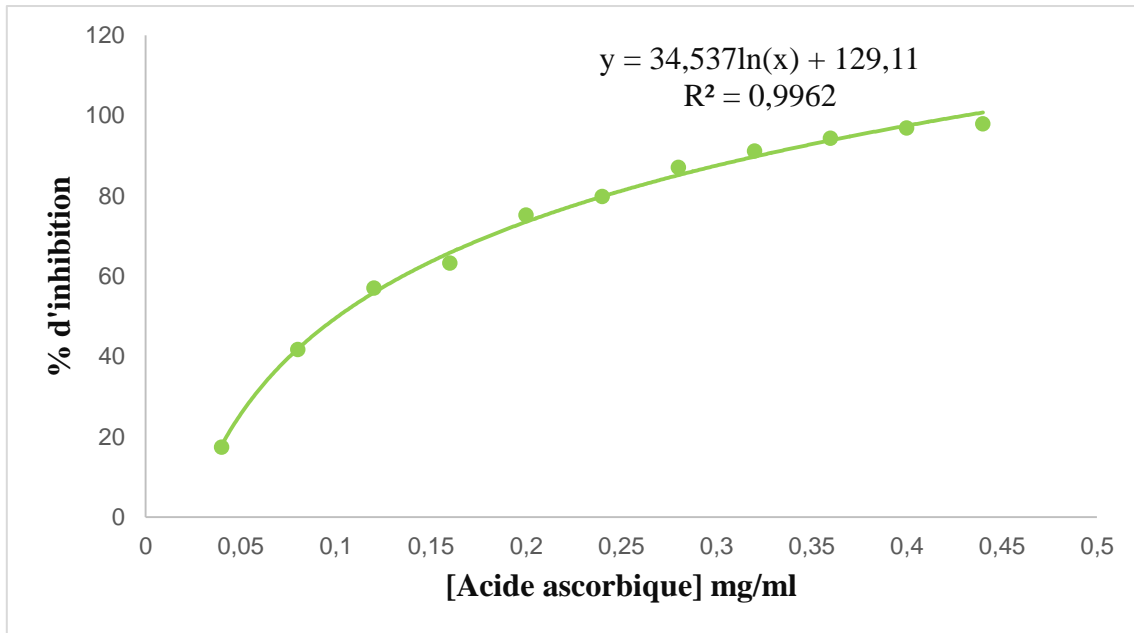


Figure 12: Evolution des pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique

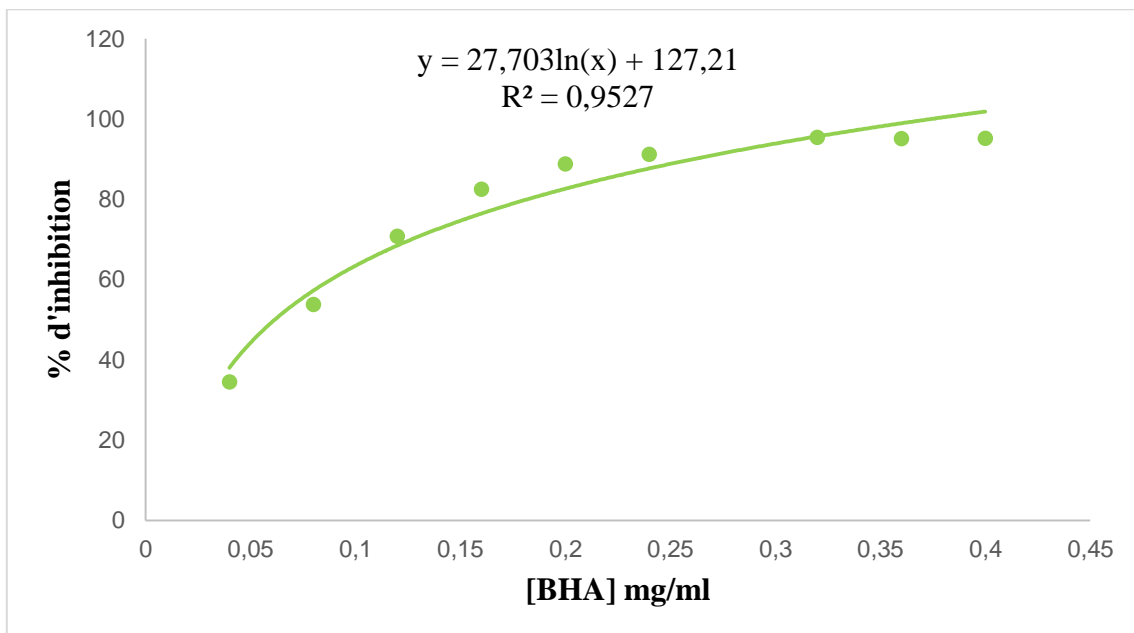


Figure 13: Evolution des pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations de BHA

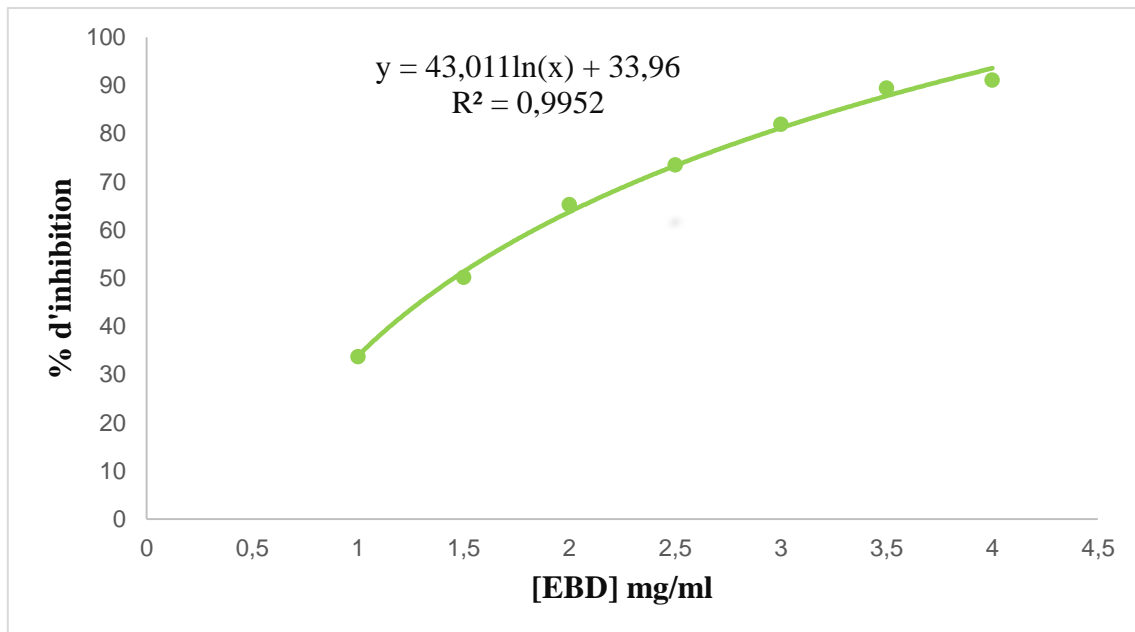


Figure 14: Evolution des pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations d'EBD

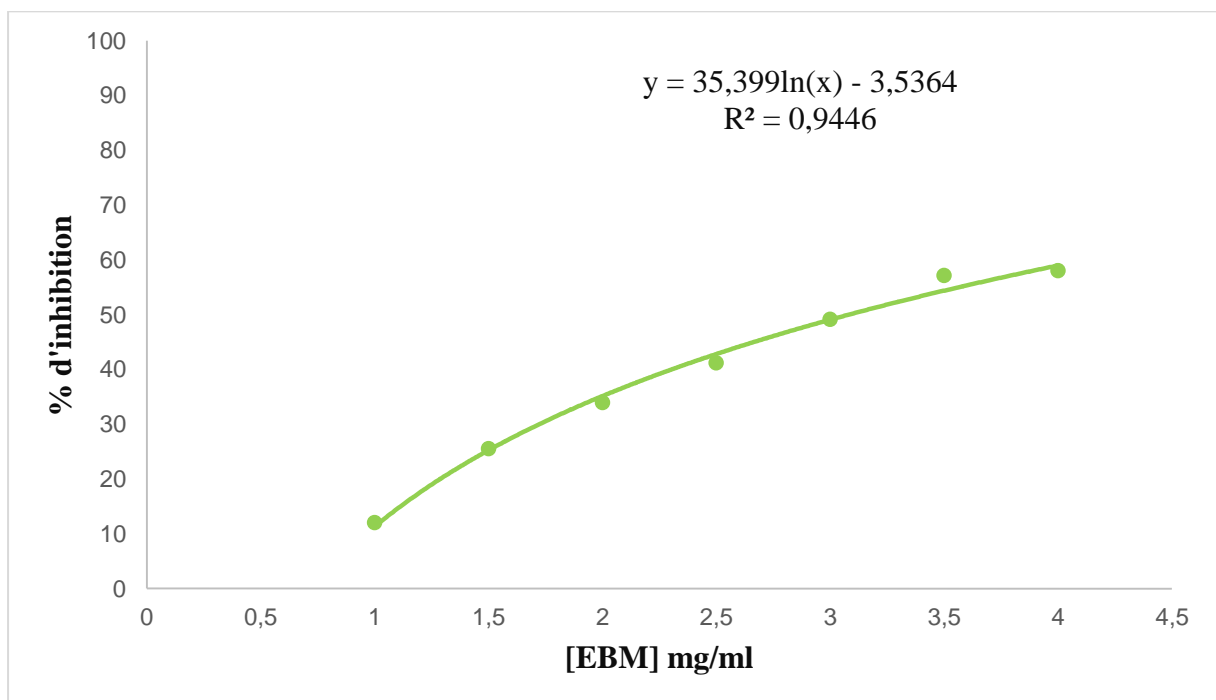


Figure 15: Evolution des pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations d'EBM

❖ **Calcul des CI50 : concentration inhibitrice à 50%**

À partir des équations de régression logarithmique des courbes présentées dans les figures 12,13,14 et 15, nous avons déterminé comme indiqué dans le **Tableau 10** les valeurs de CI50

(exprimées en mg/ml), correspondant aux concentrations nécessaires pour inhiber 50 % du radical libre DPPH, pour les molécules de référence ainsi que pour les extraits préparés.

La CI50 est un indicateur de la capacité antioxydante d'un composé. Elle correspond à la concentration d'antioxydant nécessaire pour neutraliser 50 % des radicaux libres. Ainsi, plus la valeur de CI50 est faible, plus l'échantillon testé a un pouvoir antiradicalaire élevé.

Tableau 10: Les valeurs des CI50 pour le test de DPPH des différents extraits préparés de graines de carthame (*Carthamus tinctorius*) et des molécules de référence (acide ascorbique et BHA)

Extraits / Standard	CI50 (mg/ml)
Acide ascorbique	0,101
BHA	0,061
EBD	1,451
EBM	4,537

BHA : Butylhydroxyanisole ; **EBD** : extrait brut aqueux préparé par décoction ; **EBM** : extrait brut aqueux préparé par macération.

Selon les résultats obtenus, nous avons noté que l'extrait préparé par décoction (EBD) a présenté une meilleure activité antioxydante que celui obtenu par macération (EBM), avec des valeurs de CI50 respectives de 1,451 mg/ml et 4,537 mg/ml. Toutefois, ces deux extraits montrent une activité antioxydante nettement plus faible comparée à celle des standards de référence, à savoir l'acide ascorbique (CI50 = 0,101 mg/ml) et le BHA (CI50 = 0,061 mg/ml).

Une étude menée par **Chang et al. (2022)** a rapporté une CI50 de 1,80 mg/ml pour l'extrait aqueux, avec une nette amélioration de l'activité pour les extraits méthanoliques (CI50 = 0,23 mg/ml) et éthanoliques (CI50 = 0,35 mg/ml), mettant en évidence l'influence du solvant sur l'extraction des composés actifs.

Yu et al. (2013) ont évalué un extrait aqueux de graines de *Carthamus tinctorius* et ont rapporté un pouvoir antioxydant progressif avec la concentration, atteignant 28,7 % d'inhibition DPPH à 0,1 mg/ml, 32,9 % à 0,5 mg/ml et 36,2 % à 1,0 mg/ml.

Une étude comparative a montré que l'extrait aqueux de graines de *Carthamus tinctorius* présente une activité antioxydante modérée avec une valeur d'CI50 au test DPPH de 0,278 mg/ml, contre 0.176 mg/ml pour l'acide ascorbique utilisé comme standard (**Dehariya et al., 2020**).

Ces résultats confirment que, bien que l'extrait obtenu par décoction présente une meilleure efficacité antioxydante que celui issu de la macération, leur activité reste inférieure à celle des

antioxydants de référence, et dépend fortement des conditions d'extraction et du type de solvant utilisé, comme le soulignent également les données de la littérature.

5.2. Test du pouvoir réducteur de fer (FRAP)

Nous avons utilisé la méthode de FRAP pour déterminer le pouvoir réducteur des extraits préparés, en mesurant leur capacité à convertir le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}). La réduction est quantifiée par la mesure de l'intensité de la coloration, à l'aide d'un spectrophotomètre, à une longueur d'onde de 700 nm.

Les résultats sont présentés sous forme de courbes de régression linéaire de l'absorbance en fonction des concentrations des extraits (EBD, EBM) et des molécules de référence (acide ascorbique et BHA) (Figure 16,17,18 et 19).

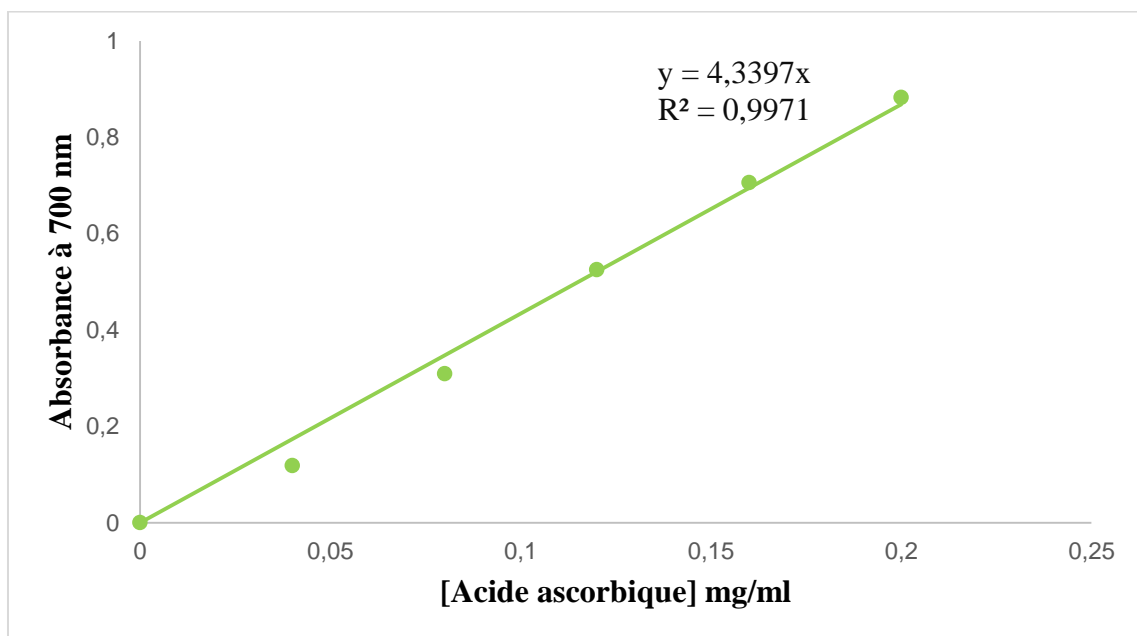


Figure 16: Pouvoir réducteur du fer en présence de l'acide ascorbique

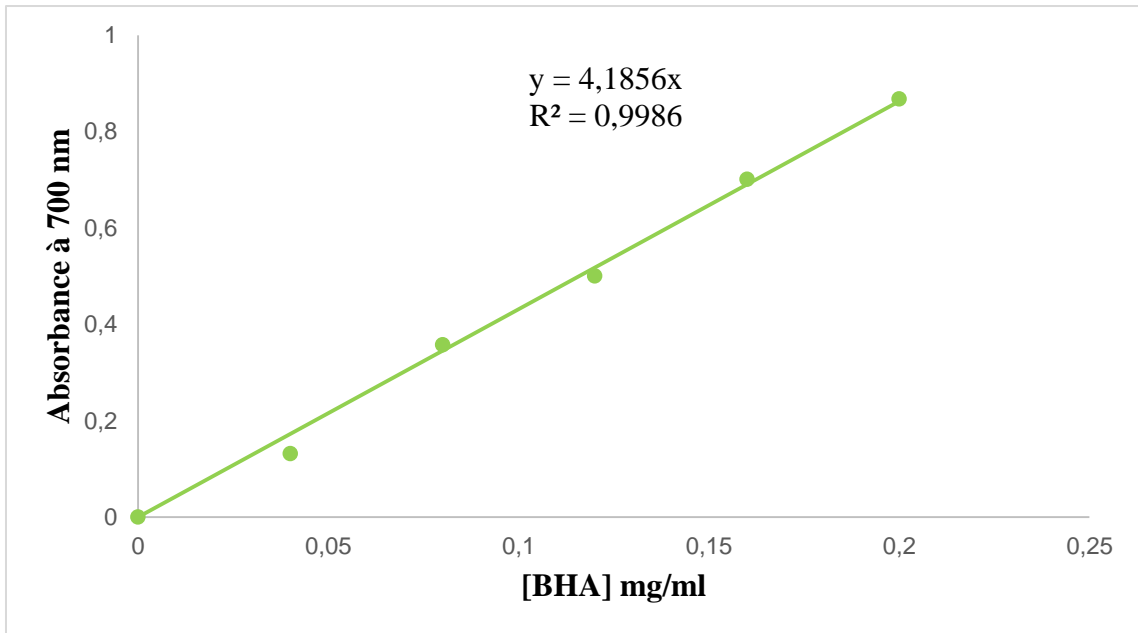


Figure 17: Pouvoir réducteur du fer en présence de butylhydroxyanisole

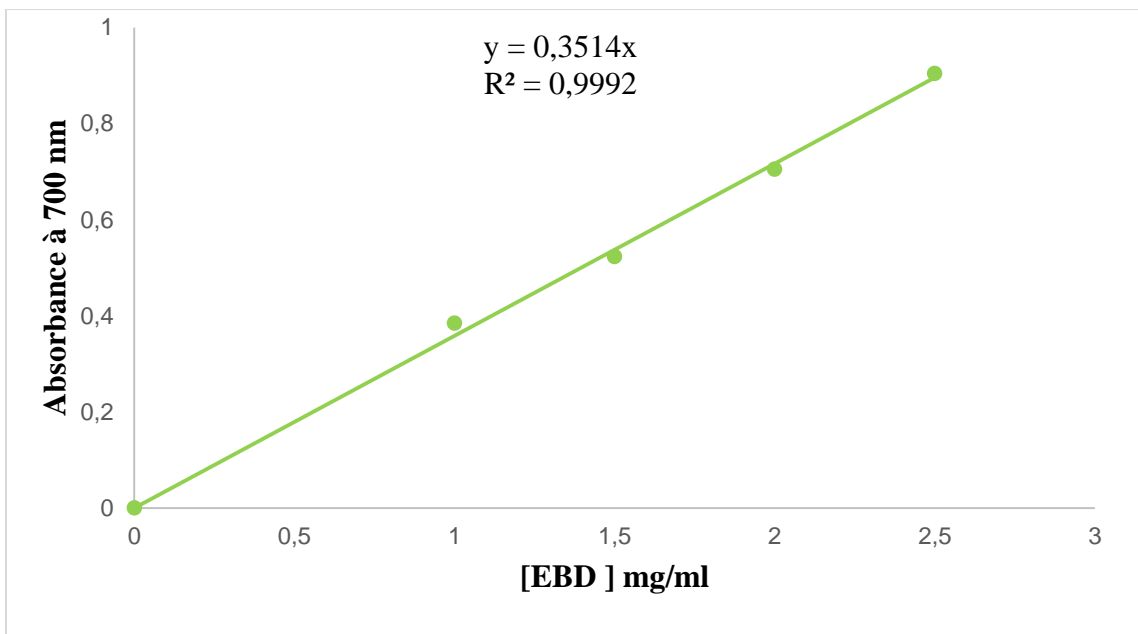


Figure 18: Pouvoir réducteur de Fer en présence de l'extrait EBD des graines de carthame (*Carthamus tinctorius*)

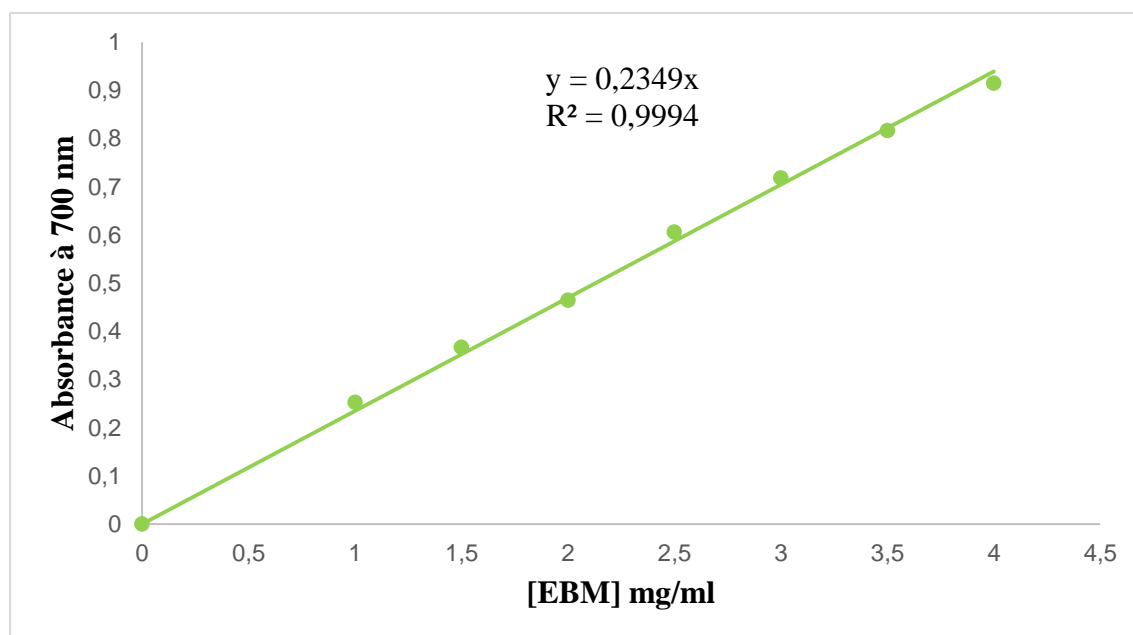


Figure 19: Pouvoir réducteur de Fer en présence de l'extrait EBM des graines de carthame (*Carthamus tinctorius*)

❖ **Calcul des EC50 : concentration inhibitrice à 50%**

La valeur de EC50 correspond à la concentration efficace pour laquelle l'absorbance est égale à 0,5, déterminée à l'aide de l'équation de régression linéaire (**Tableau 11**).

Tableau 11: Les valeurs des EC50 pour le test de FRAP des différents extraits préparés de graines de carthame (*Carthamus tinctorius*) et des molécules de référence (acide ascorbique et BHA).

Extraits / Standard	EC50 (mg/ml)
Acide ascorbique	0,115
BHA	0,119
EBD	1,42
EBM	2,12

BHA : Butylhydroxyanisole ; EBD : extrait brut aqueux préparé par décoction ; EBM : extrait brut aqueux préparé par macération.

Selon les résultats obtenus, nous avons noté que l'extrait préparé par décoction (EBD) a présenté une meilleure activité antioxydante que celui obtenu par macération (EBM), avec des valeurs de EC50 respectives de 1,42 mg/ml et 2,12 mg/ml. Toutefois, ces deux extraits montrent une activité antioxydante nettement plus faible comparée à celle des standards de référence, à savoir l'acide ascorbique (EC50 = 0,115 mg/ml) et le BHA (EC50 = 0,119 mg/ml).

L'activité antioxydante des extraits aqueux de *Carthamus tinctorius* a été évaluée par **Kruawan et Kangsadalampai (2006)** à l'aide du test FRAP. Les auteurs rapportent une capacité antioxydante de $1\,140,5 \pm 5,05 \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ pour les graines de carthame, ce qui reflète une efficacité remarquable par rapport aux autres plantes étudiées. Cette valeur, bien qu'exprimée en équivalent fer et non sous forme d'EC50, suggère une forte capacité de réduction des espèces oxydantes. Ce résultat confirme le potentiel antioxydant significatif des extraits aqueux de carthame, en cohérence avec les données observées dans notre étude.

Khémiri et al. (2020) ont évalué l'activité antioxydante de l'huile des graines de *Carthamus tinctorius* par le test FRAP et ont observé une absorbance de 1,07 à 200 $\mu\text{g/mL}$, inférieure à celle de l'ascorbate de sodium (1,31 à la même concentration). Bien que cette étude démontre un pouvoir réducteur significatif, elle ne rapporte pas de valeur d'EC50, ce qui limite les comparaisons quantitatives directes avec d'autres extraits.

6. Séparation de l'extrait acétonique par chromatographie sur couche mince

Dans le but de séparer les différents composants du filtrat acétonique, une chromatographie sur couche mince (CCM) a été effectuée. L'élution a été réalisée à l'aide d'un système de solvants adapté (n-butanol/eau/acide acétique, 84:14:7)

Après élution, plusieurs taches ont été révélées aux vapeurs de cristaux d'iode, puis observées sous une lumière UV (**Figure 20**).

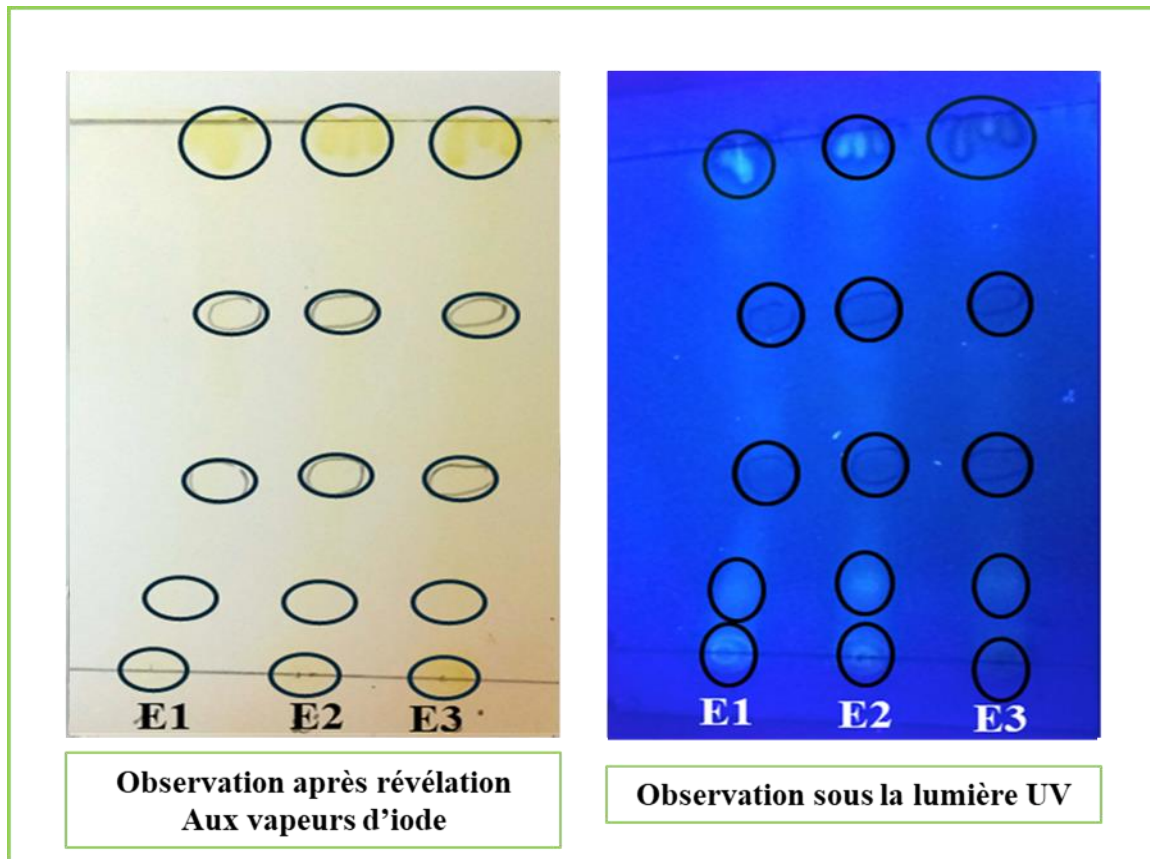


Figure 20:Séparation par chromatographie sur couche mince (CCM) du filtrat acétonique des fleurs de carthame (*Carthamus tinctorius*), révélée par exposition aux vapeurs d'iode puis observation sous lumière UV.

E1 : le premier essai ; **E2** : le deuxième essai ; **E3** : le troisième essai.

Les diverses taches observées sont supposées correspondre à des composés différents présents dans l'extrait, les valeurs de Rf (rapport frontal) ont été déterminées pour chaque tache détectée (**Tableau 12**).

Rapports frontaux ± Ecart type (n=3)
RF1 = 0,03 ± 0,007
RF2 = 0,14 ± 0,014
RF3 = 0,36 ± 0,006
RF4 = 0,67 ± 0,006

$$Rf_5 = 0,96 \pm 0,006$$

Figure 21: Valeurs des rapports frontaux (Rf) des taches révélées dans l'extrait acétonique des fleurs de carthame (*Carthamus tinctorius*)

L'analyse chromatographique sur couche mince (CCM) de l'extrait acétonique des fleurs de *Carthamus tinctorius* a mis en évidence, après exposition aux vapeurs d'iode et révélation sous lumière UV, cinq taches distinctes, traduisant la présence de divers métabolites secondaires (**Figure 20**). Les valeurs de Rf obtenues, allant de $0,03 \pm 0,007$ à $0,96 \pm 0,006$ (**Tableau 12**), ont indiqué une bonne séparation des constituants présents dans l'extrait. Ces observations ont confirmé la présence de plusieurs composés majoritaires.

Ayesha Sultana & Anwer (2014) ont détecté deux pigments principaux lors de l'analyse CCM des pétales de *Carthamus tinctorius*. Le pigment jaune (carthamidine) présentait des Rf entre 1,0 et 2,2, tandis que la carthamine (pigment rouge) affichait un Rf variant de 0,9 à 2,2, selon le support utilisé, tel que la silice-gel F254.

Dans une évaluation technique publiée par la **FAO (JECFA)**, la chromatographie sur couche mince (CCM) réalisée avec un éluant composé de n-butanol, eau et acide acétique (4:1:2) a permis de révéler la présence de pigments jaunes dans les extraits de fleurs de *Carthamus tinctorius*. Deux taches distinctes ont été observées, correspondant à des valeurs de Rf comprises entre 0,2 et 0,5, suggérant la présence de plusieurs composés colorants responsables de la teinte jaune caractéristique.

D'après les données toxicologiques du **JECFA**, la carthamine, principal pigment rouge extrait des fleurs de carthame, a été identifiée par CCM avec un éluant similaire (n-butanol/acide acétique/eau). Une tache unique avec une valeur de Rf d'environ 0,40 a été observée, indiquant une migration modérée sur la plaque chromatographique et confirmant l'isolement de ce composé spécifique.

Selon **Harborne (1998)**, les tanins hydrolysables et condensés apparaissent dans les extraits végétaux avec des Rf faibles à modérés, et produisent des colorations brunes sous vapeur d'iode.

Ces résultats mettent en évidence la complexité chimique des fleurs de *Carthamus tinctorius*, révélée par la chromatographie sur couche mince. La diversité des taches observées traduit la présence de plusieurs composés, dont certains pourraient être responsables de la coloration caractéristique des fleurs. La séparation obtenue témoigne d'un bon profil chromatographique, confirmant la richesse de l'extrait en métabolites secondaires.

Conclusion



Notre travail a porté sur l'étude phytochimique, le dosage des polyphénols totaux, des flavonoïdes et des tanins. Et l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits bruts aqueux obtenus par décoction et macération des graines de *Carthamus tinctorius*, ainsi qu'une analyse chimique de l'huile extraite des graines. En complément, la séparation des composés présents dans l'extrait acétonique a été réalisée par chromatographie sur couche mince (CCM), afin d'explorer leur profil chimique. Cette approche multidimensionnelle visait à mettre en évidence le potentiel de cette plante sur les plans nutritionnel et pharmacologique.

Les résultats obtenus dans le cadre de cette étude nous ont permis de formuler les conclusions suivantes :

L'huile de graines de carthame extraite par méthode Soxhlet s'est présentée sous forme d'un liquide légèrement visqueuse de couleur jaune doré avec un rendement de 48,42% ;

Les extraits bruts aqueux préparés par décoction et macération ont présenté des extraits secs cristallisés, de couleur jaune, d'odeur caractéristique, avec des rendements d'ordre de 3,44% et 4,51%, respectivement ;

Les tests phytochimiques sur les extraits bruts aqueux ont révélé la présence des alcaloïdes, des flavonoïdes, des tanins, des terpénoïdes, des Saponines, des coumarines et des quinones libres et l'absence totale des composés réducteurs, des anthraquinones ;

Les extraits bruts aqueux obtenus par décoction et macération ont présenté des teneurs en polyphénols totaux estimées respectivement à $181,33 \pm 0,003 \mu\text{g Eq AG/mg ES}$ et $207 \pm 0,006 \mu\text{g Eq AG/mg ES}$. Des teneurs en flavonoïdes estimées à $29,75 \pm 0,007 \mu\text{g Eq C/mg ES}$ et $28,35 \pm 0,003 \mu\text{g Eq C/mg ES}$ pour la décoction et la macération, respectivement. Par ailleurs, les teneurs en tanins ont atteint $101,5 \pm 0,015 \mu\text{g Eq C/mg ES}$ pour la décoction et $56 \pm 0,003 \mu\text{g Eq C/mg ES}$ pour la macération ;

Ces extraits bruts obtenus par décoction et macération ont montré une activité antioxydante notable, évaluée à travers les tests DPPH et FRAP. L'extrait issu de la décoction a affiché des valeurs de CI50 et d'EC50 de 1,451 mg/ml et 1,42 mg/ml respectivement, tandis que celui obtenu par macération a présenté des valeurs de 4,537 mg/ml pour la CI50 et 2,12 mg/ml pour l'EC50. Ces résultats sont nettement faibles de ceux obtenus avec l'acide ascorbique (CI50 = 0,101 mg/ml) et le BHA (CI50 = 0,061 mg/ml), utilisé comme référence ;

L'analyse chimique de l'huile extraite des graines de carthame a montré des résultats conformes aux normes du **Codex Alimentarius (2024)**, notamment un indice d'acide de 0,44 mg de KOH/g d'huile et un indice de peroxyde de 0,07 méq O₂/Kg d'huile. En revanche, les

indices d'ester et de saponification ont présenté des valeurs supérieures à celles recommandées par le **Codex Alimentarius (1983 et 2024)**, atteignant respectivement 202,45 mg KOH/g d'huile et 202,89 mg KOH/g d'huile.

La séparation chromatographique (CCM) de l'extrait acétonique des fleurs de *Carthamus tinctorius* a mis en évidence cinq bandes distinctes, traduisant la présence de plusieurs groupes de métabolites secondaires. La constance des valeurs de Rf entre les essais indique une bonne reproductibilité du profil chromatographique. Ces résultats illustrent la diversité des composés présents dans l'extrait et confirment l'intérêt du carthame en tant que source prometteuse de colorants naturels.

Ces résultats ne sont que préliminaires et nécessitent des études ultérieures approfondies et précises, en mettant l'accent sur certains points :

- Explorer l'effet de différents solvants (éthanol, méthanol, acétate d'éthyle...) et techniques d'extraction (ultrasons, micro-ondes, extraction assistée par enzyme) sur le rendement et la composition en métabolites bioactifs ;
- Réaliser l'identification précise des composés présents dans l'huile et les extraits à l'aide de techniques avancées telles que la chromatographie liquide (HPLC), la RMN ou la spectrométrie de masse ;
- Étudier in vivo l'activité antioxydante pour confirmer les effets observés in vitro et mieux cerner les applications pharmacologiques potentielles ;
- Étendre l'évaluation biologique à d'autres propriétés telles que l'activité antimicrobienne, anti-inflammatoire ou encore antidiabétique ;
- Approfondir l'étude des pigments extraits des fleurs sèches de carthame, en évaluant leur stabilité, leur innocuité et leur potentiel d'utilisation comme colorants naturels dans les produits agroalimentaires ;
- Comparer les effets des extraits issus de différentes parties de la plante (feuilles, tiges, fleurs, graines) afin d'identifier les organes les plus riches en molécules bioactives.

Références bibliographiques



A

Adamska, I., & Biernacka, P. (2021). Bioactive Substances in Safflower Flowers and Their Applicability in Medicine and Health-Promoting Foods. *International journal of food science*, 2021(1), 6657639

AFNOR. (2013). *NF EN ISO 3657 – Corps gras d’origines animale et végétale – Détermination de l’indice de saponification*. Paris: AFNOR.

Alajtal, A. I., Sherami, F. E., & Elbagermi, M. A. (2018). Acid, peroxide, ester and saponification values for some vegetable oils before and after frying. *AASCIT Journal of Materials*, 4(2), 43-47

Al-Farga, A. M., Zhang, W., & Khalifa, I. (2017). Identification and quantification of saponins in safflower (*Carthamus tinctorius L.*) seed by HPLC–MS. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11(3), 1246–1252. <https://doi.org/10.1007/s11694-017-9502-3>

APG III. (2009). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants : APG III. *Bot. J. Linn. Soc.* ; 161 : 105-121

Asgarpanah, J., & Kazemivash, N. (2013). Phytochemistry, pharmacology and medicinal properties of *Carthamus tinctorius L.* *Chinese Journal of Integrative Medicine*, 19(2), 153–159. <https://doi.org/10.1007/s11655-013-1354-5>

B

Bacchetti, T., Morresi, C., Bellachioma, L., & Ferretti, G. (2020). Antioxidant and pro-oxidant properties of *Carthamus tinctorius*, hydroxy safflor yellow A, and safflor yellow A. *Antioxidants*, 9(2), 119

Bektas, T., Dimitra, D., Atalay, S., Munevver, S., & Moschos, P. (2005). Antimicrobial and antioxidant activities of essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller. *Food Chemistry*, 90, 333–340. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.04.003>

Benmansour, N. (2020). Etude physico-chimiques et applications de quelques extraits de plantes. Thèse de Doctorat. Université de Abou-Bekr Belkaïd -Tlemcen

Benosman, R., & Mamchaoui. (2005). *Contribution au contrôle de qualité physicochimique d’échantillons d’huiles d’olives* (Mémoire d’ingénieur). Département de Biologie, Université de Tlemcen.

Benslimane, A. (2020). Les huiles fixes: usages thérapeutiques et cosmétiques; production et commercialisation. Thèse de doctorat. Université Mohammed V-Rabat

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT – Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)

Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie: Phytochimie, plantes médicinales* (3e éd.). Paris: Tec & Doc, Lavoisier.

C

Chang, Y. L., Hou, N. C., Fei, J. L., Qin, Z., Niu, Y. L., Zhang, Z. F., ... & Liu, H. M. (2025). Uncovering phenolic profiles of different forms in safflower seeds and their antioxidant capacity, and biological activity. *Journal of Food Science*, 90(3), e70025

Chang, Y. L., Hou, N. C., Fei, J. L., Qin, Z., Niu, Y. L., Zhang, Z. F., Wang, R., Qin, Z., & Liu, H. M. (2021). Uncovering phenolic profiles of different forms in safflower seeds and their antioxidant capacity, and biological activity. *Journal of Food Composition and Analysis*, 97, 103751. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103751>

Codex Alimentarius 1983 (Normes alimentaires internationales FAO-OMS : CXS 106-1983)

Codex Alimentarius 2024 (Normes alimentaires internationales FAO-OMS : CXS 210-1999)

Conte, R., Gullich, L. M., Bilibio, D., Zanella, O., Bender, J. P., Carniel, N., & Priamo, W. L. (2016). Pressurized liquid extraction and chemical characterization of safflower oil: A comparison between methods. *Food Chemistry*, 213, 425-430

COŞGE, B., GÜRBÜZ, B., & KIRALAN, M. (2007). Oil content and fatty acid composition of some safflower (*Carthamus tinctorius* L.) varieties sown in spring and winter. *International Journal of Natural & Engineering Sciences*, 1(3)

D

Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), 7313-7352

De Castro, M. L., & Priego-Capote, F. (2010). Soxhlet extraction: Past and present panacea. *Journal of Chromatography A*, 1217(16), 2383–2389. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.11.027>

Dehariya, R., Chandrakar, J., Dubey, S., Ojha, K., & Dixit, A. K. (2020). Scavenging and metal chelating potential of *Carthamus tinctorius* L. extracts. *Current Botany*, 11, 43–50

Delshad, E., Yousefi, M., Sasannezhad, P., Rakhshandeh, H., & Ayati, Z. (2018). Medical uses of *Carthamus tinctorius* L.(Safflower): a comprehensive review from traditional medicine to modern medicine. *Electronic physician*, 10(4), 6672

Dupré, M., Flament, L., & Leroux, L. (2017). Réduction des réactifs et des concentrations de la détermination de l'indice d'acide d'une huile dans l'optique de la chimie verte [Rapport de stage, BTSA ANABIOTEC]. ENSFEA. <https://physiquechimie-ea.ensfea.fr/wp-content/uploads/sites/10/2020/05/Indice-diode-final.pdf>

E

El Kalamouni, C. (2010). *Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées* (Doctoral dissertation, Institut National Polytechnique de Toulouse-INPT)

El Rhaffari, L., & Zaid, A. (2002). Pratique de la phytothérapie dans le sud-est du Maroc (Tafilalet): Un savoir empirique pour une pharmacopée rénovée. Des sources du savoir aux médicaments du futur, 1, 293-318

Erbaş, S., & Mutlucan, M. (2023). Investigation of flower yield and quality in different color safflower genotypes. *Agronomy*, 13(4), 956

F

Flemmer, A. C., Franchini, M. C., & Lindström, L. I. (2015). Description of safflower (*Carthamus tinctorius*) phenological growth stages according to the extended BBCH scale. *Annals of Applied Biology*, 166(2), 331-339

G

Gagnon, Y. (2021). *Étude de l'extraction des huiles végétales en milieu aqueux assistée par des tensioactifs* (Doctoral dissertation, Université de Technologie de Compiègne) ;

Gardenia.net. (n.d.). *Carthamus tinctorius (Safflower)*. Retrieved May 7, 2025, from <https://www.gardenia.net/plant/carthamus-tinctorius>

Ghazghazi, H., Miguel, M. G., Hasnaoui, B., Sebei, H., & Ksontini, M. (2014). Phenols and antioxidants from safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seeds and flowers. *Industrial Crops and Products*, 61, 255–264

Ghedira, K., & Goetz, P. (2018). Carthame des teinturiers: *Carthamus tinctorius* L.(Asteraceae). *Phytothérapie*, 16(6), 379

Gina Épices. (s.d). *Extrait de carthame*. Récupéré le 14 mai 2025, à partir de <https://www.ginaepices.com/aides-culinaires/colorants-naturels/extrait-de-carthame.html>

H

Hadjadj, S., Ramdane, F., Guedda, I., Koull, R., & Ould El Hadj Khelil, A. (2023). Assessment of safflower flowers (*Carthamus tinctorius* L.) as potential food antioxidants. *Revue des BioRessources*, 13(1), 2-10. Université Kasdi Merbah Ouargla

Han, X., Cheng, L., Zhang, R., & Bi, J. (2009). Extraction of safflower seed oil by supercritical CO₂. *Journal of food engineering*, 92(4), 370-376

Harborne, J. B. (1998). *Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis* (3rd ed.). Springer

Higa, R., White, V., Martinez, N., Kurtz, M., Capobianco, E., & Jawerbaum, A. (2010). Safflower and olive oil dietary treatments rescue aberrant embryonic arachidonic acid and nitric oxide metabolism and prevent diabetic embryopathy in rats. *Molecular human reproduction*, 16(4), 286-295

International Organization for Standardization. (2020). *ISO 3657:2020 – Animal and vegetable fats and oils – Determination of saponification value*. Geneva: ISO.

Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). (1974). *Toxicological evaluation of some food colours, thickening agents, and certain other substances*. WHO Food Additives Series No. 5. <https://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v05je06.htm>

Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). (2004). *Carthamus yellow: Chemical and Technical Assessment (CTA)*. 63rd JECFA Meeting, Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).<https://www.fao.org/3/af357e/af357e.pdf>

JORADP (Journal officiel de la République algérienne). (2012). N° 68. Algérie.

K

Karagözler, A. A., Erdağ, B., Çalmaz Emek, Y., & Aktaş, D. (2008). Antioxidant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastata*. *Food Chemistry*, *111*(2), 400–407. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.03.003>

Katkade, D. D., Karande, V. H., & Marathe, R. P. (2018). Pharmacognostic and phytochemical screening of *Carthamus tinctorius*. *World Journal of Pharmaceutical Research*, *7*(9), 1113–1122

Katkade, M. B., Syed, H. M., Andhale, R. R., & Sontakke, M. D. (2018). Fatty acid profile and quality assessment of safflower (*Carthamus tinctorius*) oil. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, *7*(2), 3581-3585

Khémiri, I., Essghaier, B., Sadfi-Zouaoui, N., & Bitri, L. (2020). Antioxidant and antimicrobial potentials of seed oil from *Carthamus tinctorius* L. in the management of skin injuries. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2020*(1), 4103418

Kim, E. O., Oh, J. H., Lee, S. K., Lee, J. Y., & Choi, S. W. (2007). Antioxidant properties and quantification of phenolic compounds from safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seeds. *Food science and biotechnology*, *16*(1), 71-77

Kutsenkova, V. S., Nepovinnykh, N. V., & Guo, Q. (2020). Using of safflower seeds as a protein fortifier for shortbread. *Food hydrocolloids*, *105*, 105808

L

Lee, J. Y., Chang, E. J., Kim, H. J., Park, J. H., & Choi, S. W. (2002). Antioxidative flavonoids from leaves of *Carthamus tinctorius*. *Archives of pharmacal research*, *25*, 313-319 ;

Li, D., & Mündel, H. H. (1996). *Safflower; Carthamus Tinctorius L* (Vol. 7). Bioversity International

Lin, T. K., Zhong, L., & Santiago, J. L. (2017). Anti-Inflammatory and Skin Barrier Repair Effects of Topical Application of Some Plant Oils. *International journal of molecular sciences*, *19*(1), 70. <https://doi.org/10.3390/ijms19010070>

Liu, Y., Liu, S., Shi, Y., Qin, M., Sun, Z., & Liu, G. (2018). Effects of safflower injection on the pharmacodynamics and pharmacokinetics of warfarin in rats. *Xenobiotica; the fate of foreign compounds in biological systems*, *48*(8), 818–823. <https://doi.org/10.1080/00498254.2017.1361051>

M

M'baye, B. K., Alouemine, S., Lô, B., & Bassene, E. (2012). Etude de l'effet de la température sur les huiles alimentaires en mauritanie: Dosage des indices de peroxyde. *Revue Ivoirienne des Sciences et Technologie*, 19, 26-33

Mandade, R. J., & Sreenivas, S. A. (2011). Preliminary phytochemical evaluation and biological activity of *Murraya koenigii*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(4), 301–303

Mani, S., Ahmad, P., Alam, P., AlHarthi, M., & Abdel Latef, A. A. H. (2022). Genetic diversity, phytochemical and pharmacological properties of safflower (*Carthamus tinctorius* L.): An important medicinal plant. *Genes & Genomics*, 44(1), 101–124. <https://doi.org/10.1007/s13258-021-01179-3>

Mani, V., Lee, S. K., Yeo, Y., & Hahn, B. S. (2020). A metabolic perspective and opportunities in pharmacologically important safflower. *Metabolites*, 10(6), 253

Morin, O., & Pagès-Xatart-Parès, X. (2012). Huiles et corps gras végétaux: ressources fonctionnelles et intérêt nutritionnel. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 19(2), 63-75

Mundo Pájaros. (2020, 21 décembre). Graines et huile de carthame. Repéré à <https://mundopajaros.com/enfermedades/semillas-de-cartamo/>

N

Nimse, S. B., & Pal, D. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC advances*, 5(35), 27986-28006

Noumi, G. B., Njouokam, Y. M., Njiné, C. B., Ngameni, E., & Kapseu, C. (2011). Effets du séchage sur le rendement et la qualité de l'huile extraite de la pulpe de safou. *Tropicultura*, 29(3), 138-142

O

Odoom, W., & Edusei, V. O. (2015). Evaluation of saponification value, iodine value and insoluble impurities in coconut oils from Jomoro District of the Western Region of Ghana. *Asian Journal of Agriculture and Food Sciences*, 3(5)

Ollivier, V., Ollivier, D., & Artaud, J. (2015). Analyse des lipides. *Techniques de l'ingénieur*

P

Pascal, G., Legrand, P. P., This, H., Tormo, E., Pinochet, X., & Claire, B. L. (2023, April). Les huiles végétales alimentaires. In *Session Huiles Végétales alimentaires à l'Académie d'Agriculture de France*.

R

Rafiquzzaman, M., Hossain, M. A., & Hasan, A. M. (2006). Studies on the characterization and glyceride composition of safflower (*Carthamus tinctorius*) seed oil. *Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research*, 41(3), 235-238

Ragab, A. R., Elkablawy, M. A., & Shehab, N. G. (2012). Evaluation of antioxidant activity and flavonoid content of some safflower (*Carthamus tinctorius* L.) cultivars. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 4(2), 48–52

Rahimi, P., Asgary, S., & Kabiri, N. (2014). Hepatoprotective and hypolipidemic effects of *Carthamus tinctorius* oil in alloxan-induced type 1 diabetic rats. *Journal of HerbMed Pharmacology*, 3(2), 107-111

Rombaut, N. (2013). Etude comparative de trois procédés d'extraction d'huile : aspects qualitatifs et quantitatifs : application aux graines de lin et aux pépins de raisin. Thèse de doctorat. Université de Compiègne

S

Sabah, F. S., & Saleh, A. A. (2015). Evaluation of antibacterial activity of flavonoid and oil extracts from safflower (*Carthamus tinctorius* L). *Evaluation*, 5(8)

Sabikhi, L., & Kumar, M. S. (2012). Fatty acid profile of unconventional oilseeds. *Advances in food and nutrition research*, 67, 141-184

Sadeghipour, H. R., Akbari, M., & Mohammadi, A. (2020). Extraction and quantification of total phenolics and tannins in *Carthamus tinctorius* L. under different thermal conditions. *Journal of Herbal Medicine*, 22, 100346

Sajid, M., Munir, H., Rauf, S., Ibtahaj, I., Paray, B. A., Kieltyka-Dadasiewicz, A., Glowacka, A., & Ahmed, M. A. A. (2024). How climate variability affects safflower (*Carthamus tinctorius* L.) yield, oil, and fatty acids in response to sowing dates. *Horticulturae*, 10(6), 539. <https://doi.org/10.3390/horticulturae10060539>

Setshogela, B. P., & Emongor, V. E. (2021). Time of harvesting petals influence on carthamin and carthamidin content and yield components in safflower: A review. *RUFORUM Working Document Series*, 19(1), 111-114

Sharifi-Rad, M., Kumar, N. V. A., Zucca, P., Varoni, E. M., Dini, L., Panzarini, E., Rajkovic, J., Tsouh Fokou, P. V., Azzini, E., Peluso, I., Mishra, A. P., Nigam, M., El Rayess, Y., Beyrouthy, M. E., Polito, L., Iriti, M., Martins, N., Martorell, M., Docea, A. O., ... Sharifi-Rad, J. (2020). Lifestyle, oxidative stress, and antioxidants: Back and forth in the pathophysiology of chronic diseases. *Frontiers in Physiology*, 11, 694. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00694>

Sharma, S., Pokharia, A. K., Kumar, A., Srivastava, A., & Yadav, R. (2022). Carthamus L.: Origin, distribution and its archaeological records in India. *Journal of Palaeosciences*, 71(2), 177-186

Singh, V., & Nimbkar, N. (2006). Safflower (*Carthamus tinctorius* L.). Chapter, 6, 167-194

Siyoucef, D., & Lebboukh, L. (2023). Effet du stress salin sur le comportement morphologique et physiologique du carthame (*Carthamus tinctorius* L.) (mémoire de fin d'étude, université de Ibn Khaldoun tiaret). Repéré à <http://dspace.univ-tiaret.dz/bitstream/123456789/13238/1/TH.M.SNV.2023.51.pdf>

Sultana, A., & Anwer, S. (2014). Studies on valuable pigments from florets of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 11(1), 339–344. <https://doi.org/10.13005/bbra/1279>

T

Tang, N., Xu, X., Guo, Z., Meng, X., Qian, G., & Li, H. (2024). Preparation of safflower fermentation solution and study on its biological activity. *Frontiers in microbiology*, 15, 1472992. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1472992>

Touitou, P. Y. (2005). Biochimie: structure des glucides et lipides. *Faculté de médecine*

V

Van Acker, S.A.B.E., Van Den Berg, D.J., Tromp, M.N.J.L., Griffioen, D.H., Van Bennekom, W.P., Van Der Vijgh, W.J.F., & Bast, A. (1996). Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20(3), 331–342

Vermeris, W., & Nicholson, R. (2006). Isolation and identification of phenolic compounds. In *Phenolic compound biochemistry* (pp. 35–191). Dordrecht: Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5164-7_2

W

Wagner, H., & Blatt, S. (1996). *Plant drug analysis: A thin layer chromatography atlas* (2nd ed.). Springer

Wang, K. H., Li, S. F., Zhao, Y., Li, H. X., & Zhang, L. W. (2018). In Vitro Anticoagulant Activity and Active Components of Safflower Injection. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 23(1), 170. <https://doi.org/10.3390/molecules23010170>

Wang, S., Cao, J., Deng, J., Hou, X., Hao, E., Zhang, L., ... & Li, P. (2021). Chemical characterization of flavonoids and alkaloids in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) by comprehensive two-dimensional hydrophilic interaction chromatography coupled with hybrid linear ion trap Orbitrap mass spectrometry. *Food Chemistry: X*, 12, 100143. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2021.100143>

Y

Yesilyurt, M. K., Cesur, C., Aslan, V., & Yilbasi, Z. (2020). The production of biodiesel from safflower (*Carthamus tinctorius* L.) oil as a potential feedstock and its usage in compression ignition engine: A comprehensive review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 119, 109574

Yu, S. Y., Lee, Y. J., Kim, J. D., Kang, S. N., Lee, S. K., Jang, J. Y., Lee, H.-K., Lim, J.-H., & Lee, O. H. (2013). Phenolic composition, antioxidant activity and anti-adipogenic effect of hot water extract from safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seed. *Nutrients*, 5(12), 4894–4907. <https://doi.org/10.3390/nu5124894>

Z

Zemour, K. (2022). Étude de la tolérance au déficit hydrique et au stress thermique chez le carthame (*Carthamus tinctorius* L.) et leurs effets sur le rendement et la qualité des huiles. Thèse de doctorat, Université Ibn Khaldoun - Tiaret, en cotutelle avec l'Institut National Polytechnique de Toulouse

Zemour, K., Adda, A., Labdelli, A., Dellal, A., Cerny, M., & Merah, O. (2021). Effects of genotype and climatic conditions on the oil content and its fatty acids composition of *Carthamus tinctorius* L. seeds. *Agronomy*, 11(10), 2048

- Zemour, K., Adda, A., Zebib, B., & Merah, O. (2021).** Le carthame (*Carthamus tinctorius* L.): Une oléagineuse qui n'a pas dit son dernier mot en Algérie. *Revue Agrobiologia*, 10(2), 2211-2219
- Zemour, K., Labdelli, A., Adda, A., Dellal, A., Talou, T., & Merah, O. (2019).** Phenol content and antioxidant and antiaging activity of safflower seed oil (*Carthamus tinctorius* L.). *Cosmetics*, 6(3), 55
- Zhang, Y., Wang, J., Cheng, Y., & Wang, Y. (2011).** Antioxidant activities of extracts from *Carthamus tinctorius* L. (Safflower) in vivo and in vitro. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(13), 2654–2661
- Zhang, Z., Huang, Q., Zhao, D., Lian, F., Li, X., & Qi, W. (2023).** The impact of oxidative stress-induced mitochondrial dysfunction on diabetic microvascular complications. *Frontiers in endocrinology*, 14, 1112363
- Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999).** The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64, 555–559. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00102-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2)
- Zhu, J., Chen, Y., & Yu, R. (2014).** Analysis of terpenoids in safflower seed by GC-MS. *Journal of Medicinal Plants Research*, 8(30), 933–938