

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Béjaïa

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Alimentaires
Spécialité : Qualité des produits et Sécurité Alimentaire



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Extraction des composés bioactifs de
safran Algérien«*Crocus sativus L.*»**

Présenté par :

CHOUALI Malika & DJEBELLANNOUAR Salima

Soutenu le : **02/07/2019**

Devant le jury composé de :

M^{me}TAFININE Zina

M.C.A Présidente

M^r BACHIR BEY Mostapha M.C.A Encadreur

M^{me} ZEMOURI Salima M.A.B Examinatrice

Année universitaire : 2018 / 2019

Remerciements

Au terme de ce travail, nous tenant à remercier notre promoteur M^{er} M. BACHIR BEY, pour son aide, sa grande disponibilité, ses encouragements, ses précieux conseils, sa confiance et sa patience, tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Nos remerciements vont aussi aux membres du jury, M^{me} Z. TAFININE et M^{me} S. ZEMOURI qui ont acceptés d'évaluer ce travail.

On tient à remercier les membres du laboratoire de biochimie alimentaire; Lila, Warda, Kahina et Walid pour leur conseils et orientations.

Nous tenant à remercier également tous ceux qui ont été là pour nous aider, nous soutenir, nous aimer.

Dédicaces

À l'aide de Dieu le tout puissant, qui m'a honoré et éclairé le chemin par le savoir, ce modeste travail a pu être réalisé et que je dédie :

- A mes très chers parents à qui je suis plus que reconnaissante qui ont sacrifiées pour mon éducation et ma réussite et m'avoir épaulé corps et âme dans chaque étape et soutenue. Je vous dis : vous avez été pour moi ma meilleure école et mon meilleur professeur, merci maman, merci papa pour toutes les valeurs que vous m'avez inculquées. Que Dieu vous garde en pleine santé.

- A mon mari Lamine, aucun mot ne saurait t'exprimer mon profond attachement et ma reconnaissance pour l'amour, la tendresse et la gentillesse dont tu m'as toujours entouré. J'aimerais bien que tu trouves dans ce travail l'expression les plus sincères car grâce à ton aide et à ta patience avec moi que ce travail a pu voir le jour... Que dieu le tout puissant nous accorde un avenir meilleur.

- A mes deux anges Aymene et Razine que j'aime énormément.

- A mes beaux parents de votre affection, à tous les efforts que vous avez déployés durant toute cette période j'espère que ce travail soit l'expression de ma pleine gratitude et de mon profond respect.

- A mes chers frères et sœurs et ma belle sœur, qui ont également été à mes côtés, merci pour votre soutien ainsi que vos encouragements

- A toute ma famille grande et petite sans exception.

- A la mémoire de mes grands parents.

- A ma grande mère.

- A ma binôme Salima ainsi qu'à sa famille.

- A tous ceux qui m'ont aidé de proche ou de loin, par leur sourire, leur gentillesse, m'ont encouragé à poursuivre mes études.

- Et bien sur nos collègues de promotion Master 2 QPSA et ceux qui travaillent à la DCP.

- Et pour tous ceux qui aiment la science.

Malika

Dédicaces

Grace à Dieu qui ma illuminer le chemin du savoir, ce modeste travail a pu être accompli, et que je dédis à:

- Mes parents qui m'ont soutenu et apporté amour et tendresse et de m'avoir montré la valeur du savoir.
- Mon très cher et tendre mari Boussaâd, qui m'a soutenu, aidé et encouragé.
- Ma princesse, la lumière de ma vie Mallak.
- Ma belle mère et toute ma belle famille, pour leur soutien.
- Mes frères et sœurs (Kamila, Nabila, Slimane, Djamel et Amel).
- Mes oncles et tontes, cousins et cousines.
- Ma binôme Malika ainsi qu'à sa famille.
- Mes amies.
- La mémoire de mes grands parents.
- Tous mes collègues de la DCP.
- Toute personne qui m'a aidé de proche ou de loin, par son sourire, sa gentillesse.

Salima

-

Liste des abréviations

DPPH	2,2 Diphényl-1-Pyrcil- Hydrazyl
EAM	Extraction assistée par micro-ondes
EAU	Extraction assistée par ultrasons.
EM	Extraction par macération
ERO	Espèces réactives oxygénées
ISO	International Organization for Standardization
ppm	Partie par million
PS	Poids sec
rpm	Révolution par minute
W	Watt

Liste des figures

Numéro	Titre de la figure	Page
1	Cueilleuses de safran, île de Santorin.	04
2	Fleur du <i>Crocus sativus</i> L.: 1: pétales, 2: stigmates, 3: étamines, 4: bulbe.	05
3	Étapes de la culture du safran: plantation et floraison, récolte de la fleur dans des paniers, émondage et séchage des stigmates.	06
4	Principales nations productrices de safran.	07
5	Types de safran.	12
6	Biosynthèse de la crocétine, la crocine, la picrocrocine et du safranal à partir du clivage oxydatif de la Zéaxanthine.	16
7	Échantillon du safran (à gauche), broyage (au milieu) et tamisage (à droite).	23
8	Extraction par agitation magnétique.	24
9	Extraction assistée par ultrasons.	25
10	Extraction assistée par micro-ondes.	25
11	Cinétique d'extraction des trois composés bioactifs du safran par l'EM.	28
12	Cinétique d'extraction des trois composés bioactifs du safran par l'EAU.	29
13	Cinétique d'extraction des trois composés bioactifs du safran par l'EAM.	30
14	Teneurs en polyphénols totaux et activité antioxydante du safran obtenues par différentes méthodes d'extraction.	33
15	Cinétique de dégradation de la crocine stockée à différentes températures.	35
16	Cinétique de la dégradation thermique de la crocine dans les extraits aqueux (a) et éthanoliques (b).	38
17	Effet de la concentration de l'acide citrique sur la crocine durant le stockage à (a) 0, (b) 15 et (c) 21 jours.	39
18	Changement de la couleur des extraits aqueux sous l'effet de différents pH à tps = 0 (a), 15 jours (b), 21 jours (c) ; L'acidité augmente de gauche à droite.	40
13	Hydrolyse de la crocine en crocétine.	40

Listes des figures en annexe :

Numéro	Titre de la figure
01	Risque de confusion du safran à gauche avec à droite le colchique d'automne, très toxique.
02	Stigmates de <i>Crocus sativus</i> (à gauche) et fleur tubulaire <i>Carthamus tinctorius</i> (à droite).
03	Présentation schématique du phénomène de cavitation acoustique.
04	Principe de chauffage par micro-ondes.
05	Le jaune du safran illumine ce tapis d'Anatolie centrale.
06	Échantillon de safran dans un récipient en inox fermé hermétiquement.
07	Test d'identification de notre échantillon du safran.
08	Courbe d'étalonnage des composés phénoliques.
09	Diminution de l'absorbance de la crocine dans l'extrait stocké à 35°C pendant 7 jours.
10	Changement des maximales de longueur d'onde en fonction de solvant: éthanol (à gauche), l'eau (à droite).

Liste des tableaux en annexe :

Tableaux	Titre du tableau
I	Spécifications chimiques du safran en filaments, filaments coupés et en poudre.
II	Classification du safran en filament et en filaments coupés sur des critères Physiques.
III	Maximales de longueur d'onde d'extraits de safran comme élucidé en utilisant la spectroscopie.

Table des matières

Introduction	1
---------------------------	----------

Partie bibliographique

I. Généralité sur le safran	3
1. Historique	3
2. Classification et description de <i>Crocus sativus</i>	4
2.1. Classification	4
2.2. Description	4
2.3. Procédés d'obtention de safran	5
2.3.1. Culture	5
2.3.2. Cueillette	5
2.3.3. Emondage	6
2.3.4. Séchage	6
2.4. Stockage et conditionnement	7
3. Production mondiale et commerce du safran	7
3.1. Production mondiale du safran	7
3.2. Commerce du safran	8
4. Composition chimique du safran	9
5. Falsification et contrôle de la qualité du safran	9
5.1. Falsifications	9
5.2. Contrôle de la qualité du safran	10
5.2.1. Détermination de la qualité du safran et normalisation	10
5.2.2. Inspection et contrôle	11
5.2.3. Repère de qualité du safran	11
5.2.4. Type du safran	11
II. Substances à activité antioxydante du safran	12
1. Composés phénoliques	13
2. Caroténoïdes	13
3. Principaux composés biologiquement actifs du safran	14
3.1. Crocétine	14
3.2. Crocine	14
3.3. Picrocrocine	15
3.4. Safranal	15
III. Méthodes d'extractions des composés bioactifs à partir des plantes	16
1. Méthodes classiques	16
2. Méthodes alternatives	17
2.1. Extraction assistée aux ultrasons	17
2.2. Extraction assistée par microondes	17
IV. Application du safran	18
1. Application alimentaire	18
2. Application thérapeutique	19
2.1. Anti-cancer et activité anti-tumorale	20
2.2. Activité antitussive	20
2.3. Activité anti-convulsivante	20
2.4. Stress oxydatif	20

2.5. Effets anti-nociceptifs et anti-inflammatoires	21
2.6. Pression sanguine	21
2.7. Effets sur le flux sanguin oculaire et la fonction rétinienne.....	21
2.8. Effet sur le comportement d'apprentissage et la potentialisation à long terme	21
2.9. Anti Alzheimer	21
3. Autres usages.....	22
3.1. Teintures et peintures	22
3.2. Calligraphie	22
3.3. Histologie	22
3.4. Cosmétologie.....	22
3.5. Parfumerie	22
4. Toxicité.....	22

Partie expérimentale

I. Matériels et méthodes	23
1. Matière végétale	23
2. Étude de l'effet de la méthode et du temps d'extraction sur les teneurs des trois composés principaux du safran.....	24
2.1. Extraction par macération	24
2.2. Extraction assistée par ultrason.....	25
2.3. Extraction assistée par micro-ondes.....	25
3. Détermination de la teneur en composés phénoliques et l'évaluation de l'activité antioxydante du safran.....	25
3.1. Dosage des composés phénoliques	26
3.2. Évaluation de l'activité antioxydante.....	26
4. Étude de la stabilité de la crocine.....	26
4.1. Effet du temps et de la température de conservation	27
4.2. Effet du temps et du chauffage.....	27
4.3. Effet de l'acidité.....	27
5. Analyse statistique.....	27
II. Résultats et discussion.....	28
1. Effet de la méthode et du temps sur l'extraction des composés principaux du safran....	28
2. Détermination de la teneur en composés phénoliques et l'évaluation de l'activité antioxydante du safran.....	32
3. Étude de stabilité de la crocine.....	35
3.1. Effet du temps et de la température de conservation	35
3.2. Effet du temps et du chauffage.....	36
3.3. Effet de l'acidité.....	38
Conclusion.....	41
Références bibliographiques	43

Annexes

Annexe

Conclusion

Références bibliographiques

Introduction

*« Le safran réconforte, il excite la joie, raffermi tout
viscère et répare le foie »*
École de médecine de Salerne, Moyen-Âge

*« Le savant n'est pas l'homme qui fournit les vraies
réponses,
c'est celui qui pose les vraies questions »*

Partie expérimentale

*« On ne peut pas croire à tout ce qu'on entend,
on ne peut pas croire à la plupart de ce qu'on lit,
mais on peut croire à tout ce que l'on fait... »*

Partie bibliographique

*«La science c'est pas et ne sera jamais un livre acheté.
Tout progrès important fait surgir de nouvelles
questions. Tout développement révèle à la longue de
nouvelles et plus grosses difficultés»*

Introduction

Crocus sativus L est une plante herbacée pérenne appartenant à la famille des *Iridaceae* (Giorgi *et al.*, 2015), Elle se propage par voie végétative au moyen d'une corne (Gresta *et coll.*, 2009). Elle possède de grandes fleurs avec un style filiforme divisé en trois stigmates odorants. La récolte de ces fleurs et la séparation des stigmates sont toujours effectuées à la main dans la plupart des zones. (Melnyk *et al.*, 2010).

L'obtention de la poudre rouge de safran se fait par la déshydratation des stigmates des fleurs de *Crocus sativus* L. (Lachaud, 2012). Cette épice est désignée par l'appellation « or rouge », étant la plus chère épice au monde (Hill, 2004). Son coût de revient élevé n'est pas dû à sa rareté, mais à la cherté de la main d'œuvre. En effet, il faut 150 000 fleurs de crocus pour obtenir seulement 1 kg de safran sec (Palomares, 2015), qui nécessitent près de 40 heures de travail intense (Lak, 1998).

L'épice de safran est très appréciée, elle est utilisée dans l'industrie, avec différentes applications, comme médicament ; elle a été utilisée dans le traitement d'environ 90 maladies (Honan, 2004) telles que : troubles de vision liés à l'âge, flatulences, dysménorrhée, paralysie, goutte et cancers (Fernandez-Sanchez *et al.*, 2012). Elle est aussi utilisée dans les textiles et complément culinaire voyant sa couleur exceptionnelle, jaune or (Sanchez-Moreno, 2002). En outre, de nos jours le safran est très convoité par la communauté scientifique notamment en raison de sa richesse en composants antioxydants (Gresta *et al.*, 2008).

La couleur, le goût amer et l'arôme constituent les trois traits particuliers de cette épice (Katzer, 2001), par conséquent, on peut affirmer que le safran de meilleure qualité est celui dans lequel les composants responsables de ces caractéristiques sont en plus grande quantité. Ces caractéristiques sont associées à trois molécules différentes: crocines (les esters de crocétine qui appartiennent au groupe des caroténoïdes), picrocrocine (monoterpène issue de la dégradation de la zéaxanthine et safranal (le composant qui se trouve en proportion la plus élevée dans la fraction volatile du safran) (Alonso Diaz-Marta *et al.*, 2006).

La détermination de la qualité de l'épice de safran est une considération importante pour l'industrie et les consommateurs (Sujata *et al.*, 1992). Sa qualité dépend fortement du sol, du climat, du temps de la récolte, de la structure interne de la matière végétale, des méthodes utilisées pour le séchage, les conditions de stockage (Kadkhodae *et al.*, 2006),

La composition chimique des échantillons de safran de nombreux pays indique que les valeurs déclarées sont fortement dépendantes de la méthode d'extraction et d'analyse quantitative (Orfanou et Tsimidou, 1996).

À cette effet, ce travail qui fait partie d'un projet de recherche scientifique lancé par notre université sur les applications technologiques de *Crocus sativus* L. cultivé systématiquement sur le sol algérien précisément à la wilaya de Constantine, a pour ambition scientifique la détermination de la meilleure méthode d'extraction des trois composés bioactifs de safran: Il s'agit de l'extraction conventionnelle solide-liquide (la macération) et deux techniques plus récentes, l'extraction assistée par ultrason et extraction assistée par microonde, ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante de cette épice, le dosage de ses composés phénoliques et l'étude de la stabilité de son pigment en fonction de temps, des conditions de conservation, de chauffage et d'acidité.

Le présent travail est divisé en deux parties :

- Une partie bibliographique, comportant :
 - ✓ Des généralités sur le safran,
 - ✓ Présentation des substances à activité antioxydante du safran,
 - ✓ Les méthodes d'extractions des composés bioactifs à partir des plantes.
- Une partie expérimentale, refermant :
 - ✓ Le matériel et les méthodes utilisées,
 - ✓ Les résultats obtenus avec leurs discussions.

I. Généralités sur le safran

1. Historique

Le safran est un produit agricole classé dans la famille des épices. Il découle de la culture de l'espèce *Crocus sativus* L. (Santha Ram *et al.*, 1969).

Le mot "safran" a une origine latine : « safranum » tiré de l'arabe « asfer » signifiant jaune (Crozet *et al.*, 2012). La couleur du safran a été considérée comme un symbole de lumière, de spiritualité et de sagesse (Aramburu *et al.*, 2006). En Europe, les adeptes de la «théorie des signatures» interprétèrent la couleur jaune du safran comme un signe d'éventuelles propriétés curatives contre la jaunisse (Louise, 2002). S'appuyant sur la présence de cultures de safran sur le plateau iranien, on suppose que le mot arabe za'farān proviendrait d'un persan zar-parān (زرپرآن), proprement « à plumes dorées », composé de zar (زر), «or» et par (پر), « plume » (Boskabady *et al.*, 2008).

En effet « *Crocus sativus* », nom adopté par le scientifique Linné en 1754 serait une transcription en latin du mot grec « krokos » qui signifie filament, poil, en référence à la forme des stigmates qui donneront une fois séchés, cette fameuse épice (Aucante, 2000).

Le terme « sativus » signifie « cultivé », car *Crocus sativus* est peu connu pour se développer à l'état sauvage (Favre, 2008) et ne peut se multiplier sans la main de l'homme (Chahine, 2014).

L'histoire du safran, que ce soit au niveau de sa culture ou de son usage, remonte à plus de 3 500 ans, et traverse plusieurs sociétés, continents et civilisations (Delaveau, 2006). Son origine exacte reste inconnue (Berdonces, 2009), Selon les recherches botaniques il serait originaire soit :

- D'Europe (Grèce), et non d'Asie centrale (Karimi *et al.*, 2010), puis s'est répandu au Moyen-Orient (Ameziane, 2016). Il a été cultivé pour la première fois dans les provinces Grecques (Mc Gee, 2004), par la civilisation Minoenne, il y a plus de 35 siècles. La fleur de safran serait en fait issue d'un ancêtre sauvage certainement d'origine grecque : *Crocus cartwrightianus*. Au palais de Cnossos en Crète et dans les ruines d'Akrotiri sur l'île de Santorin, se trouvent des fresques évoquant la cueillette (Delaveau, 2006) comme illustré dans la figure 1.

- Soit du Moyen-Orient, et peut-être d'abord cultivé au Cachemire (Mc Gee, 2004). Les perses seraient les premiers exportateurs de cette « épice d'or » dans différents pays du monde antiques, enseignant sa culture et ses propriétés aux romains, grecs, chinois. Quoi qu'il en soit, il s'est lentement propagé à travers l'Eurasie, atteignant plus tard l'Afrique du Nord, l'Amérique du Nord et l'Océanie (Boutet, 1991).



Figure 1. Cueilleuses de safran, île de Santorin (Grilli Cariola *et al.*, 2010).

2. Classification et description de *Crocus sativus*

2.1. Classification

Selon la classification botanique de Cronquist de 1981, qui est basée sur des critères anatomiques, morphologiques et chimiques dans le but de différencier les angiospermes, *Crocus sativus* appartient à la classe des monocotylédones, la famille des *Iridaceae* et le genre *Crocus* (Dupont, 2007).

2.2. Description

Le genre *Crocus* comprend plus de 80 espèces de plantes bulbeuses de petites tailles. *Crocus sativus* L. est l'espèce la plus fascinante, c'est la seule qui produit le safran (Chahine, 2014). Il existe deux groupes de crocus : les crocus à floraison automnale comme *Crocus sativus* L. et les crocus à floraison printanière tels que *Crocus vernus* (Palomares, 2015).

Le *Crocus sativus* est une plante triploïde stérile, herbacée, vivace à floraison automnale (Rubio-Moraga *et al.*, 2009). Elle atteint 10 à 25 cm de hauteur et se développe à partir des bulbes. Le bulbe est un organe souterrain qui accumule les substances de réserve nécessaires à la floraison et au bourgeonnement (Alonso Diaz-Marta *et al.*, 2006).

Elle possède de grandes fleurs voyantes de couleur violette ou pourpre-violacée connues sous le nom de « rose du safran » (Lachaud, 2012). La fleur est composée de 6 tépales, de 3 étamines jaunes et d'un pistil se divisant en 3 longs stigmates de couleur rouge vif et velouté de 3 à 4 cm (Voir figure 2). Les stigmates ont un aspect brillant à l'ouverture de la fleur, fins à la base et plus larges à l'extrémité, très odorants et constituent le safran du

commerce une fois séchés (Deo, 2003). il ne faut pas confondre la fleur de *Crocus sativus* avec le colchique d'automne, très toxique (Annexe, figure 01).



Figure 2. Fleur du *Crocus sativus*: 1: pétales, 2: stigmates, 3: étamines, 4: bulbe (Lachaud, 2012).

2.3. Procédés d'obtention de safran

2.3.1. Culture

La façon de cultiver le safran n'a presque pas changé au cours des derniers siècles. Cette culture a toujours besoin d'une main d'œuvre importante à cause de son faible niveau de mécanisation. Le safran s'adapte bien aux terrains calcaires. Il est cultivé dans des sols pauvres, mais le rendement est meilleur avec des sols fertiles. Le cycle de culture du safran est caractérisé par deux stades au cours de l'année : la phase d'activité et la phase de dormance. La période d'activité s'étend du mois d'août ou septembre jusqu'au mois d'avril-mai (Alonso Diaz-Marta *et al.*, 2006), alors que la période de dormance se fait durant les mois estivaux (Lachaud, 2012). Le safran pousse idéalement s'il est exposé directement à la lumière du soleil, et s'accommode mal à l'ombre (Deo, 2003).

La floraison du *Crocus sativus* a lieu en octobre - novembre (Lazérat, 2009) dans une étroite fenêtre d'une à deux semaines (Willard, 2001). Après la floraison, le bulbe disparaît, laissant place à un nouveau bulbe qui donnera des fleurs après une année (Dupont, 2007).

2.3.2. Cueillette

La moisson des fleurs doit être très rapide: après leur floraison à l'aube, les fleurs fanent rapidement durant la journée (Willard, 2001) car elles sont sensibles à l'action de la lumière et de l'air, ce qui peut causer une décoloration des stigmates et une diminution de leur parfum (Palomares, 2015). Il existe des modèles plus ou moins sophistiqués de machines pour la récolte des fleurs de safran dans le champ. Toutefois, elle présente des inconvénients (Alonso Diaz-Marta *et al.*, 2006).

2.3.3. Emondage

L'émondage est l'action de séparer les trois stigmates des autres organes de la fleur. L'objectif est de couper le style ni trop haut ni trop bas afin de garantir une qualité optimale. Il doit commencer le plus tôt possible, au maximum dans les vingt-quatre heures qui suivent la cueillette (Palomares, 2015). Une livre (0,45 kg) de safran sec exige la récolte de près de 50,000 à 75,000 fleurs (Hill, 2004).

Jusqu'il y a très peu, l'émondage ne pouvait s'effectuer que manuellement, permet d'obtenir un safran de meilleure qualité. Aujourd'hui, en Macédoine occidentale, certains gros producteurs utilisent des machines semi-automatiques qui l'effectuent (Alonso Diaz-Marta *et al.*, 2006).

2.3.4. Séchage

Le séchage demeure la partie la plus délicate et la plus critique. En effet, c'est cette étape qui conditionne la consommation du safran et sa conservation ultérieure. Elle détermine ses qualités organoleptiques telles que la couleur, la saveur, mais également son pouvoir aromatique ainsi que ses propriétés médicinales.

La manière de sécher les stigmates s'avère différente selon les pays et les régions : poêle à bois, séchoir à pollen, air libre, four électrique, dessiccateur. D'où les différentes variations de qualité que l'on peut observer d'un safran à l'autre. Après séchage les stigmates ne mesurent plus que 2 cm et au poids le safran sec doit perdre 4/5 du poids frais de départ (Ursat, 1913). Le taux d'humidité restant doit être au maximum de 12 % selon la norme internationale ISO 3632-1 de 2011 (Palomares, 2015).

Les étapes d'obtention de safran sont indiquées dans la figure 3.



Figure 3. Étapes de la culture de safran: plantation et floraison, récolte de la fleur, émondage et séchage des stigmates (Lachaud, 2012)

2.4 .Stockage et conditionnement

Le safran étant très hygroscopique, il doit être conservé après séchage dans un endroit sec (Ursat, 1913), L'épice peut se consommer un mois après le séchage, sachant que la maturité optimale aromatique s'acquiert en dix à douze mois. Le safran gardera ses qualités gustatives durant deux à trois ans pour laisser ensuite place à l'amertume (Palomares, 2015).

3. Production mondiale et commerce du safran

3.1. Production mondiale du safran

Les principales régions de culture du safran sont: l'Iran, la Grèce, le Maroc, l'Espagne, l'Inde. Ces pays sont les premiers exportateurs mondiaux de safran. On trouve également quelques petites exploitations en France, Suisse, Italie, Turquie, Azerbaïdjan, Pakistan, Chine, Japon (Palomares, 2015), Tasmanie (Courtney, 2002), Égypte, Mexique, Nouvelle-Zélande mais aussi aux Etats-Unis et en Afrique centrale (Abdullaev, 2002) (Voir figure 4).

La plus grande part de la production mondiale provient d'une large ceinture qui s'étend de la mer Méditerranée au Cachemire occidental. Environ 300 tonnes de safran sont produites par an, incluant les poudres et les stigmates, dont 200 tonnes pour les stigmates seuls. Actuellement, le principal pays producteur de safran est l'Iran (150 à 170 t/an) qui domine le marché de la production mondiale à plus de 90 % (Palomares, 2015), puis l'Inde et le Cachemire (30 à 40 t/an), suivi par la Grèce (5 à 7 t/an), le Maroc (2 à 3 t/an) puis l'Espagne (1 t/an) et l'Italie (100 kg/an). Enfin les petites productions françaises et suisses, avec le safran du Gâtinais et du Quercy (6 kg/an) et du Mund (1,5 à 3 kg/an). (Negbi, 1999).

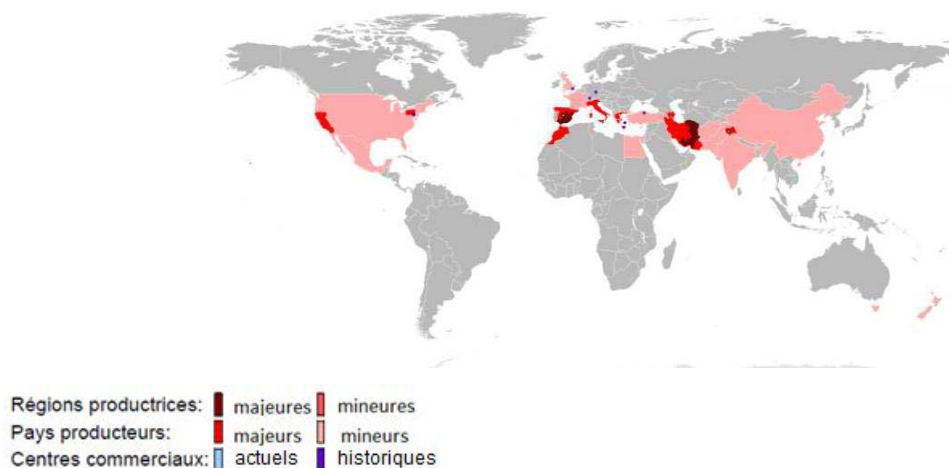


Figure 4. Principales nations productrices de safran (Palomares, 2015).

Plusieurs essais de culture de safran en Algérie ont été tentés durant la période coloniale est qui ont parfaitement réussi. On recommanda alors son adoption comme culture familiale, car peu de cultures, procurent sur un si petit espace et avec aussi peu de travail des bénéfiques aussi rémunérateurs. (Chevalier, 1926). Mais il se peut que l'agitation du peuple algérien pendant la période coloniale ait freiné son adoption.

Ce n'est que depuis 2009 qu'une véritable lancée est remarquée par des projets familiaux soutenus et des expérimentations documentées et ce à Constantine (BenBadis), Khenchela (M'sara) (Gadiri, 2011), tizi ouazou (Aïn El-Hammam) (Belgacem, 2018) Batna (T'kout) et Biskra (El Outaya, El Kantara) (Lahmadi *et al.*, 2013), Oum El-Bouaghi (Aïn Zitoun et Aïn M'lila) (Nacer, 2018), Blida, Tipaza (Bouismail) et Ain defla (Miliana) (Zobeidi et Benkhalifa, 2014).

Actuellement, la culture du safran existe dans 25 wilayas, à l'Ouest, mais surtout dans les Hauts Plateaux et au Sud. Les plus grandes superficies sont plantées à Khenchela, suivie de Ghardaïa puis Oran. (Nacer, 2018) La production nationale de safran en 2018 a atteint 10 à 15 kg (Loukil, 2018).

3.2. Commerce du safran

Le safran est connu pour être l'épice la plus chère au monde. Son prix varie de 30 € à 40 € le gramme, ce qui est 100 fois supérieur au prix de la truffe et 10 fois supérieur à celui du caviar : c'est pourquoi on l'a appelé l'or rouge (Abdelallah Berrabah et Allal, 2017). Ce prix élevé s'explique par la difficulté d'extraction, qui s'effectue manuellement, d'un grand nombre de petits stigmates, seules parties de la fleur à posséder les propriétés aromatiques désirées. Au Cachemire, par exemple, des milliers de cultivateurs doivent travailler sans relâche jour et nuit pendant une à deux semaines (Lak, 1998).

Le prix d'achat en grosse quantité de safran de qualité inférieure peut atteindre près de 500 € par livre, alors que le prix au détail de petites quantités excède près de dix fois cette somme (Hill, 2004).

Les occidentaux doivent faire face à d'importants obstacles pour obtenir du safran indien, le pays ayant interdit l'exportation des safrans de meilleure qualité. Hormis ces dernières, d'autres variétés commerciales sont disponibles, provenant de Nouvelle-Zélande, de France, de Suisse, d'Angleterre ou d'autres pays. Aux États-Unis, le *Pennsylvania Dutch saffron*, connu pour ses notes terreuses, est vendu en petite quantité (Willard, 2001).

4. Composition chimique du Safran

La détermination de la composition chimique du safran est très complexe, mais elle est délicate, car elle suppose une identification botanique correcte, des stigmates non adultérés et sans déchets floraux (Moghaddasi, 2010).

Les analyses chimiques faites sur les stigmates de *Crocus sativus* ont révélé une composition approximative de : 10 % d'eau, 12 % de protéines et d'acides aminés, 5 % de graisses, 5 % de minéraux (Mn, Mg, P, Cu, Ca, Zn, Fe,...), 5 % de fibres brutes, 63 % de sucres incluant l'amidon, les sucres réduits, les pentosanes, les gommes, les pectines et les dextrines. Des quantités infimes de vitamine B2 (riboflavine) et de vitamine B1 (thiamine).

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

En outre, le safran contient plus de 150 composés volatils et aromatiques, et plusieurs composés non-volatils, les principaux étant les caroténoïdes (Lech *et al.*, 2009). Les stigmates contiennent trois substances importantes qui sont le safranal, la crocine et la picrocrocine qui sont responsables respectivement de l'arôme, de la couleur et du goût (Fernandez, 2004). Ces constituants contribuent non seulement au profil sensoriel du safran mais aussi aux propriétés intéressant la santé (Hu *et al.*, 2008), qui seront discutées dans la partie suivante qui est les substances à activité antioxydante du safran.

5. Falsification et contrôle de la qualité du safran

5.1. Falsifications

En latin, « *Adulteratur nihil aeque* » : il n'y a rien de plus falsifié : c'est ainsi que Pline, au 1er siècle qualifiait le safran (Melnyk *et al.*, 2010).

La production limitée du safran et son prix extrêmement élevé expliquent qu'il ait été souvent sujet à des falsifications et adultérations fréquentes de manière ingénieuse et insoupçonnée qui perdurent aujourd'hui, en particulier pour les catégories les moins chères, malgré les tentatives de contrôle de la qualité et leur standardisation. Ces falsifications sont mentionnées la première fois en Europe, au Moyen Âge, lorsque leurs coupables étaient exécutés selon le *code de Safranschou* (Willard, 2001).

Pour protéger l'authenticité du safran, le code de *Safranschou* fut présenté et imposé. Il s'agissait d'un code contenant des normes spécifiques pour le safran mais également des punitions en cas d'adultérations (Melnyk *et al.*, 2010).

Le safran est fraudé par différentes manières les plus fréquentes pour les stigmates sont la substitution par des produits l'évoquant de par leur forme ou leur couleur qui sont en général, repérables à l'œil nu tels que les demi-fleurons de souci (*Calendula officinalis*), les fleurons de carthame (*Carthamus tinctorius*) (Annexe, figure 02), les stigmates du safran printanier (*Crocus vernus*), le plastique, des fibres de grenade. En ce qui concerne les produits ressemblant à la poudre de safran, les piments des jardins et le curcuma nommés « safran des indes » et la brique pilée sont souvent utilisés dans la falsification.

Le safran étant léger, les fraudeurs lui ajoutent des substances afin d'alourdir les stigmates comme l'eau, le sucre, le miel et des substances minérales colorée au préalable. La falsification du safran peut être effectuée par l'ajout d'autres parties de sa fleur, citant les pétales hachés, les étamines, les morceaux de styles jaunes ajoutés (Aucante, 2000). Elle peut aussi consister en la vente de mélanges de safran de catégories différentes (Tarvand, 2005).

5. 2. Contrôle de la qualité du safran

5. 2. 1. Détermination de la qualité du safran et normalisation

Pour s'assurer de la pureté du safran, il est indispensable de procéder aux techniques de contrôle, d'inspection, et d'analyses (Birouk *et al.*, 2011). Aujourd'hui, une série de méthodologies analytiques a été développée pour déterminer non seulement la qualité du safran mais également le type et le niveau d'adultération rencontrés (Melnyk *et al.*, 2010).

Plusieurs pays possèdent leurs propres normes de qualité du safran, dont la France avec les normes NF V32-120-1 et NF V32-120-2, et l'Iran avec la norme ISIRI 259-2 (Lachaud *et al.*, 2012). Afin d'uniformiser au niveau mondial la classification du safran, l'organisation internationale de normalisation a établi diverses catégories standards de safran regroupées sous les normes ISO 3632. Celles-ci sont réactualisées tous les 3 ans (ISO 3632-2, 2010).

Les tableaux I et II (Voir annexe) présentent les critères physiques ainsi que les propriétés chimiques du safran, qui déterminent la qualité de ce dernier. Les safrans de qualité plus supérieure sont classés en catégorie I (ISO 3632-2, 2010).

ISO 3632 propose trois classes I, II et III fixées en fonction de l'intensité de la couleur, du goût et du pouvoir aromatique. Cette classification repose aussi sur son taux d'humidité, sa teneur en cendres (Birouk *et al.*, 2011).

L'analyse complète porte sur la vérification des emballa

ges, les analyses physico-chimiques, et microbiologiques du produit final (Birouk *et al.*, 2011).

Il existe différentes méthodes rapides, sensibles et fiables d'identifications du safran pur et faux, et cela on procédant aux différents examens (tests de solubilité dans différents solvants, test à l'acide sulfurique, chromatographie sur couche mince) (Iqbal *et al.*, 2015).

5.2.2. Inspection et contrôle

L'inspection doit porter sur l'évaluation des différents lieux de travail, des conditions d'exécution de différentes tâches et la vérification du respect des exigences de la norme en matière d'hygiène et de salubrité, de l'emballage, de l'étiquetage et de stockage du produit fini (Birouk *et al.*, 2011).

5.2.3. Repère de qualité du safran

- **Se fier à l'apparence**

Le safran étant trop falsifié il est préférable de l'acheter sous forme de stigmates entières, plus facilement identifiable que sous forme de poudre (Pitsikas *et al.*, 2008).

On reconnaît un bon safran par son apparence : les filaments sont uniformément d'un rouge intense, dépourvus de jaune à leur extrémité. Chaque filament est en forme de trompe. Le stigmate bien sec doit être flexible et cassant si l'on insiste. Il doit être emballé dans un emballage étanche (Talbi *et al.*, 2017).

- **Son prix**

Le prix du safran dans le commerce est souvent indicateur de sa provenance réelle, donc de son origine et de sa qualité (Palomares, 2015). Pour un prix anormalement bas, l'épice aura une provenance douteuse, il faut se méfier d'un safran peu cher (Abdallah berrabah *et al.*, 2017).

5.2.4. Type de safran

Il existe quatre types de safran selon l'opération d'émondage :

- **Safran de type Poshal –Negin Poshal (Iran) ou Mancha (Espagne) :** Coupe faite après l'union des stigmates avec petite partie du style. Il est présenté en pistils, impossible à imiter.
- **Safran de type Sargol (Iran) ou Coupe (Espagne) :** La coupe se fait avant l'union des stigmates et n'inclut pas de style. Appelé aussi « All Red ». Malheureusement facile à imiter et falsifier.

- **Safran de type Dasteh (Iran) ou Rio (Espagne) :** Tout le pistil de la fleur, stigmates et style, proposé en petits bouquets.
- **Safran de type Sierra (Espagne) :** On garde le style et une petite partie des stigmates. Les caractéristiques sont bien moindres, couleur dominante jaunâtre (Negbi, 1999).

Les variétés espagnoles présentent généralement une couleur, un arôme et un parfum plus doux. Les variétés italiennes sont plus puissantes, alors que les variétés les plus intenses sont originaires d'Iran ou d'Inde (Negbi, 1999). Les différents types du safran sont indiqués dans la [figure 5](#).

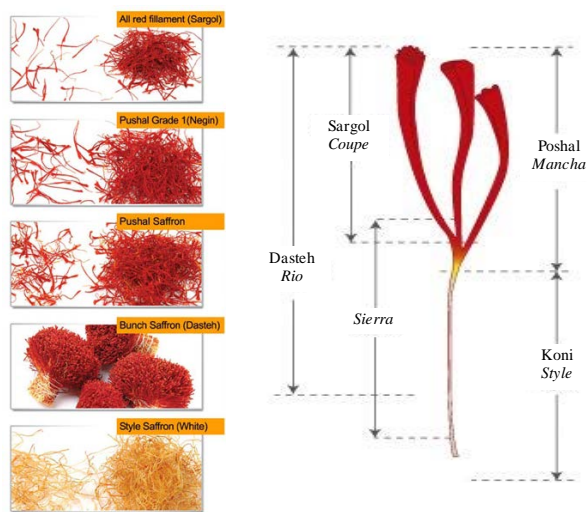


Figure 5. Types du safran (Anonyme, 2019).

II. Substances à activité antioxydante du safran

Les métabolites secondaires, également appelés phytochimiques, sont des substances produites par les plantes (Kumar *et al.*, 2014) et constituent une classe extrêmement large de substances naturelles qui interviennent de façon déterminante dans l'adaptation des plantes à leur environnement. Leurs applications concernent des domaines pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires (Croteau *et al.*, 2000). Cette classe renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités biologique (Simgil, 1997). Parmi ces composés se trouve les antioxydants, qui sont des molécules qui diminuent ou empêchent l'oxydation d'autres substances chimiques. L'effet des antioxydants provient de deux mécanismes : la neutralisation des radicaux libres ce qui empêche les réactions en chaîne initialisées par ces derniers, la destruction des hydroperoxydes, diminuant ainsi la vitesse de formation de radicaux libres (Ribeiro *et al.*, 2001).

Les métabolites secondaires dérivées biosynthétiquement des métabolites primaires et sont classée principalement en trois grands groupes: les terpénoïdes, les alcaloïdes et les polyphénols (Kabera *et al.*, 2014).

1. Composés phénoliques

L'expression « composés phénoliques » est utilisée pour toutes substances chimiques possédant dans sa structure un noyau aromatique, portant un ou plusieurs groupements hydroxyles (Skoula *et al.*, 1996). Ce sont des dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque, présents sous forme d'esters de glycosides (Sandhar *et al.*, 2011). Selon les études, les polyphénols sont des supports majeurs de l'activité antioxydante (Bathaie *et al.*, 2013). Les plus représentants sont les flavonoïdes (Nathalie *et al.*, 2006).

- **Flavonoïdes**

Les flavonoïdes est le groupe le plus représentatif des composés phénoliques. Ces molécules ont des structures chimiques variées et des caractéristiques propres (Mahmoudi, 1982). Elles sont considérées comme des pigments quasi universels des végétaux (Singil, 1997), qui colorent la plupart des fleurs, des fruits et des graines (Falcone Ferreyra *et al.*, 2012). Ils ont tous le même squelette de base à quinze atomes de carbones qui sont arrangés à une configuration C₆-C₃-C₆ de type phényl-2-benzopyrane (Skoula *et al.*, 1996).

Les flavonoïdes sont des composés ayant une activité antioxydante prononcée, qui est exprimée par : Le piégeage direct des ERO, la suppression de la formation des ERO par l'inhibition de quelques enzymes oxydantes ou par chélation des ions métalliques, impliqués dans leur production, la protection des systèmes de défense antioxydants de l'organisme (Simonpoli, 1993). Les flavonoïdes sont susceptibles de réagir avec la plupart des ERO (Millam *et al.*, 2005).

2. Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments naturels jaunes et oranges issus des plantes. Ce sont des composés polyisoprénoïdes et leur caractéristique structurale est de posséder des doubles liaisons conjuguées qui vont avoir une influence sur leurs propriétés physiques, chimiques (Palomares, 2015).

Des caroténoïdes lipophiles mais également hydrophiles ont été identifiés dans le safran (Alonso *et al.*, 2001). Les caroténoïdes lipophiles tels que les lycopène, les α et β -carotènes et la zéaxanthine ont été signalés à l'état de traces (Sampathu *et al.*, 1984). Les principaux caroténoïdes retrouvés dans le safran tels la crocétine et la crocine sont en fait issus du métabolisme de la zéaxanthine (Voir figure 6) (Palomares, 2015).

3. Principaux composés biologiquement actifs du safran

Diverses études analytiques ont été menées pour caractériser le grand nombre de composés biologiquement actifs présents dans le safran (Hu *et al.*, 2008). Les quatre principaux composés bioactifs du safran sont la crocétine, la crocine, la picrocrocine et le safranal (Liakopoulou *et al.*, 2002), tous contribuant non seulement au profil sensoriel du safran : couleur, goût et arôme, respectivement, mais aussi aux propriétés favorables à la santé (Gregory *et al.*, 2005) qui seront examinées dans la partie application du safran.

3.1. Crocétine

La crocétine est un polyène de diacide carboxylique conjugué hydrophobe, et donc liposoluble (Tsimidou *et al.*, 1993). Deux voies ont été considérées pour la biosynthèse de la crocétine : la dégradation oxydative de la zéaxanthine, et la dimérisation de deux composés en C₁₀, des géranylpyrophosphates, suivie de réactions de déshydrogénation et d'oxydation (Pfander *et al.*, 1982). Selon Rödel, le clivage des doubles liaisons adjacentes aux cycles de la zéaxanthine entraîne la formation d'une molécule de crocétine et de deux molécules de picrocrocine (Rodel *et al.*, 1991). Cette hypothèse a été confirmée par une étude antérieure menée par Bucheker (Buchecker *et al.*, 1973), selon laquelle la stéréochimie du carbone portant la fonction hydroxyle de la picrocrocine est la même que celle de la zéaxanthine (Winterhalter *et al.*, 2000).

3.2. Crocine

Les crocines sont des apo-caroténoïdes hydrophiles qui sont soit des esters polyènes monoglycosylés ou diglycosylés de la crocétine (Abdullaev, 2002) et constituent environ 6 à 16% de la matière sèche totale du safran, en fonction de la variété, des conditions de croissance et des méthodes de traitement (Gregory *et al.*, 2005). La synthèse de la crocine provient de l'action d'une enzyme, la glucosyltransférase, sur la fonction carboxylique de la crocétine et un groupement hydroxyle du sucre pour former la liaison ester (Rubio Moraga *et al.*, 2004), son activité est optimale à 40°C (Bergoin, 2005).

En plus d'être un excellent colorant, la crocine agit également en tant qu'antioxydant en neutralisant les radicaux libres, en protégeant les cellules et les tissus contre l'oxydation (Soeda *et al.*, 2007).

La crocine est un digentiobioside ayant une solubilité élevée due à ses fractions de glucidiques (Assimopoulou *et al.*, 2005). Ce composé comprend quatre types dont la crocine 1 ou α -crocine est la plus abondante et son activité antioxydante a été étudiée de manière approfondie (Licon *et al.*, 2012). Les crocines sont naturellement présentes sous forme *trans* qui est l'isomère le plus stable, mais un léger chauffage entraîne son isomérisation vers la conformation *cis*, moins coloré (Tarantilis *et al.*, 1995).

3.3. Picrocrocine

La picrocrocine est le second composé le plus important en masse, représentant 1 à 13 % des matières sèches du safran (Jalali-Heravi *et al.*, 2009). Il s'agit en fait d'un monoterpène glycosylé, issu de la dégradation d'un caroténoïde zéaxanthine et précurseur d'un autre composé chimique important: le safranal (Melnyk *et al.*, 2010).

En plus de sa responsabilité du goût amer du safran (Abdullaev, 1993), elle possède aussi des propriétés antioxydantes, insecticides et pesticides (Deo, 2003).

3.4. Safranal

Le safran contient 0,4 à 1,3 % d'huile essentielle. Le safranal, un aldéhyde aromatique, a été rapporté comme le principal composant biologiquement actif. En effet, il représente 82,82 % des composants volatils (Hu *et al.*, 2008), il est donc le composé majoritaire de la fraction volatile du safran (Zarghami *et al.*, 1971b), et développé lors du procédé de torréfaction.

Le safranal n'étant peu ou pas présent dans les stigmates frais, sa concentration dépend des conditions de séchage et de conservation du safran, éléments déterminants de sa qualité (Kuhn, 1994). Il est produit en grande quantité à partir de son précurseur, la picrocrocine (Maggi *et al.*, 2011) donc selon Rödel (Rödel *et al.*, 1991), sa formation s'accompagne d'une baisse du taux de cette dernière, par sa déglycosylation, via une activité enzymatique, la réaction donnant lieu à du D-glucose et du safranal (Maggi *et al.*, 2009).

Outre sa note aromatique épicée typique, le safranal a également un potentiel antioxydant élevé (Kanakis *et al.*, 2007), ainsi qu'une cytotoxicité vis-à-vis de certaines cellules cancéreuses *in vitro* (Escribano *et al.*, 1996).

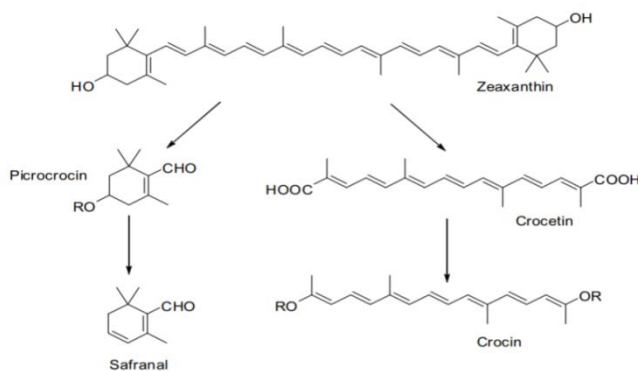


Figure 6. Biosynthèse de la crocétine, la crocine, la picrocrocine et du safranal à partir du clivage oxydatif de la zéaxanthine (Premkumar et Ramesh, 2010).

III. Méthodes d'extractions des composés bioactifs à partir des plantes

Tout procédé d'extraction est basé sur la différence de solubilité des substances d'un mélange dans un solvant. Les produits ainsi obtenus sont relativement impures sous forme de liquides, semi-solides ou poudres exclusivement destinés à un usage oral ou externe (Handa, 2008).

Il existe plusieurs techniques d'extraction de ces produits de haute valeur ajoutée présents dans les plantes. Ces techniques peuvent être dites classiques et alternatives (Luque *et al.*, 1998).

1. Les méthodes classiques

Les techniques classiques sont basées sur le choix du solvant couplé à la température et/ou à l'agitation, et permettent d'extraire des principes actifs. Parmi ces techniques citant Soxhlet (Toth *et al.*, 2003), l'hydrodistillation (Carnat *et al.*, 1998), et la macération avec un mélange alcool-eau ou une graisse chaude (Herodez *et al.*, 2003).

• Macération

La macération est la méthode d'extraction solide-liquide la plus simple. Elle consiste en la mise en contact du matériel végétal avec le solvant avec ou sans agitation, à température ambiante ou à température élevée pour une durée déterminée. La macération commence avec le choix d'un solvant d'extraction adéquat. Après une étape de diffusion du solvant à l'intérieur des cellules végétales le processus continue avec la solubilisation de composés bioactifs qui vont migrer de la matrice végétale vers le solvant environnant jusqu'à ce que l'équilibre de partage de concentration soit atteint (Handa, 2008).

2. Les méthodes alternatives

Une demande croissante de nouvelles techniques d'extraction par rapport aux techniques conventionnelles permettant de réduire à la fois, le temps d'opération, la consommation de solvant et la quantité d'effluents. Dans la catégorie « techniques nouvelles » on peut citer l'extraction assistée par sonication (Caniova et Brandsteterova, 2001), l'extraction assistée par micro-ondes (Sterbova *et al.*, 2004), l'extraction par fluide supercritique (Grigonis *et al.*, 2005), et l'extraction accélérée par solvant (Ziakova *et al.*, 2003). Ces techniques peuvent fonctionner à haute température et/ou haute pression améliorant nettement le but de palier la cinétique d'extraction (Wang *et al.*, 2006).

2.1. Extraction assistée aux ultrasons

L'extraction par ultrasons est une méthode simple, efficace et peu coûteuse. Elle permet de travailler à des températures relativement basses et d'éviter la thermodestruction des composés. Elle peut être utilisée aussi bien sur les petites et grandes échelles (Dai et Mumper 2010)

Elle permet d'utiliser une large gamme de solvant afin d'obtenir différents composés naturels. Cependant, l'effet de l'extraction par ultrasons sur le rendement et la cinétique d'extraction est lié à la nature de la matrice végétale (Kiriamiti, 2003). Cette méthode ne permet pas de renouveler le solvant pendant le processus. L'étape limitante est la filtration et le rinçage après l'extraction (Danielski *et al.*, 2006).

L'ultrason fait référence aux ondes sonores qui génèrent des vibrations mécaniques dans un solide, un liquide ou un gaz. À la différence des ondes électromagnétiques, les ondes sonores peuvent se propager dans une matière et elles impliquent des cycles d'expansion et de compression lors de la propagation dans le milieu. L'expansion peut créer des bulles qui se forment, se développent et s'effondrent dans un liquide. Près d'une surface solide, l'effondrement de cavité est asymétrique et produit un jet de liquide à grande vitesse (Benamor, 2008). Ce phénomène est appelé la cavitation acoustique (Baig *et al.*, 2010). Il est illustré dans (Annexe, figure 03).

2.2. L'extraction assistée par micro-ondes

L'extraction assistée par microondes est un processus par lequel l'énergie microonde accélère l'extraction. Ce traitement accélère la rupture des cellules en provoquant une augmentation rapide de la température et de la pression interne dans les parois des cellules végétales (Jawad *et al.*, 2012).

Au cours du traitement par microonde, le chauffage provoque la rupture des liaisons hydrogène faibles par la rotation dipolaire des molécules. Une quantité considérable de pression s'accumule à l'intérieur du biomatériau, qui modifie les propriétés physiques des tissus biologiques et améliore la porosité de la matrice biologique. Ceci permet une meilleure pénétration du solvant d'extraction à travers la matrice (Yeoh *et al.*, 2008), et facilite l'extraction des composés (Mandal *et al.*, 2007). Le principe de cette procédure est illustré dans (Annexe, figure 04).

Elle utilise de plus petites quantités de solvant, n'est pas coûteuse. Cependant, la température opératoire de cette technique est relativement haute (100 – 150 °C), ce qui pose des problèmes quand il s'agit de l'extraction d'antioxydants.

Les autres inconvénients de cette technique sont le besoin de l'étape postérieure de filtration ou de centrifugation pour éliminer le résidu solide de l'extrait (Wang *et al.*, 2006).

IV. Application du safran

Avec son goût amer, son parfum de foin, et ses notes légèrement métalliques, le safran a été utilisé comme assaisonnement, parfum, teinture et médicament (Verma *et al.*, 1998).

1. Application alimentaire

Le safran est utilisé comme épice, réputé pour ses propriétés colorante et aromatique, digestives et apéritives et possède d'autres propriétés : c'est un antioxydant, exhausteur, harmonisant dynamisant, ce qui lui donne une polyvalence très étendue, couvrant tout le spectre de l'alimentation humaine, ainsi que des effets culinaires très variés (Lachaud, 2016).

Les stigmates présentent une teinture jaune soluble dans l'eau, à très fort pouvoir colorant (Cardon, 2003), ce qui est due à la très grande solubilité de la crocine du safran dans l'eau (Orfanou *et al.*, 1996). Ainsi les deux agents actifs du safran, le safranal et la crocine possèdent une forte activité antioxydante. Ces propriétés donnent au safran un avenir dans la l'industrie agro-alimentaire (Assimopoulou *et al.*, 2005).

Le safran, grâce à sa composition riche en pigments apo-caroténoïdes (Chryssanthi *et al.*, 2011), a été employé de longue date afin de colorer le beurre, les pâtes, les fromages et les oléo margarines (Tsimidou *et al.*, 1993). On peut le trouver dans des mets salés ou sucrés, et dans de nombreux plats tels que: la paella, le poisson, la boisson (Espagne) les gâteaux et pâtisseries (Suisse et Suède), le risotto, la confiserie (Italie) (Hill, 2004), le tajine, incluant les keftas ou la mrouzia (Maroc) (Favre, 2008), le chelow kabab (Iran), les bonbons à base de lait (Inde) (Mc Gee, 2004).

L'usage et la maîtrise de cette épice est parfois complexe et difficile (Lachaud, 2016). Plusieurs études ont été menées sur la stabilité du safran en solution aqueuse (Orfanou *et al.*, 1996). Le safran ne révèle jamais ses saveurs instantanément, il est recommandé de le faire infuser à chaud ou à froid dans n'importe quel liquide comme par exemple l'eau, le lait, l'alcool, le thé, la crème fraîche, ou une sauce chaude...etc, pour une meilleure répartition des couleurs et des saveurs. Les corps gras (beurre, crème) auront l'avantage de fixer et d'amplifier les arômes. L'idéal est de démarrer l'infusion la veille ; cependant, si la dilution se fait à chaud, une heure d'infusion suffit, sachant qu'au moment de la consommation d'un plat safrané, les saveurs continuent à se modifier (Aucante, 2000).

Une chaleur trop intense risquerait de dénaturer les molécules aromatiques du safran et de ne laisser que très peu les colorants (Chahine, 2014). L'usage de la cuillère en bois est à proscrire car elle peut absorber l'épice (Casamayou, 2011).

La dose de safran à apporter dans une préparation culinaire est délicate et importante à évaluer ; un surdosage procure un goût amer désagréable, proche de l'iodoforme (Teusher *et al.*, 2005). La dose universelle de référence est de 0,1 g pour quatre assiettes soit environ quarante cinq filaments (Aucante, 2000).

2. Application thérapeutique

Depuis plus de 3 000 ans, le safran est considéré comme une panacée, selon les médecines mongoles, chinoises, égyptiennes, grecques et arabes (Lazérat, 2009).

Les constituants du safran (crocine, picrocrocine et safranal) présentent diverses propriétés pharmacologiques et thérapeutiques bénéfiques, ils agissent comme des antioxydants, anticancéreux, anticonvulsivants, antidote, antitussifs, antidépresseurs, hypnotiques, hypolipidémiques, effets anti-inflammatoires, carminatif, emménagogue et un tonifiant pour la dysenterie et la rougeole (Rahimi, 2015), C'est un remède connu pour être antiseptique, antalgique (Lazérat, 2009), euphorisant.. Pour les anciens Persans et Égyptiens, le safran était aussi un aphrodisiaque (Shamsa *et al.*, 2009).

Le safran est utilisé pour traiter un large éventail de maux, aussi divers que : la variole, la peste bubonique ou encore les indigestions (Verma *et al.*, 1998, Chryssanthi *et al.*, 2011), les troubles du système nerveux central (Liakopoulou-Kyriakides *et al.*, 2002), la rétinopathie, les infections respiratoires, le rhume, la scarlatine, l'hypoxie, les affections sanguines, l'insomnie, les maladies cardiaques, les maux d'estomac, l'aménorrhée et divers désordres oculaires (Fernandez-Sanchez *et al.*, 2012) :

2.1. Anti-cancer et activité anti-tumorale

Les extraits de safran ont un effet anti-tumoral *in vivo* et *in vitro*, contre plusieurs types de cancer dont: le cancer colorectal, le cancer hépatocellulaire et le cancer de la prostate. Dans les extraits de safran, les caroténoïdes sont les principes actifs. Les mécanismes anticancéreux du safran ne sont pas encore bien élucidés mais plusieurs activités ont été proposés dont: la promotion de l'apoptose, la réduction de la prolifération et de la synthèse d'ADN des cellules tumorales, la diminution de l'inflammation, la réduction du stress oxydatif et l'augmentation des enzymes anti-oxydantes. La crocine, dispose d'un effet inhibiteur puissant sur la formation des colonies cellulaires tumorales. Il

a été démontré que le traitement par l'extrait de *Crocus sativus* prolonge significativement, jusqu'à presque trois fois, la durée de vie des souris traitées par la cisplatine (Chahine, 2014).

2.2. Activité antitussive

L'extrait éthanolique de *Crocus sativus* a permis de réduire le nombre de toux chez les cobayes lorsqu'ils sont injectés intrapéritonéalement lorsqu'une solution d'acide citrique (20%) a été utilisée pour induire la toux (Bhargava, 2011).

2.3. Activité anti-convulsivante

Les activités anti-convulsivantes des constituants des stigmates de *Crocus sativus*, safranal et crocine, ont été évaluées chez des souris utilisant des convulsions induites par le pentylène-tétrazole chez la souris. Le Safranal (0,15 et 0,35 ml / kg de poids corporel) a réduit la durée de la crise, a retardé l'apparition des convulsions toniques et a protégé de la mort les souris. Crocine (22 mg / kg) n'a pas montré d'activité anti-convulsivante (Rahimi, 2015).

2.4. Stress oxydatif

Les propriétés anti-oxydantes du safran se manifestent par son effet inhibiteur sur les réactions en chaîne des radicaux libres. Le safran étant riche en vitamine B2 et provitamine A, il représente un des meilleurs antioxydants naturels pour lutter contre le vieillissement des cellules. En effet, les caroténoïdes agissent comme une protection active contre les espèces radicalaires. Ainsi, il a été montré que le safran protège les cellules cardiaques en augmentant la défense anti-oxydante dans le cas d'endommagements dus à l'ischémie-reperfusion et dans le cas des maladies cardiovasculaires (Chahine, 2014).

2.5. Effets anti-nociceptifs et anti-inflammatoires

Les stigmates du safran et les extraits de pétales ont présenté des effets antinociceptifs dans le test de la douleur chimiquement induite ainsi que l'activité anti-inflammatoire aiguë et / ou chronique, et ces effets peuvent être dus à la présence de flavonoïdes, de tanins, d'anthocyanines, d'alcaloïdes et de saponines (Srivastava *et al.*, 2010).

2.6. Pression sanguine

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

2.7. Effets sur le flux sanguin oculaire et la fonction rétinienne

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

2.8. Effet sur le comportement d'apprentissage et la potentialisation à long terme

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

2.9. Anti Alzheimer

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

Il n'est pas rare de consommer les stigmates de *Crocus sativus* en tisane. La concentration usuelle est comprise entre 0,5 g à 1 g par litre d'eau et l'infusion opère en une quinzaine de minutes (Favre, 2008), cependant il n'existe pas de spécialités médicamenteuses contenant des extraits de safran mais uniquement des compléments alimentaires (Palomares, 2015).

3. Autres usages

3.1. Teintures et peintures

Le safran est utilisé dans la peinture (Vickackaite *et al.*, 2004); les textiles (la soie, les laines (Tsatsaroni *et al.*, 1998) et d'autres objets, la plupart d'entre eux porteurs d'une signification religieuse (les habits des moines (Mehta *et al.*, 2002) ou hiérarchique (teinture des vêtements des classes nobles (Major, 1892) et joue encore un rôle important pour teindre certains tapis d'Orient (Teusher *et al.*, 2005) (Annexe, figure 05).

3.2. Calligraphie

Le safran était mélangé à de l'encre afin d'obtenir de l'encre rouge ou jaune. Celui-ci rehaussait les textes religieux tels que le Coran et les Evangiles (Lazérat, 2009).

3.3. Histologie

Le safran est employé dans certaines colorations cytologiques de routine. Il colore en jaune orangé les fibres de collagène grâce à ses pigments lipophiles (Teusher *et al.*, 2005).

3.4. Cosmétologie

Le safran est utilisé pour ses vertus anti-oxydantes afin de garder une peau douce et jeune. Dans une autre catégorie, les femmes hindoues avaient usage du safran pour réaliser le bindi, le point jaune porté sur le front (Lazérat, 2009).

3.5. Parfumerie

L'utilisation du safran en parfumerie n'est pas récente (Arvy *et al.*, 2003). Aujourd'hui, on retrouve son utilisation dans la composition de différents parfums féminins et masculins, au potentiel original et dépaysant (Palomares, 2015).

4. Toxicité

Le safran ne s'écarte pas de la règle édictée par Paracelse, médecin du XVI^e siècle, « Tout est poison, rien n'est poison, seule la dose fait le poison », mais il faudra en absorber une grande quantité (20g/kg de poids) pour voir ses effets s'inverser et ainsi devenir toxique. Vu le prix de l'épice, l'intoxication est peu probable, d'autant que la quantité utilisée dans la consommation alimentaire quotidienne ainsi que la dose requise pour obtenir les bénéfices sur la santé sont largement inférieures à la dose provoquant des effets secondaires (Casamayou, 2011) tels que, les hémorragies utérines provoquant l'avortement, des hématuries, la peau et les muqueuses peuvent se colorer en jaune et imiter ainsi un ictère (Asdaq *et al.*, 2010).

I. Matériel et méthodes

1. Matière végétale

La matière végétale utilisée dans cette étude est les stigmates de *Crocus Sativus* qui est procurée de la ferme expérimentale de recherche de la commune d'IbenBadis (anciennement El Haria) distante de 40 km du chef-lieu de la wilaya de Constantine. Les fleurs de la plante sont récoltées en mois d'octobre de l'année 2018 et les stigmates sont séchés durant une dizaine de jours pour avoir du safran sec. 15 grammes de ce dernier sont transportés au laboratoire de Biochimie Alimentaire (Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Bejaia) dans un récipient en inox fermé hermétiquement (Annexe, Figure 06).

Comme le safran est l'épice la plus falsifiée, un examen fiable et rapide est fait afin d'authentifier l'échantillon utilisé dans cette étude ainsi que trois autres échantillons achetés dans différentes épicerie et herboristes de différentes provenances (Tunisie, Inde et Pakistan). Ce test est fait par la mise en contact des stigmates du safran avec acide sulfurique concentré et se manifeste s'il s'agissait de la vraie épice par la diffusion des pigments, la crocine et crocétine, ainsi que la picrocrocine qui cause l'apparition immédiate d'une couleur bleuâtre qui vire rapidement au violet puis au rouge (Iqbal *et al.*, 2015). Les résultats de ce test d'identification sont présentés dans (Annexe, figure 07).

Les stigmates du safran sont broyés à l'aide d'un mortier et un pilon puis passés à travers un tamis de 0,25 mm, comme c'est montré dans la figure 7. La poudre obtenue est stockée dans un flacon et conservée au congélateur jusqu'à utilisation.



Figure 7.Échantillon du safran (à gauche), broyage (au milieu) et tamisage (à droite).

2. Étude de l'effet de la méthode et du temps d'extraction sur les teneurs des trois composés principaux du safran

Pour l'étude de la cinétique d'extraction des trois composés caractéristiques du safran (Picrocrocine, Safranal, Crocine) trois méthodes sont utilisées, une méthode conventionnelle (la macération 'EM') et deux méthodes nouvelles (ultrasons 'EAU' et microondes 'EAM').

La procédure d'extraction suivie pour les trois méthodes est celle d'ISO 3632 :2003 avec quelques modifications, qui consiste en l'extraction à partir de 20 mg de la poudre du safran par un volume de 100 ml d'éthanol 70%. Les durées d'extraction choisies sont 0, 0.5 1.5, 3, 05, 10, 15 et 20 min. Après l'étape d'extraction par chaque méthode, l'extrait récupéré est centrifugé à 5000rpm/5min (Centrifugeuse de marque nūve NF 200). Les trois composés du safran sont détectés par la mesure de leurs absorbances grâce à un spectrophotomètre UV-Vis aux longueurs d'onde maximales (λ_{max}) suivantes 257, 325 et 438 nm pour la picrocrocine, le safranal et la crocine, respectivement. Les résultats sont exprimés par l'intensité d'absorbance $E_{\lambda_{max}}^{1\%}$ suivant la formule :

$$E_{\lambda_{max}}^1 = \frac{A_{\lambda_{max}} \times 10000}{m(100 - H)}$$

Où A est l'absorbance à λ_{max} , m est la masse de l'échantillon du safran (g), H est la fraction massique de l'humidité et de teneur en matières volatiles de l'échantillon, qui est de 8 %. 10000 est le facteur de dilution.

2.1. Extraction par macération

La macération est faite sans agitation et avec une agitation en appliquant des vitesses variables 200, 600 et 1000 rpm en utilisant une plaque d'agitation magnétique (VELP SCIENTIFICA), (Voir figure 8).

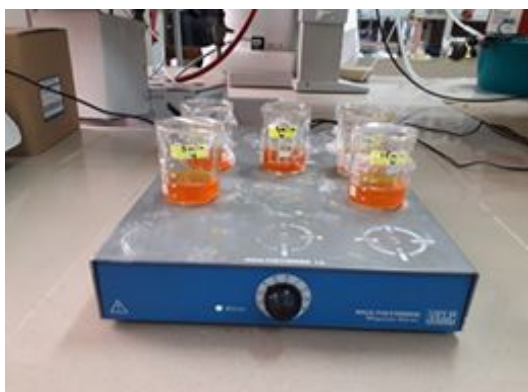


Figure 8.Extraction par agitation magnétique.

2.2. Extraction assistée par ultrason

Les composés actifs de safran ont été extraits en utilisant un sonicateur équipé d'une sonde de marque (SONICS Vibra cell). L'appareil est caractérisé par une puissance maximale de 150W à une fréquence constante de 20 kHz. L'extraction est faite en utilisant différentes amplitudes 20, 60 et 100%. Comme l'extraction par sonication s'accompagne par le dégagement de la chaleur, le récipient d'extraction est mis dans un bain d'eau glaciale, (Voir Figure 9).



Figure 9.Extraction assistée par ultrasons.

2.3. Extraction assistée par micro-ondes

L'extraction a été réalisée à l'aide d'un micro-onde domestique (Maxipower), modifié par ajout d'un réfrigérant. Les puissances d'extraction sont 100, 300 et 500W (Voir Figure 10).



Figure 10.Extraction assistée par micro-ondes.

3. Détermination de la teneur en composés phénoliques et l'évaluation de l'activité antioxydante du safran

La détermination de la teneur en composés phénoliques et l'évaluation de l'activité antioxydante du safran sont réalisés sur trois extraits issus des mêmes conditions optimales d'extraction obtenues dans la partie de la cinétique par les trois méthodes. Ces extraits sont préparés à partir de 10 mg de la poudre du safran qui sont mélangés avec 20 ml de solvant d'extraction (éthanol 70%). La durée d'extraction est de 20 min en utilisant une agitation magnétique à la vitesse 600 rpm, l'amplitude de 100% pour l'ultrason et 500W pour le micro-onde. Les extraits sont récupérés par centrifugation.

3.1. Dosage des composés phénoliques

La teneur en polyphénols des différents extraits a été déterminée par la méthode décrite par Nickavaret *al.*, (2008). 200µl de chaque extrait sont additionnés de 750µl du réactif de folin-ciocalteu (dilué à 1/10). Après trois minutes, 500µl de Na₂CO₃ (7.5%) sont ajoutés. Après incubation à température ambiante à l'obscurité pendant 1 heure, l'absorbance est mesurée à 760 nm. La quantité des polyphénols correspondante à chaque extrait est rapportée en mg équivalent d'acide gallique (EAG)/g du poids sec et déterminée par une courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique (Annexe, figure 08).

3.2. Évaluation de l'activité antioxydante

Afin d'étudier l'activité antiradicalaire des extraits, la méthode au DPPH (2,2 Diphényl-1-Pyridyl-Hydrazyl) est utilisée (Milardovićet *al.*, 2006). Un volume de 600 µl d'extrait est ajouté à 1ml de la solution méthanolique de DPPH. Le mélange réactionnel est agité vigoureusement et laissé à l'obscurité pendant 30 min à température ambiante. Les absorbances sont mesurées à 515 nm par un spectrophotomètre UV-Vis. Les résultats sont exprimés en pourcentages d'inhibition du DPPH (PI) selon la formule suivante:

$$PI = ((Abs_{contrôle} - Abs_{extrait}) / Abs_{contrôle}) \times 100$$

PI : Pourcentage d'inhibition du DPPH ; **Abs contrôle** : Absorbance du contrôle, mélange réactionnel contenant le solvant à la place de l'extrait ; **Abs extrait** : Absorbance du mélange réactionnel en présence de l'extrait.

4. Étude de stabilité de la crocine

Les essais de stabilité ont pour but de fournir des données sur la façon dont la qualité d'un principe actif varie en fonction du temps sous l'effet de divers facteurs: la température, l'humidité et la lumière, permettant ainsi de définir les conditions de conservation et de déterminer la durée de validité des produits (Scodellar, 2013).

4.1. Effet du temps et de la température de conservation

Dans cette partie d'investigation, la cinétique de dégradation de la crocine des extraits aqueux du safran conservés à différentes températures est étudiée. Pour cela, 20 mg de la poudre du safran sont extraits par 100 ml d'eau en utilisant la macération sous agitation magnétique (1000 rpm) durant 20min. L'extrait est récupéré par centrifugation. L'extrait est réparti dans quatre tubes qui sont stockés à diverses températures [(-12 congélation), (+4 réfrigération), (+22 température ambiante) et +35°C (à l'étuve de marque BINDER)] durant des temps variables (0, 1jour, 2jours, 7 jours et 15 jours).

Les résultats du pouvoir colorant sont déterminés par le suivi par la mesure de l'absorbance avec un spectrophotomètre UV-Vis et elles sont exprimés par l'intensité d'absorbance de la crocine $E_{442}^{1\%}$.

4.2. Effet du temps et du chauffage

Le but de cette expérience est d'étudier la cinétique de dégradation de la crocine dans des extraits aqueux et éthanoliques lorsqu'ils sont soumis à un traitement thermique sévère. À partir des l'extraits préparés (20 mg/100ml d'eau ; 20mg/100ml d'éthanol 70%) avec macération à 1000rpm/20min. Différentes aliquotes sont soumises à des températures élevées (100, 150 et 200°C) afin de reproduire les conditions de cuisson et durant des temps variables (0, 5, 10, 15, 30, 60, 90 minutes). Le pouvoir colorant pour les différents traitements est mesuré à 442nm pour les extraits aqueux, et 438nm pour les extraits éthanoliques. Il est exprimé comme c'est décrit précédemment.

4.3. Effet de l'acidité

Notre objectif est d'examiner l'effet de l'acidité sur la stabilité de la crocine dans des extraits aqueux à basse température (4°C), simulant les conditions de conservation de certains aliments et boissons, dans l'obscurité, en présence d'oxygène afin d'obtenir des informations sur le stockage et les applications. Cette acidité est obtenue par l'utilisation de l'acide citrique, un additif alimentaire dont l'addition à certaines catégories de produits est autorisée par la réglementation à raison de 3 à 5 g/l ([Décret exécutif n° 12-214, 2012](#)).

Des volumes de l'extrait aqueux (20 mg de poudre du safran/100ml d'eau , macération à 1000rpm/20min) sont additionnés d'une solution d'acide citrique à différentes concentrations. Les solutions finales obtenues ont de concentrations de 1, 3, 5, 7, 10, 15,25, 30, 35 et 100 grammes d'acide citrique / litre d'extrait correspondant au pH de 2,56 - 2,32 - 2,21 - 2,13 - 2,05 - 1,96 - 1,85 - 1,81 - 1,78 - 1,55, respectivement. Les préparations sont stockées à 4°C pour des temps de 0, 15 et 21 jours. Le pouvoir colorant est déterminé par la lecture des absorbances par un spectrophotomètre UV-vis à 442 nm et la crocine est exprimée en $E_{\lambda_{max}}^{1\%}$.

5. Analyse statistique

Une analyse descriptive des résultats est réalisée à l'aide du logiciel Microsoft Office Excel 2013, afin de déterminer les moyennes et les écarts types des trois répétitions. Une analyse de la variance (ANOVA, test LSD : Least Significant Difference) est appliquée à l'aide du logiciel STATISTICA 5.5 pour mettre en évidence les différences significatives entre les extraits du safran. Le degré de signification des données est pris à la probabilité $p < 0,05$.

II. Résultats et discussion

1. Effet de la méthode et du temps sur l'extraction des composés principaux du safran

Les différents résultats de la cinétique d'extraction des trois composés principaux du safran selon la méthode d'extraction sont regroupés dans les trois figures 11, 12 et 13. D'après l'analyse statistique de données obtenues, il ressort que la méthode et le temps d'extraction influencent significativement sur l'extraction des trois composants du safran.

La figure 11 montre que l'extraction des composés bioactifs par macération augmente rapidement pour les trois vitesses (200, 600 et 1000 rpm) durant les cinq premières minutes pour la picrocrocine et le safranal et les dix premières minutes concernant la crocine. Au-delà, l'extraction se stabilise. Cependant, l'extraction par macération sans agitation de ces composés augmente tout au long de la période d'extraction. La vitesse d'agitation influence significativement l'extraction. En effet, la meilleure vitesse utilisée lors d'EM est 600 rpm, avec des valeurs de $E_{\lambda_{max}}^{1\%}$ à la stabilité sont de 80,60 ; 38,96 et 201,49 pour la picrocrocine, le safranal et la crocine, respectivement.

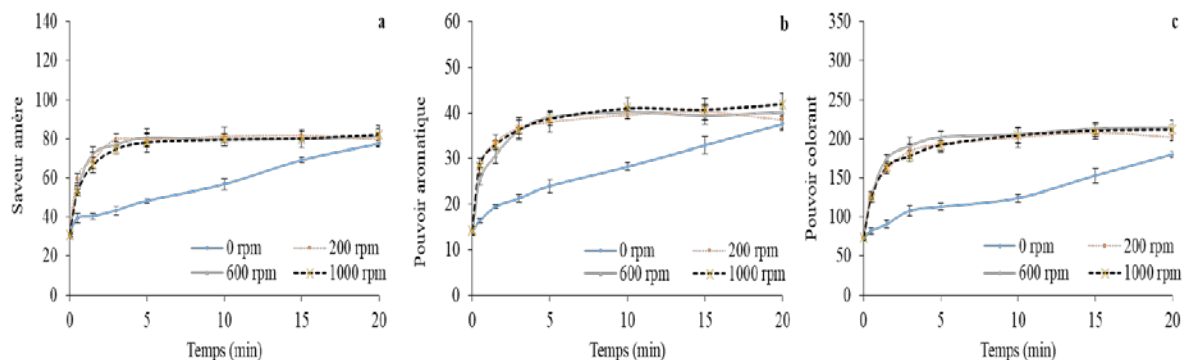


Figure 11. Cinétique d'extraction des trois composés bioactifs du safran par l'EM.

a : Picrocrocine, **b :** Safranal, **c :** Crocine.

L'augmentation de la vitesse d'agitation permet d'accélérer la diffusion des particules de la matrice végétale vers le solvant ce qui explique le faible taux d'extraction par macération sans agitation. Cependant, l'utilisation des grandes vitesses n'est pas rentable pour l'extraction en raison de la dissolution de l'oxygène qui induit l'oxydation des molécules bioactives (Laial, 2013) ce qui explique essentiellement que la meilleure vitesse d'EM est 600 rpm.

Les résultats de la cinétique d'EAU, qui sont illustrés dans la [figure 12](#) montrent que l'extraction des composés recherchés augmente avec le temps d'extraction et finit par se stabiliser pour les trois composés à 5 min en utilisant l'amplitude de 100 et 60% et à 15 min pour 20%. Cette dernière amplitude montre une extraction plus lente que les deux précédentes ce qui lui a nécessité plus de temps pour la stabilité de l'extraction.

L'efficacité d'extraction augmente avec l'augmentation de l'amplitude des ultrasons. Les meilleures valeurs de picrocrocine (114,23), safranal (56,42) et crocine (273,38) sont obtenues avec l'amplitude de 100%. Bien que les amplitudes de 20 et 60% montrent des taux d'extraction similaires, l'amplitude de 60% permet d'atteindre plus rapidement le maximum.

Les résultats obtenus pour l'EAU sont en accord avec ceux rapportés par [Kadkhodaeet al.\(2006\)](#), qui ont montré que l'augmentation de l'amplitude de sonication améliore le taux d'extraction et réduit fortement le temps de traitement. Ils ont également constaté que le mode de sonication influe sur les teneurs en composés actifs de safran, l'utilisation des ultrasons pulsés avec des intervalles courts d'impulsion est plus efficace que la sonication continue.

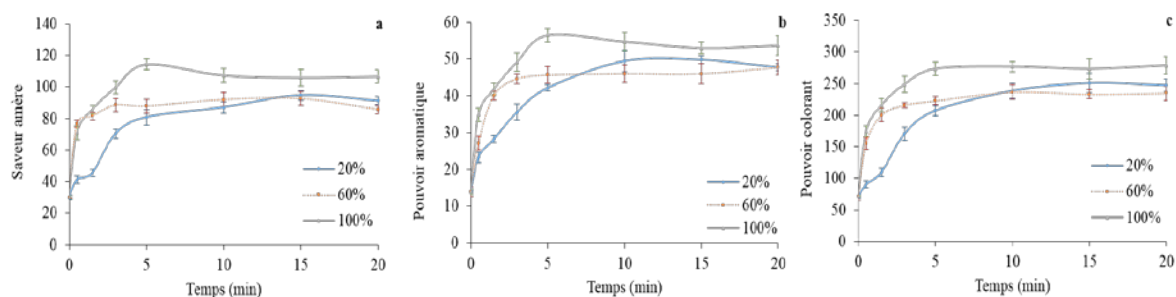


Figure 12. Cinétique d'extraction des trois composés bioactifs du safran par l'EAU.

a : Picrocrocine, **b :** Safranal, **c :** Crocine.

La cinétique d'extraction des trois composés bioactifs que montre la [figure 13](#), indique que les teneurs augmentent avec le temps et avec la puissance des micro-ondes en atteignant l'équilibre au bout de 5 min avec les puissances 300 et 500W et de 10 min avec 100W. Cette dernière donne des faibles valeurs en ces composés durant toute la période d'extraction. L'EAM à 500W offre les meilleurs rendements en picrocrocine, safranal et crocine avec des valeurs respectives de 98,91 - 49,45 et 271,64.

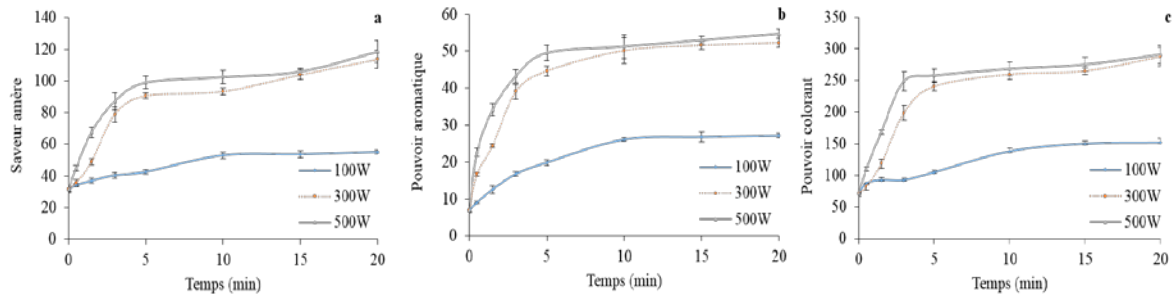


Figure 13. Cinétique d'extraction des trois composés bioactifs du safran par l'EAM.

a : Picrocrocine, **b :** Safranale, **c :** Crocine.

D'après l'analyse statistique, l'équilibre (les plateaux des courbes) est approximativement le même pour les trois méthodes, il est atteint après 5 à 10 min d'extraction, ce qui permet de déterminer le temps de contact nécessaire à l'extraction des trois composants du safran. Cela s'explique par l'existence d'un gradient de concentration des solutés entre la matrice et le solvant d'extraction qui diminue au cours de l'extraction jusqu'à atteindre l'équilibre. En outre, les constituants situés à la surface et dans les couches superficielles des particules sont plus facilement accessibles au solvant que ceux dans les régions plus profondes qui diffusent lentement ce qui ralentit donc l'extraction.

L'analyse statistique montre que les teneurs en composés principaux du safran sont affectées par la méthode d'extraction. Les meilleurs résultats sont obtenus par l'EAU suivie par l'EAM et enfin par l'EM.

L'EAU a permis de travailler à des températures relativement basses ce qui évite la thermodestruction des composés. Le rendement accru en ces trois composés par cette méthode est relié aux ondes acoustiques qui en plus de l'augmentation de l'agitation du milieu, les particules et les cellules de la matrice végétale subissent des fissures et des fragmentations ce qui libère les composés piégés à l'intérieur. L'élévation de l'amplitude engendre l'augmentation de l'effet cavitationnel qui se manifeste par la formation et l'implosion rapide est vigoureuse des bulles de cavitations (Penchev, 2010). La température opératoire de notre échantillon issu de l'EAM est relativement haute (75 °C), ce qui a pu causer la destruction des trois composés principaux du safran.

D'après l'étude faite par Penchev (2010) sur les feuilles de la mélisse, la durée d'extraction est généralement reliée à la vitesse d'agitation, l'amplitude de sonication et la puissance des microondes, et aussi à la taille des particules qui doit être minimisée afin

d'obtenir le rendement maximal d'extraction. L'extraction des composés bioactifs du safran réalisée dans cette étude donne des valeurs maximales d'extraction pour une durée de 5-10min en utilisant une poudre de diamètre inférieur à 250nm.

L'étude de [Kadkhodae et Hemmati-Kakhki \(2007\)](#) sur une poudre d'un échantillon du safran iranien de diamètre de 0,5mm a montré que l'extraction des trois composés (picrocrocine, safranal et crocine) augmente de manière linéaire en fonction du temps d'extraction par ultrason et les teneurs ne se stabilisent pas en fin de la durée d'extraction (10min). Cependant l'utilisation dans cette étude de diamètre de 0,25mm a permis d'observer une stabilité des teneurs en ces composés au bout de 5min pour les amplitudes de 60 et 100%. Cela démontre que la réduction du diamètre des particules permet la diminution du temps nécessaire pour l'extraction. Le meilleur résultat observé dans cette étude avec les fines particules est logique en raison de leur plus grande surface spécifique, et donc une plus grande surface de contact avec le solvant. D'autre part la quantité de cellules végétales ouvertes et localisées plus près de la surface est plus élevée, ce qui rend le soluté plus accessible au solvant et diminue la résistance interne et réduit ainsi le temps d'extraction.

Le choix du temps est essentiel pour une extraction optimale. En effet, une période d'extraction longue (24H) a été proposée dans la méthode **ISO 3632-1980**, mais il a été constaté une perte importante de la coloration. La dégradation des pigments du safran semblait être rapide, ce paramètre d'analyse est dû être considérablement raccourci. Les différences significatives des résultats d'analyse des différentes périodes d'extraction peuvent être d'une importance capitale pour la classification commerciale des échantillons de safran. Par la suite, la période d'extraction a été considérablement réduite et spécifiée à 1h sous agitation magnétique dans la méthode **ISO 3632-2-1993**.

Le choix du solvant est un paramètre implorant pour l'extraction des composés bioactifs du safran. Durant les tests préliminaires de cette étude, il a été constaté que les valeurs de la crocine obtenues dans les extraits aqueux et éthanolique 70% sont successivement de 152,17 et 211,44. Ces résultats s'accordent avec ceux rapportés par [Orfanou et Tsimidou \(1996\)](#) qui ont démontré que les solvants alcoolique et hydroalcoolique donnent un taux d'extraction plus élevé par rapport à l'eau. Il est constaté que la fraction alcoolique est importante pour une meilleure extraction de la matière

colorante (crocine) du safran. L'étude comparative de solvants réalisée par [Orfanou et Tsimidou \(1996\)](#) a montré que les meilleures teneurs en crocine sont obtenues avec le méthanol 50% (234,5) suivi par l'éthanol 50% avec une valeur de 224,2 puis l'éthanol 80% (223,8) et enfin par l'eau froide (212,6). Les données indiquent que les crocines de safran ne sont pas librement solubles dans l'eau froide. L'extraction avec l'eau chaude ([Handa, 2008](#)) ou mieux avec des solvants hydroalcoolique doit être considérée comme système d'extraction alternatif dans une future révision de la norme ISO.

D'après cette étude, il pourrait être conclu que l'extraction des composés principaux du safran est influencée considérablement par la méthode d'extraction, son niveau d'énergie (agitation, puissance ou amplitude) et sa durée. En outre, lors de l'extraction des principes actifs du safran, il est nécessaire de prendre en considération d'autres paramètres afin d'atteindre les objectifs souhaités à savoir la granulométrie de la poudre, le ratio solvant/ échantillon, l'étape de la filtration de l'extrait, le type du filtre, les méthodes du séchage et les conditions de stockage ([Straubinger et al., 1998](#) ; [Kadkhodaei et al., 2006](#)).

2. Détermination de la teneur en composés phénoliques et l'évaluation de l'activité antioxydante du safran

Plusieurs recherches ont montré que les épices contenant des composés phénoliques et des flavonoïdes possèdent des activités antioxydantes, de sorte qu'ils sont souvent utilisés comme compléments alimentaires antioxydants ([Martinez-Tome et al., 2001](#) ; [Rahaiee et al., 2012](#)). La propriété antioxydante des stigmates de *Crocus sativus* peut être attribuée à sa teneur en polyphénols, ainsi qu'à ses principes actifs tels que la picrocrocine, le safranal, la crocine et la crocétine ([Karimiet al., 2010](#)).

Les résultats de dosage des polyphénols et d'évaluation de l'activité antioxydante du safran sont montrés dans la [figure 14](#). Les teneurs trouvées confirment la richesse des stigmates de *Crocus sativus* en ces composés. Les concentrations les plus élevées sont obtenues par l'EAU et l'EAM avec 119,16 et 118,91 mg EAG/g PS, respectivement. Cependant l'EM, présente une extraction relativement inférieure aux deux précédentes.

L'analyse statistique des données de l'activité anti-radical DPPH a révélé des différences significatives ($p < 0,05$) entre les trois méthodes d'extraction. L'extrait obtenu par l'EAU révèle une meilleure activité antioxydante avec un pourcentage d'inhibition de

60,37%, suivi de l'extrait issu de l'EAM puis celui de l'EM avec des valeurs respectives de 48,55 et 40,51%.

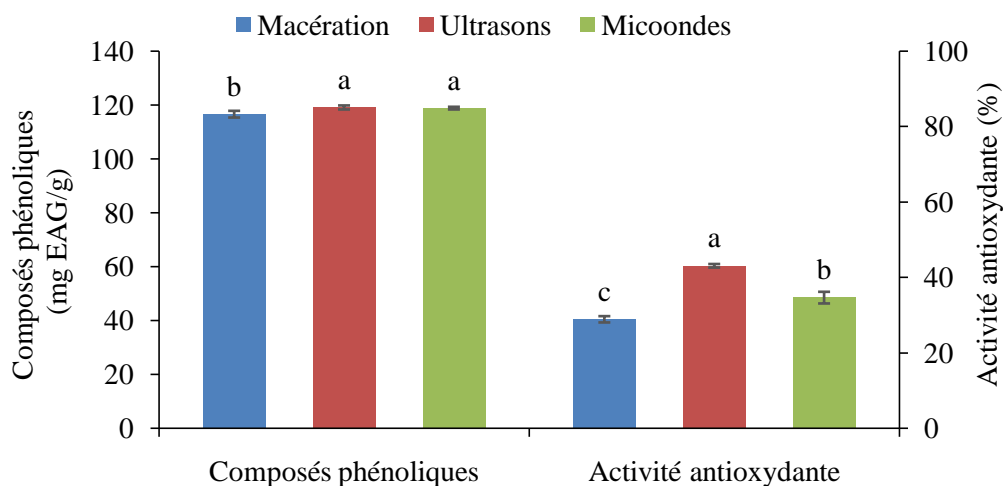


Figure 14. Teneurs en polyphénols totaux et activité antioxydante du safran obtenues par différentes méthodes d'extraction.

Les valeurs de composés phénoliques ou de l'activité antioxydante portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative ; les lettres en minuscules indiquent les différences entre les trois méthodes ($a > b > c$). Les barres verticales représentent les écarts types.

Le dosage des polyphénols totaux dans l'extrait issu de l'EM donne des valeurs nettement plus élevées à ceux obtenus par [Karimiet al. \(2010\)](#), qui ont trouvé que le safran iranien renferme des quantités en polyphénols de 6,54, 6,35, et 5,70 mg EAG/g PS obtenus respectivement à partir des extraits méthanolique, éthanolique et d'eau bouillante. [Ferrara et al. \(2014\)](#) ont obtenu une concentration en polyphénols totaux des extraits hydroalcoliques de *Crocus sativus* issus de l'EAU de 518 mg/100g de poids sec et restent très inférieurs aux teneurs résultantes par notre étude. À cela s'ajoutent ceux signalés par [Gismondiet al. \(2012\)](#) qui ont indiqué que les valeurs en polyphénols totaux dans les extraits méthanolique et aqueux du safran de Civitaretengaen Italie sont successivement de 53,52 et 31,46 mg EAC/g PS. Ainsi que ceux obtenus par [Makhloufet al. \(2011\)](#) lors de leur étude sur le safran du Liban dont la teneur en polyphénols extraits par l'eau issue de l'EM est de 16 mg EAG/g.

En comparant avec d'autres épices courantes, les teneurs en polyphénols totaux de l'extrait aqueux du safran issu de l'EM restent toujours supérieures à celles trouvées par [Gulcinet al. \(2004\)](#), qui ont rapporté que les polyphénols des bourgeons de girofle et de la lavande étaient respectivement de 0,26 mg et 0,22 mg EAG/g PS et celles indiquées

par [Chen et al. \(2008\)](#) pour *Curcuma domestica* et *Curcuma longa* L. (22,9 et 35,6 mg EAG/g PS, respectivement).

L'activité antioxydante de l'extrait issu de l'EM (40,51%) est inférieure aux données de [Karimiet al. \(2010\)](#) qui ont rapporté une activité de piégeage des radicaux libres DPPH des extraits d'eau bouillante de 57,6%. Cela peut s'expliquer par l'effet de la chaleur, qui permet l'extraction d'autres composés ayant une activité antioxydante autre que les polyphénols ce qui augmente le pourcentage d'inhibition des radicaux DPPH. [Assimopoulou et al. \(2005\)](#) ont indiqué que l'activité antioxydante du safran pouvait être attribuée à deux composés bioactifs, la crocine et le safranal, qui manifestent des activités anti-radicales DPPH de 65% et 34%, respectivement à une concentration de 500 ppm. Selon [Papandreou et al. \(2006\)](#) et [Makhlouf et al. \(2011\)](#), l'extrait brut de stigmates de *Crocus sativus* peut être considéré comme une excellente source d'antioxydants, ayant une activité antioxydante plus forte que celle des tomates, des carottes et des raisins.

[Gallo et al. \(2010\)](#) ont trouvé que l'extraction par les deux méthodes EAM (200W/18min à 50°C) et EAU (33kHz/30min) des composés phénoliques du safran donne 39,39 et de 5,00 mg EAG/g PS, respectivement, qui sont des valeurs inférieures aux résultats de cette investigation. Les auteurs ont constaté, contrairement aux résultats de cette étude qui a montré que les deux méthodes EAU et EAM sont similaires, que l'extraction par microonde est plus efficace que les ultrasons. Les auteurs ont expliqué que l'extraction des composés phénoliques par micro-onde à haute puissance cause une dégradation thermique importante de ces composés.

[Bourgou et al. \(2016\)](#) et [Annegowda et al. \(2001\)](#) ont constaté que l'EAU est plus efficace pour l'extraction des polyphénols à partir d'*Euphorbia helioscopia* comparée à l'EAM et l'EM. Cet effet positif des ultrasons peut être expliqué par le processus de cavitation qui provoque le gonflement des cellules par l'absorption de solvant, l'élargissement des pores augmentant ainsi le coefficient de diffusion des polyphénols à travers les parois cellulaires, la destruction de la matière végétale, cela présente l'avantage de réduire considérablement le temps d'extraction et d'augmenter le rendement d'extraction.

Cependant, il est à noter que l'exposition des polyphénols aux ondes ultrasoniques pour de longues périodes et à des amplitudes élevées peut engendrer la formation des

radicaux libres qui sont susceptibles de réagir avec les composés phénoliques réduisant ainsi leurs teneurs (Jerman *et al.*, 2010).

Gallo *et al.* (2010) ont déduit que les pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH par les extraits du safran préparés par l'EAU (15,692%) sont supérieurs à ceux obtenus par l'EAM (19,673%) mais qui restent inférieurs aux résultats de cette étude dont les pourcentages de 60,37 et 48,55% pour les extraits de l'EAU et EAM respectivement.

L'activité antioxydante de notre échantillon issu de l'EAU est également supérieure à celle trouvée par Ferrara *et al.* (2014) qui est de 14,69%.

Cette partie de travail nous a permis de conclure que l'échantillon analysé est riche en polyphénols totaux et possède une excellente activité antioxydante quelque soit la méthode d'extraction utilisée on comparant à la littérature.

3. Étude de stabilité de la crocine

3.1. Effet du temps et de la température de conservation

Cette partie de l'étude rapporte la cinétique globale de détérioration de la couleur de l'extrait de safran stocké à différentes températures suivant son pouvoir de coloration, exprimée en $E_{442}^{1\%}$ et en fonction du temps. Les résultats sont illustrés dans la figure 15.

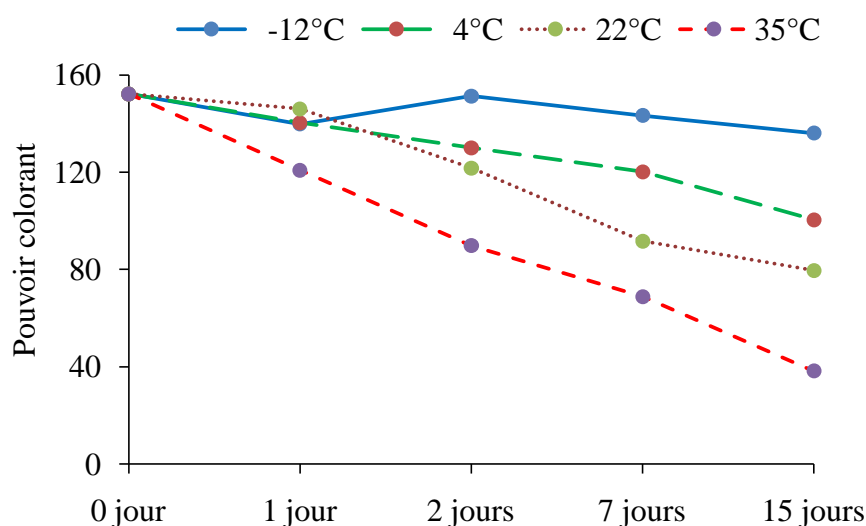


Figure 15. Cinétique de dégradation de la crocine stockée à différentes températures.

La conservation de l'extrait aqueux durant 15 jours a montré des dégradations de la crocine qui diffère selon la température. En effet, la diminution du pouvoir colorant est d'autant plus accentuée que la température augmente. La température de 35°C est celle qui a affecté le plus la concentration de la crocine qui montre au bout de la période de stockage une dégradation de $\frac{3}{4}$. Une dégradation de la moitié de la crocine après 15 jours de stockage a été constatée à la température de 22°C. La température de réfrigération présente une pente de dégradation moins intense que les deux températures précédentes, cette température ne détruit que 35% de la crocine. La température de congélation à -12°C est la mieux indiquée pour le stockage de la crocine, après 15 jours de conservation, une légère dégradation a été remarquée (10%).

Selon [Tsimidou et Tsatsaroni \(1993\)](#) l'incubation à 4°C des extraits aqueux du safran réduit le taux de la crocine plus de 3, 8 et 10 fois par rapport à sa dégradation à 25, 40 et 62°C, respectivement.

Les données spectrales obtenues de l'étude menée par [Sánchez et al. \(2008\)](#) sur la conservation des extraits aqueux du safran dans différentes conditions de stockage a montré que les régions de la bande d'absorption comprise entre 400 et 500 nm ont disparu après la conservation des extraits pendant 23 h à 50 et 70°C, alors qu'elles étaient présentes avant 56 h à 30°C. Ils ont conclu que la dégradation de la crocine est plus marquée avec l'augmentation de la température. Ce qui est remarqué durant notre étude sur l'extrait conservé à 22°C et 35°C ([Annexe, figure 09](#)).

Les valeurs du pouvoir colorant constatées au cours de stockage montrent que les produits alimentaires contenant du safran ou des extraits du safran doivent être conservés à des basses températures.

3.2. Effet du temps et du chauffage

Les résultats de l'étude de la cinétique de la dégradation thermique de la crocine dans des extraits aqueux et éthanoliques sont illustrés dans la ([Figure 16](#)). D'après les résultats, une certaine stabilité du pouvoir colorant des extraits éthanoliques a été observée durant le traitement à 100 et 150°C. Le traitement avec la température de 200°C pour les

extraits éthanoliques n'a pas pu être réalisé à cause de l'évaporation complète du solvant. Cependant, pour les extraits aqueux, une dégradation de la crocine est de plus en plus importante lorsque la température augmente. Le traitement thermique durant une durée de 90min à 100°C indique une légère dégradation de la crocine, l'utilisation de la température de 150°C conduit à une réduction plus intense du pouvoir colorant. Une chute très rapide du taux de la crocine est observée lors du traitement à 200°C.

Les résultats obtenus s'accordent avec ceux de [HeydariatHaghighayegh \(2014\)](#) qui ont montré que les extraits alcooliques présentent une plus grande résistance à la décoloration par rapport aux extraits aqueux. [Sánchez et al. \(2008\)](#) ont montré une dégradation continue de la crocine dans des extraits aqueux de safran qui augmente avec l'augmentation de la température de 5 à 70 °C. Comme la crocine est un dérivé de caroténoïdes, le traitement thermique provoque son isomérisation de la forme trans à la forme cis et sa dégradation par oxydation ([Klaui et Bauernfeind, 1981](#) ; [Lea, 1988](#)).

En conclusion, les hautes températures appliquées durant des courtes durées provoquent la dégradation de la crocine. Cela confirme que l'incorporation des filaments ou de l'infusion de safran doit avoir lieu en fin de préparation soit cinq à dix minutes avant la fin de la cuisson ([Casamayou, 2011](#)). Le safran ne tolère ni la friture ni une ébullition prolongée, une chaleur trop intense induit la dénaturation de ses composés bioactifs ([Chahine, 2014](#)).

Nos résultats à tps = 0, sur les maximales de longueur d'onde caractéristique de la solution aqueuse et alcoolique de safran s'accordent avec ceux des chercheurs ; la solution aqueuse avait trois pics maximaux d'absorption à environ 257, 330 et 442 nm, tandis que la solution éthanolique a montré quatre pics à 257, 325, 438 et 462 nm ([Annexe, figure 10](#)). Les changements dans les maximales de longueur d'onde d'extrait de safran (λ_{max}) et l'absorbance molaire sont facilement induites en changeant le solvant ([Lea, 1988](#)), ([Voir annexe, Tableau III](#)).

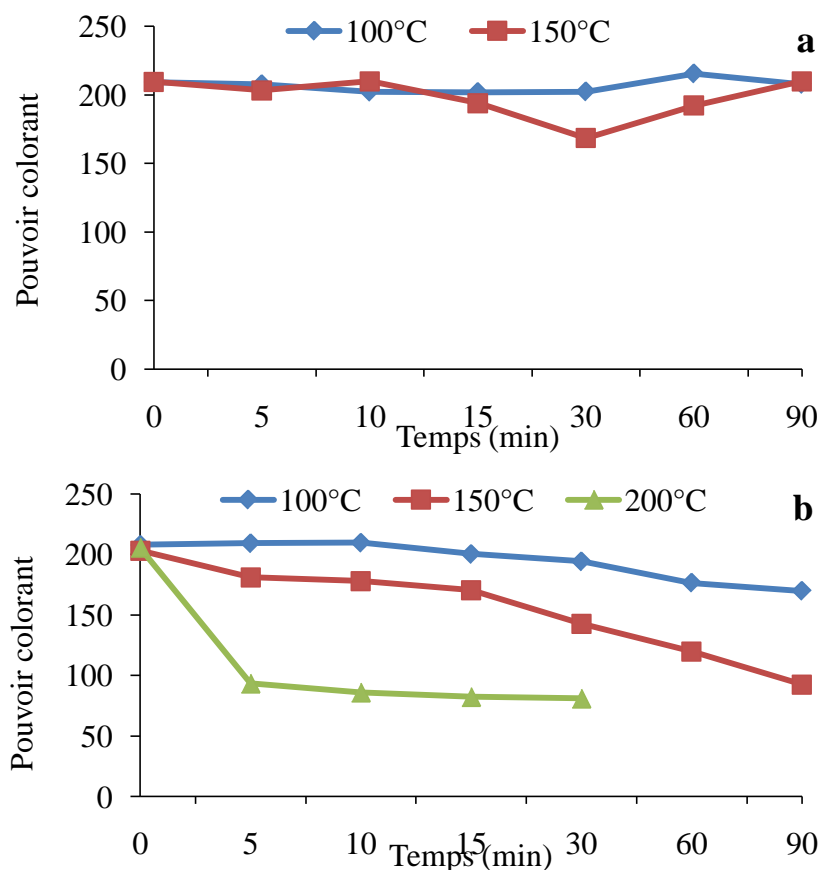


Figure 16. Cinétique de la dégradation thermique de la crocine dans les extraits éthanoliques (a) et aqueux (b).

3.3. Effet de l'acidité

Cette étude a pour but l'évaluation de la stabilité à 4°C de la crocine dans des solutions d'acide citrique à différentes concentrations : 1, 3, 5, 7, 10, 15, 25, 30, 35 et 100 g / litre d'extrait) correspondant aux pH de 2,56 - 2,32 - 2,21 - 2,13 - 2,05 - 1,96 - 1,85 - 1,81 - 1,78 - 1,55, après 15 et 21 jours de stockage (Figure 17).

Les données spectrales obtenues à différents intervalles de temps, ont permis de calculer le pouvoir colorant $E_{442}^{1\%}$ qui est utilisé pour l'étude de la cinétique de dégradation de la crocine soumise aux différents pH. Les graphes montrent que le pouvoir colorant à l'instant $t = 0$ n'a été affecté que par des pH extrêmement bas (1,78 - 1,55). Au cours de la période de stockage, la crocine a connue une grande dégradation à tous les pH par rapport au témoin. Et cette dégradation est d'autant plus intense que le pH est plus bas et que le temps de stockage est allongé.

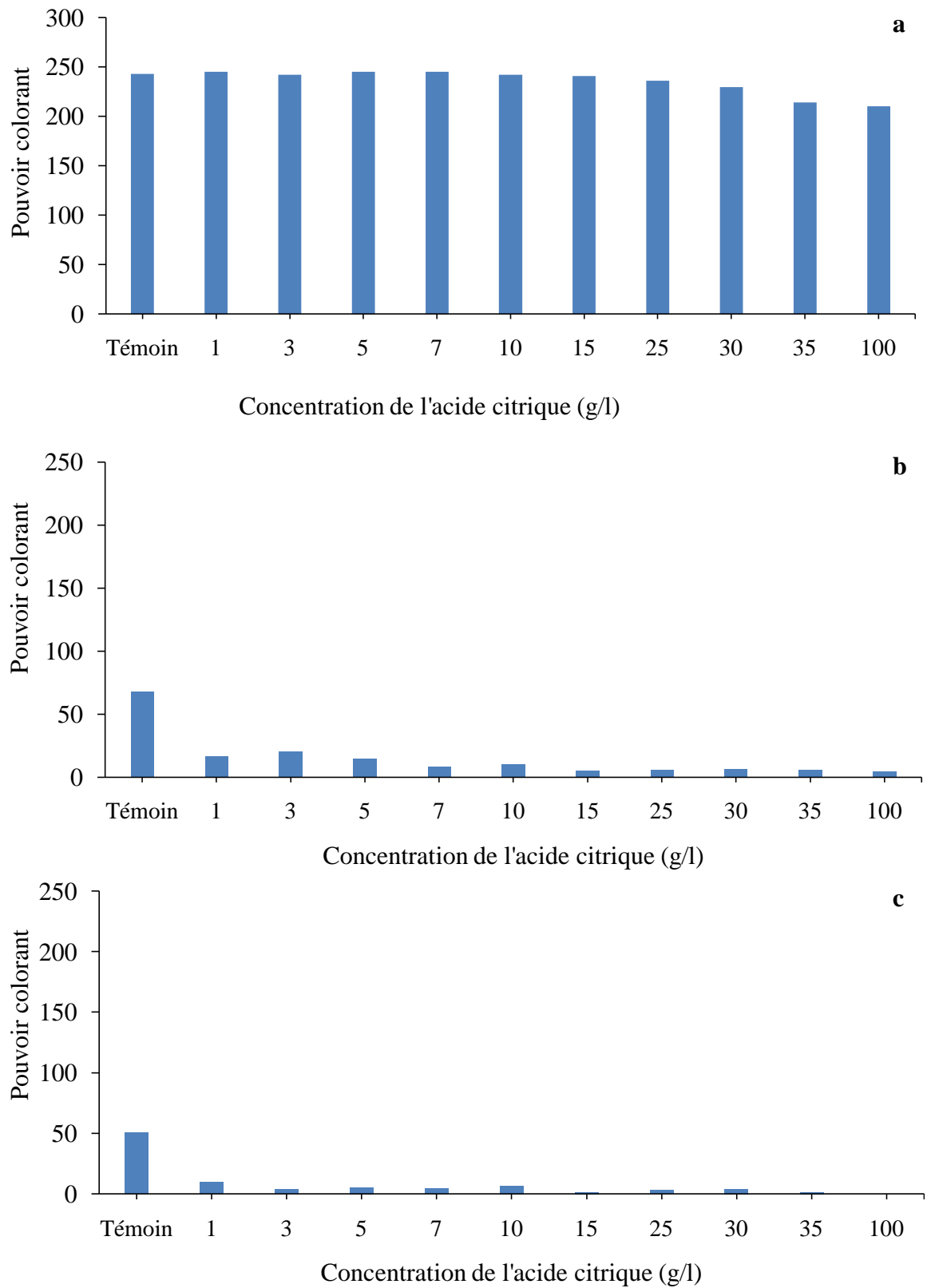


Figure 17. Effet de la concentration de l'acide citrique sur la crocine durant le stockage à (a) 0, (b) 15 et (c) 21 jours.

Selon [Tsimidou et Tsatsaroni \(1993\)](#), la crocine, de par sa structure polyénique, est sujette à des réactions d'isomérisation et d'oxydation et qu'elle est sensible au pH. Ils ont rapporté dans leur étude sur les extraits aqueux que la crocine manifeste une dégradation intense et rapide à différents faibles pH et à des hautes températures. [Karasuet al. \(2019\)](#) ont également observé le même phénomène à des pH bas et à hautes températures.

La [figure 18](#) illustre clairement la décoloration des tubes au cours de la période de stockage et à différents pH. Le pouvoir colorant du safran est négativement influencé par l'acidité et la durée de stockage.

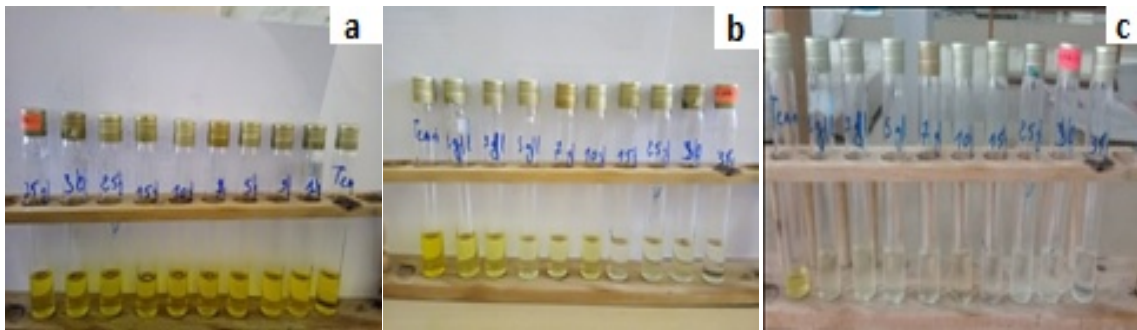


Figure 18. Changement de la couleur des extraits aqueux sous l'effet de différents pH à $t_p = 0$ (a), 15 jours (b), 21 jours (c) ; l'acidité augmente de gauche à droite.

Cela est dû à la forte dégradation des crocines qui peut être expliquée soit par leur isomérisation de la forme trans à la forme cis ([Chen et al., 1995](#)), ou par hydrolyse de la crocine en crocétine (molécule incolore) au milieu aqueux ([Alonso et al., 1993](#)). Selon [Petros et al. \(1994\)](#), les liaisons glucosidiques de la crocine sont facilement hydrolysées par des réactions alcalines et acides ([Voir Figure 19](#)).

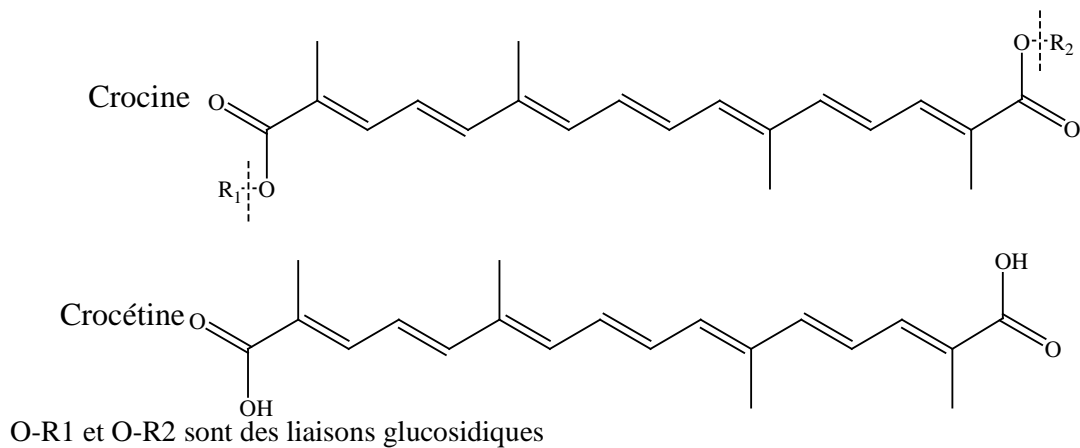


Figure 19. Hydrolyse de la crocine en crocétine ([Bergoin, 2005](#)).

Conclusion

Cette étude a permis de conclure que la teneur en composés principaux du safran dépend non seulement de la méthode d'extraction, mais également de la durée de cette dernière et de l'énergie utilisée.

Le dosage de ces composés a révélé que l'extraction assistée par l'ultrason à 100 % est la méthode la plus adéquate pour l'extraction de la picrocrocine, de safranal et de la crocine avec des valeurs respectivement de 114,23 ; 56,42 et 273,38. Suivi de l'extraction assistée par microondes à 500W et enfin l'extraction par macération avec agitation à une vitesse de 600 rpm. Il a été démontré que le safran provenant de la wilaya de Constantine est très riche en crocine, picrocrocine et safranal.

La teneur des extraits en polyphénols totaux est influencée par la méthode d'extraction. La sonication et la microonde présentent les meilleurs résultats par rapport à la méthode classique avec des valeurs respectives de 119,16 ; 118,91 et 116,66 mg EAG /g MS.

L'évaluation de l'activité antioxydante par la mesure de l'activité anti-radical DPPH a mis en évidence que l'extrait obtenu par l'ultrason présente un pourcentage d'inhibition le plus élevé (60,37 %) par rapport à ceux obtenus par la microonde (48,55%) et la macération par agitation (40,51 %).

La crocine, comme tous les pigments naturels ne sont stables que dans leur environnement cellulaire végétal, est soumise à une dégradation considérable une fois isolée. Cette étude a montré que la congélation (-12 °C) et la réfrigération (4 °C) sont les techniques de conservation les plus appropriées pour augmenter sa stabilité durant la période de stockage.

Le chauffage à haute température même à courte durée dégrade la crocine, et le pH bas affecte significativement la vitesse de dégradation de la crocine. Il est préconisé soit d'incorporer les filaments ou l'infusion de safran en fin de préparation ou de leur faire subir un traitement thermique doux, et de l'utiliser dans une formulation d'aliments d'acidité modérée ou faible.

En fin, nous souhaitons que ce travail permette l'enrichissement des connaissances sur le safran, et il reste une étape préliminaire, pour des recherches plus larges et plus approfondies à savoir :

- L'utilisation d'autres méthodes d'extraction.

- La réalisation d'une étude phytochimique approfondie qui consiste à la purification, l'identification, caractérisation des composés bioactif du safran cultivé en Algérie par l'utilisation des méthodes performante comme l'HPLC, CPG, etc.

- L'identification des principes actifs responsables de l'activité antiradicalaire.

- L'élargissement du panel des activités antioxydantes *in vitro* et *in vivo* et pourquoi pas d'autres tests biologiques: antimicrobien, anti-inflammatoire, antidiabétique, anticancéreux et autres.

- L'étude d'autres facteurs influençant la teneur des trois composés principaux du safran tels que : l'utilisation de différents types de solvants on jouant sur leurs concentrations, granulométrie.

Enfin, comme suite à ce travail nous proposant l'implantation d'une ferme pilote à l'université de Bejaia pour la culture du safran à fin d'évaluer les conditions édapho-climatiques de la région sur la qualité du safran.

Références bibliographiques

A

Abdallah Berrabah W & Allal H. (2017). Contribution d'étude phytochimique du safran naturel. Centre Universitaire Belhadj Bouchaib, Ain Temouchent.

Abdullaev FI. (1993). Biological effects of saffron. *Bio Factors*, 4(2): 83–86.

Alonso Diaz-Marta G, Betza T, Daferera D, LÓPEZ Fuster P, Rakitzis K & al. (2006). Livre blanc : Le Safran en Europe. Direction Development de l' Agriculture : 54-9.

Alonso GL, Salinas MR, Garijo J & Sanchez-Fernandez M. (2001). Composition of crocins and picrocrocin from Spanish saffron (*Crocus sativus* L.). *Journal of Food Quality* 24 (3): 219–233.

Ameziane A. (2016). Recherche d'effet hémolytique et évaluation de l'activité antioxydante des extraits de la partie aérienne de *Portulaca oleracea*. Université de Tlemcen.

Annegowda HV, Bhat R, Tze LM, Karim, AA & Mansor SM. (2011). The free radical scavenging and antioxidant activities of pod and seed extract of *Clitoria fairchildiana* (Howard) - an underutilized legume. *Journal Food Science Technology* 50: 535-41.

Anonyme (2019). <http://shahri.com/saffron-types-and-grades-2/?lang=en>. (Consulté le 25 juin 2019).

Aramburu J, Katherine D, Anais E, Jordi M, Beatriz M, Veronica S & Cristina L. (2006). Regulation of the hypertonic stress response and other cellular functions by the Rel-like transcription factor NFAT5, *biochemical pharmacology* 72: 1597– 1604.

Arvy M & Gallouin F. (2003). Epices, aromates et condiments. Belin Ed. Paris, France. pp 216-219.

Asdaq SM & Inamdar MN. (2010). Potential of *Crocus sativus* (saffron) and its constituent, crocin, as hypolipidemic and antioxidant in rats. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 162 (2): 358-372.

Assimopoulou AN, Sinakos Z, Papageorgiou VP. (2005). Radical scavenging activity of *Crocus sativus* L. extract and its bioactive constituents *Phytotherapy Research* 19 : 997–1000.

Aucante P. (2000). Le safran - chroniques du potager. Actes sud Ed France. pp 101.

B

Baig S, Farooq R, Rehman F. (2010). Sonochemistry and its industrial applications. *World Application Science Journal*. PP. 10, 936-944.

Bathaie S, Bolhassani A & Khavari A. (2013). Saffron and natural carotenoids Biochemical Activities and anti-tumor effects. *Biochimica and Biophysica Acta* 1845: 20-30.

Belgacem F. (2018). Cultiver le safran en Haute Kabylie est désormais possible. Quotidien national d'information liberté. N° 7763. pp. 16.

Benamor B. (2008). Maitrise de l'Aptitude Technologique de la Matière Végétale dans les Opérations d'Extraction de Principes Actifs; Texturation par Détente Instantanée Contrôlée DIC. Thèse de Doctorat. Université de La Rochelle.

Berdonces JL. (2009). Gran diccionario ilustrado de las Plantas Medicinales descripción y aplicaciones. Oceano Ambar, Espagne. pp 952.

Bergoin M. (2005). Application du concept de raffinage végétal au safran du Quercy (*Crocus sativus*) pour la valorisation intégrée des potentiels aromatiques et colorants Thèse de doctorat. INRA Toulouse.

Birouk A, Aboudrare A, Ait-Oubahou A, Kenny L, El Bennory H. (2011). Guide des bonnes pratiques de production du safran dans la région de Taliouine- Tazenakht. Office Régional de Mise en Valeur Agricole de Ouarzazate. pp 66-67

Boskabady MH, Shafei MN, Shakiba A & Sefidi HS. (2008). Effect of aqueous-ethanol extract from *Crocus sativus* (saffron) on guinea-pig isolated heart. *Phytotherapy Research* 22(3):330-4.

Bourgou S, serairibeji R, Medini F & Ksouri R. (2016). Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'*Euphorbia helioscopia*. *Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology* 28(12) : 1649-1655.

Boutet G. (1991). Ils étaient de leur village, Ed. Jean-Cyrille Godefroy, Paris, France. pp 169-171.

Buchecker R & Eugster CH. (1973). Absolute configuration of picrocrocin. *Helvetica Chimica Acta* 56 (3): 1121-1124.

C

Caniova A & Brandsteterova E. (2001). HPLC Analysis of Phenolic Acids in *Melissa Officinalis*. *Journal of Liq Chromatography & Related Technologies* 24 (17) : 2647 – 2659.

Cardon D. (2003). Le monde des teintures naturelles. Belin Ed. France. pp. 234-239.

Carnat A.P, Carnat A, Fraisse DL, Ricoux LJJ & Lamaison JJ. (1998). The aromatic and polyphenolic composition of lemon balm (*Melissa officinalis* L. subsp. *officinalis*) tea, *Pharmaceutica Acta Helvetiae* 72 (5) : 301-305.

Casamayou A. (2011). Le safran, l'or rouge des épices. Annagramme Ed, Paris, France. pp 79.

Chahine N. (2014). Effet protecteur du safran contre la cardiotoxicité de la doxorubicine en condition ischémique Thèse de doctorat. Université Reims Champagne-Ardenne et l'université Libanaise.

Chen BH, Peng HY, Chen SE. (1995). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43: 1912-1918.

Chen Y, Zhang H, Tian X, Zhao C, Cai L, Liu Y, Jia L, Yin HX & Chen, C. (2008). Antioxidant potential of crocins and ethanol extracts of *Gardenia jasminoides* ELLIS and *Crocus sativus* L.: A relationship investigation between antioxidant activity and crocin contents. *Food Chemistry* 109: 484-492.

Chevalier Auguste. La culture du Safran (Suite et fin). (1926). In: *Revue de botanique appliquée et d'agriculture coloniale*, 6^e année, bulletin n°60 .pp. 490- 501

Chryssanthi DG, Dedes PG, Karamanos NK, Cordopatis P & Lamari FN. (2011). Crocetin inhibits invasiveness of MDAMB- 231 breast cancer cells via downregulation of matrix metalloproteinases, *Planta Medica* 77(2): 146-151.

Courtney. P. (2002). « Tasmania's Saffron Gold ». Landline (Australian Broadcasting Corporation).

Croteau R, Kutchan T M & Norman GL. (2000). Natural products (secondary metabolites) *American society of plant physiologists* 24: 1250 -1318.

Crozet A, Durfort S & Sus-Rousset H. (2012). *Crocus sativus* L. (Iridaceae), le safran. *Phytothérapie* 10 (2): 111-125.

D

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

Danielski L, Campos LMAS, Bresciani LFV, Hense H, Yunes RA & Ferreira SRS. (2006). Marigold (*Calendula officinalis* L.) oleoresin: Solubility in SC-CO₂ and composition profile, *Chemical Engineering and Processing*, 46 (2): 99–106.

Décret exécutif n°12-214 du 23 Jomada 1433 correspondant au 15 mai 2012. Fixant les conditions et les modalités d'utilisation des additifs alimentaires dans les denrées alimentaires destinées à la consommation humaine (JO N ° 30 du 16 Mai 2012, pp.16).

Delaveau P. (2006). Expliquez-moi les épices ; aromates ou médicaments ? *Pharmathèmes* Ed. France. pp.140-153.

Deo DB. (2003). La culture du safran - épice la plus chère au monde. *Crop & Food Recherche* 20. pp 1- 4.

Dupont G. (2007). *Abrégé de botanique systématique moléculaire* 14^e édition. Masson Ed, France. pp 108.

E

Escribano J, Alonso GL, Coca-Prados M & Fernandez JA. (1996). Crocin, safranal and picrocrocin from saffron (*Crocus sativus* L.) inhibit the growth of human cancer cells in vitro. *Cancer Letters* 100: 23–30.

F

Falcone Ferreyra ML, Rius S & Casati P. (2012). Flavonoids: biosynthesis, biological functions, and biotechnological applications *Frontiers in plant science* 3. pp 222.

Favre E. (2008). Le safran - l'anti kilo l'anti déprime. Terre d'hommes Ed, France. pp. 177.

Fernandez JA. (2004). Biologie, biotechnology and biomedicine of saffron. *Recent Research of Development Plant Science* 2 :127-159.

Fernandez-Sanchez L, Lax P, Esquivia G, Martin-Nieto J, Pinilla I & Cuenca N. (2012). Safranal, a Saffron Constituent, Attenuates Retinal Degeneration in P23H Rats. *PLOS ONE* 7(8):

Ferrara L, Naviglio D & Gallo M. (2014). Extraction of bioactive compounds of saffron (*Crocus sativus*) by ultrasound assisted extraction (UAE) and by rapid solid-liquid dynamic extraction (RSLDE). *European Scientific Journal* January 10(3) : 1-13.

G

Gadiri N. (2011). Introduction de la culture du safran (*Crocus Sativus* L.) dans les petites exploitations rurales de M'sara (Khenchela). Atelier sur la recherche - développement rural : Cas du bassin versant de Isser - Sekak (Tlemcen) et des Monts des Aures (M'sara), INRF, Bainem, Alger, 21 Décembre 2011. Communication.

Gallo M, Ferracane R, Graziani G, Ritieni A & Fogliano V. (2010). Microwave Assisted Extraction of Phenolic Compounds from Four Different Spices. *Molecules* 15: 6365-6374.

Giorgi A, Bertoni D, Manzo A & Panseri S. (2015). L'oro Rosso delle Alpi. Biblion Edizioni. Manuel technique-scientifique de production de papier peint.

Gismondi A, Serio M, Canuti L & Canini A. (2012). Biochemical, antioxidant and antineoplastic properties of Italian saffron (*Crocus sativus* L.). *American Journal of Plant Sciences* 3(11): 1573.

Gregory MJ, Menary RC & Davies NW. (2005). Effect of drying temperature and air flow on the production and retention of secondary metabolites in saffron. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(15) : 5969–5975.

Gresta F, Avola G, Lombardo GM, Siracusa L & Ruberto G. (2009). Analysis of flowering, stigmas yield and qualitative traits of saffron (*Crocus sativus* L.) as affected by environmental conditions. *Université de Italy* 119 : 320–32.

Gresta F, Lombardo G, Siracusa LG & Ruberto G. (2008a). Saffron, an alternative crop for sustainable agricultural systems. *Agronomy of Sustainable Development* 28 : 95-112

Grilli Cariola M & Canini A. (2010). Looking for Saffron's (*Crocus Sativus* L.) Parents. *Global Science Book* 4(2): 1-14.

Gulcin I, Sat IG, Beydemir S, Elmastar M & Kufrevioglu OI. (2004). Comparisan of antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb) buds and lavender (*Lavandula stoechs* L.). *Food Chemistry* 87: 393-400.

H

Handa SS, Khanuja SPS, Longo G & Rakesh DD. (2008). Extraction Technologies, for Medicinal and Aromatic Plants. International Centre For Science and High Technology. Italy. 21-54.

Herodez S.S, Hadolinb M, Skergeta M & Zeljko Knez M. (2003). Solvent extraction study of antioxidants from Balm (*Melissa officinalis* L.) leaves, Food Chemistry 80: 275 – 282.

Heydari S & Haghayegh GH. (2014). Extraction and Microextraction Techniques for the Determination of Compounds from Saffron. Canadian Chemical Transactions 2 (2): 221-247

Hill T. (2004). The Contemporary Encyclopedia of Herbs and Spices: Seasonings for the Global Kitchen. Edition Wiley, USA. 272 - 275.

Honan WH. (2004). Researchers Rewrite First Chapter for the History of Medicine. *The New York Times* 2

Hu Y, Lu-Ping Q, Qiao-Yan Z, Rahman K, Ting-Han H & Yu-Zhu. (2008). Comparative study of composition of essential oil from stigmas and of extract from corms of *Crocus sativus* . Chemistry of natural compounds 44 (5): 666-667.

I

Iqbal M, Shukla SK & Wani S. (2015). Rapid Detection of Adulteration in Indigenous Saffron of Kashmir Valley, India Research Journal of Forensic Sciences 3(3) :7-11.

ISO 3632-2. (2003). International Organization for Standardization. Epices safran (*Crocus Sativus* L. Partie 2: Test Méthods. first edition 15/11/2003.

ISO 3632-2. (2010). International Organization for Standardization. Epices safran (*Crocus Sativus* L. Partie 2: Méthodes d'essais. pp. 15

J

Jalali-Heravi M, Parastar H & Ebrahimi-Najafabadi H. (2009). Characterization of volatile components of Iranian saffron using factorial-based response surface modeling of ultrasonic extraction combined with gas chromatography-mass spectrometry analysis. Journal Chromatography A 1216: 6088–6097.

Jawad A & Langrish TAG. (2012). Optimisation of total phenolic acids extraction from mandarin peels using microwave energy: The importance of the Maillard reaction. Journal of Food Engineering 109:162-174.

Jerman T, Trebse P & Mozetic Vodopivec B. (2010). Ultrasound-assisted solid liquid extraction (USLE) of olive fruit (*Olea europaea*) phenolic compounds. Food Chemistry 123: 175-182.

K

Kabera JN, Semana E, Mussa AR & He X. (2014). Plant secondary metabolites: biosynthesis, classification, function and pharmacological properties. Journal of Pharmacy and Pharmacology 2: 377-392.

- Kadkhodae R, Hemmati-Kakhki A. (2006).** Extraction of bioactive compounds of safran
- Kanakis CD, Tarantilis PA, Tajmir-Riahi HA & Polissiou MG. (2007).** Crocetin, dimethylcrocetin, and safranal bind human serum albumin: Stability and antioxidative properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55(3): 970–977.
- Karimi E, Oskoueian E, Hendra R & Jaafar HZE. (2010).** Evaluation of *Crocus sativus* L. stigma phenolic and flavonoid compounds and its antioxidant activity. *Molecules* 15:6244–6256.
- Karsu S, Bayram Y, Ozkan K & Sagdis O. (2019).** Extraction optimization crocin pigments of saffron (*Crocus sativus*) using response surface methodology and determination stability of crocin microcapsules. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 13(2).
- Katzer G. (2001).** Saffron (*Crocus sativus* L.). (http://www.uni-graz.at/~katzer/engl/Croc_sat.html), *Gernot Katzer's Spice Pages*
- Kiriamiti KH. (2003). Extraction de pyréthrinés par CO₂ liquide et supercritique, Thèse de doctorat. Toulouse, France.
- Kloui H & Bauernfeind JC. (1981).** Carotenoids as food colors IN *Carotenoids as colorants and vitamin A precursors*. Bauernfeind J.C. (ed). Academic Press Inc., 157-177 .
- Kuhn R. (1994).** Über das flavonol-glykosid aus crocus-pollen. *Berichte der deutschen chemischen gesellschaft abteilung B*. 77: 196-203.
- Kumar A, Yadav A, Gupta N, Kumar S, Gupta N, Kumar S & Gurjar H. (2014).** Metabolites in Plants and Its Classification World. *Journal of Pharmacology and Pharmaceutical Research* 4(1) : 287-305.

L

- Lachaud CM. (2012).** La Bible du safranier. Tout savoir sur le *Crocus sativus* et sur le safran, pp. 258.
- Lachaud CM. (2016).** La Bible du Safran. Tout savoir sur le roi des épices de A à Z. Anthropologie, Chimie, Perception, Usages, Recettes et Plus. Lachaud CM PhD (Auteur, Éditeur), France. pp 217.
- Lahmadi S, Guesmia H, Zeguerrou R, Maaoui M & Belhamra M. (2013).** La culture du safran (*Crocus sativus* L.) en régions arides et semi arides : cas du sud est Algérien. *Journal Algérien des Régions Arides*, N° Spécial : 18-27.
- Laial H. (2013).** Impact de l'agitation et de l'aération sur la réponse physiologique de *Streptomyces pristinaespiralis* DSMZ 40338 lors de sa culture en bioréacteurs mécaniquement agité et gázosiphon. Thèse de doctorat de l'université de Lorraine. Spécialité : Procédés Biotechnologiques et Alimentaires : 1- 267.
- Lak. D. (1998).** Kashmiris Pin Hopes on Saffron. *Biochemical and Biophysical Communications*. (London), (23/11/2009).
- Lazérat V. (2009).** Secrets de safranière. Editeur Lucien Souny, France. pp.125.

Lea A.G.H. (1988). HPLC in Food Analysis, Academic Press, London, 2nd ed.Ch. (Edi; R. Macrae. 8: p. 77.

Lech K, Witowska-Jarosz J & Jarosz M. (2009). Saffron yellow: characterization of carotenoids by high performance liquid chromatography with electrospray mass spectrometric detection. *Journal Mass Spectrometry*, 44(12):1661-7.

Liakopoulou-Kyriakides M & Kyriakidis, D. A. (2002). *Crocus sativus* biological active constituents. *Studies National Product Chemical*. 26: 293–312.

Licon C.C. Rubio R. Molina A & Berruga M.I. (2012). Preliminary study of saffron (*Crocus sativus* L. stigma) color extraction in a dairy matrix. *Dyes and Pigments* 92: 1355–1360.

liquid chromatographic determination of phenolic acids in *Melissa officinalis*, *Journal of Chromatography A*, 983: 271 – 275.

Louise M. (2002). History special collection. Darling Biomedical Library (UCLA) « Saffron». 12-077 CHS, Box 951798. UCLA library. Los Angeles, CA 90095-1798.

Loukil D. (2018). Vers un label algérien pour “l’or rouge. *Quotidien national d’information liberté*. N° 7893, 10/07/2018. ISSN 1111- 4290.

Luque M.D, Castro R & Garcia-Ayuso L.E. (1998). Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future, *Analytica Chimica Acta* 369 : 1-10.

M

Maggi L, Carmona M, Del Campo C. P, Kanakis C. D. Anastasaki E, Tarantilis P. A. et al. (2009). World wide market screening of saffron volatile composition *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(11): 1950–1954.

Maggi L, Carmona M, Kelly S, Marigheto N & Alonso G. L. (2011). Geographical origin differentiation of saffron spice (*Crocus sativus* L. stigmas) preliminary investigation using chemical and multi-element (H, C, N) stable isotope analysis. *Food Chemical* 128: 543–548.

Mahmoudi Y. (1982). La thérapeutique par les plantes communes en Algérie Blida, Algérie: Palais de livre. pp. 55-58.

Major J. (1892). A History of Greater Britain as Well England as Scotland. Printed at the University Press by T. and edited bay ARCHEBALD. Constable for the Scottish History Society, pp. 49.

Makhlouf H, Saksouk M, Habib J & Chahine R. (2011). Determination of antioxidant activity of saffron taken from the flower of *Crocus sativus* grown in Lebanon. *African Journal of Biotechnology* Vol. 10. (41): 8093-8100, ISSN 1684–5315.

Mandal V, Mohan Y & Hemalatha S. (2007). Microwave assisted extraction-Aninnovative and promising extraction tool for medicinal plant research. *Pharmacognosy Reviews*, 1 :7-18.

Martinez-Tome M, Jimenez AM, Ruggieri S, Frega N, Strabbioli R & Murcia MA (2001). Antioxidant properties of Mediterranean spices compared with common food additives. *Journal of Food Protection* 64: 1412-1419.

Mc Gee H. (2004). *On Food and Cooking: The Science and Lore of the Kitchen*, Scribner, Ed. Jean-Cyrille Godefroy, SCRIBNER New York London Toronto Sydney. p.422 (ISBN 0-684-80001-2).

Melnyk J.P. Wang S & Marcone M.F. (2010). Chemical and biological properties of the world's most expensive spice: Saffron. *Food Research International*, 43: 1981-1989.

Milardovic S, Ivekovic D & Grabaric BS (2006). A novel amperometric method for antioxidant activity determination using DPPH free radical. *Bioelectrochemistry* 68:175–180

Millam S, Obert B & Pret'Ová A. (2005). Plant cell and biotechnology studies in *Linum usitatissimum*. a review. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 82(1): 93-103.

Moghaddasi M. (2010). Saffron chemicals and medicine usage. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(6): 427-430.

N

Nacer B. (2018). Culture du safran Oum à El-Bouaghi. *Quotidien national d'information liberté*. N° 7925. du 16/08/2018. ISSN 1111- 4290.

Nathalie B & Jean-Paul C. (2006). Méthodes rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. pp.76.

Negbi M. (1999). Saffron cultivation: Past, Present and future prospects. In: *Saffron (Crocus sativus L)* Harwood Academic Publisher, USA : 1-18

Nickavar B, Alinaghi A & Kamalinejad M. (2008). Evaluation of the Antioxidant Properties of Five Mentha Species-Iranian *Journal Of Pharmaceutical Research*, vol.7 (3): 203-209.

O

Orfanou O & Tsimidou M. (1996). Evaluation of the colouring strength of saffron spice by UV-Vis. *Food chemistry*, Vol. 51, No. 3: 463-469.

P

Palomares C. (2015). Le safran précieuse épice ou précieux médicament. Thèse de doctorat. Faculté de pharmacie. UNIVERSITÉ DE LORRAINE : 14-105.

Penchev P. (2010). Etude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparative à basse et haute pression. Thèse de doctorat de Génie des Procédés et de l'Environnement. Université de Toulouse. Institut National Polytechnique : 1-208.

Petros A, Tarantili C, Polissiou M & Manfait M. (1994). Separation of picrocrocin, cis-trans-crocins and safranal of saffron using high-performance liquid chromatography with photodiode-array detection. *Journal of Chromatography A*, 664: 55-61

Pfander H & Schurtenberger H. (1982). Biosynthesis of C₂₀-carotenoids in *Crocus sativus*. *Phytochemistry*, 21(5):1039-1042.

Pitsikas N, Bouladakis A, Georgiadou G, Tarantilis P.A. & Sakellaridis N. (2008). Effects of the active constituents of *Crocus sativus* L., crocins, in an animal model of anxiety. *Phytomedicine*. 15(12):1135-9.

Premkumar K & Ramesh A. (2010). Anticancer, Antimutagenic and Antioxidant Potential of Saffron: An Overview of Current Awareness and Future Perspectives. *Functional Plant Science and Biotechnology* 4 (Special Issue 2), 91-97 Global Science Book. ISSN 1749-0472

R

Rahaiee S, Gharibzahedi SMT, Razavi SH & Jafari SM. (2012). Recent developments on new formulations based on nutrient-dense ingredients for the production of healthy-functional bread: a review. *J Food Sci Technol*. Doi: 10.1007/s13197-012-0833-6.

Rahimi M. (2015). Chemical and Medicinal Properties of Saffron. *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences*. Vol 4: 69-81.

Ribeiro M.A, Bernardo-Gil M.G, Esquivel M.M. (2001). Melissa officinalis, L.: study of antioxidant activity in supercritical residues *Journal of Supercritical Fluids*, 21: 51 – 60.

Rodel W. & Petrzika M. (1991). Analysis of the volatile components of Saffron. *Journal of High Resolution Chromatography*., 14 (11): 771-774.

Rubio Moraga A. Fernandez Nohales P. Fernandez, Perez J. A & Gomez-Gomez L. (2009). Glucosylation of the saffron apocarotenoid crocetin by a glucosyltransferase isolated from *Crocus sativus* stigmas. *Planta*, 219 (6): 955-966.

S

Sampathu S. R. Shivashankar S. Lewis Y. S. & Wood A. B. (1984). Saffron (*Crocus sativus* L.) Cultivation, processing, chemistry and standardization *Critical. Food Science and Nutrition*, 20(2):123–157.

Sánchez M. Carmona S.A. Ordoudi M.Z. Tsimidou G.L & Alonso. A. (2008). Kinetics of Individual Crocetin Ester Degradation in Aqueous Extracts of Saffron (*Crocus sativus* L.) upon Thermal Treatment in the Dark *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 56, No. 5: 1627–1637

Sanchez-Moreno H. (2002). Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. pp 154.

Sandhar H. K. Kumar B. Prasher S. Tiwari P. Salhan, M & Sharma P. (2011). A review of phytochemistry and pharmacy flavonoids. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1(1): 25-41.

Santha Ram, R & Eliot, E. (1969). The Cooking of India, *Time Life Education*, p. 53, ISBN 0-8094-0069-3. *Crocus sativus* L.– Paris. Partie 1 : spécifications.

Shamsa A, Hosseinzadeh H, Molaei M, Shakeri M.T & Rajabi O. (2009). Evaluation of *Crocus sativus* L. (saffron) on male erectile dysfunction: a pilot study. Aug; 16 (8):690-3.

Simgil A. (1997). Sifali Bitkiler İstanbulu Timas Yayınları. Ed BKM . ISTOMBOUL. pp. 147–148.

Simonpoli P. (1993). In Arburi, Arbigliule, Savoirs populaires sur les plantes de corse Parc Naturel Regional de la Corse, Ajaccio, Corsica.

Skoula C, Abidi E & Okkalou K (1996). Biochem.Syste.Ecol. Editor-in-Chief: Monique Simmonds, Espagne. 24, p. 255.

Soeda S, Ochiai T, Shimeno H, Saito H, Abe K, Tanaka H et al. (2007). Pharmacological activities of crocin in saffron. Journal of Natural Medicine, 61(2): 102–111.

Sterbova D, Matejcek D, Vlcek J & Kubán V. (2004). Combined microwave-assisted isolation and solid-phase purification procedures prior to the chromatographic determination of phenolic compounds in plan materials. Analytica Chimica Acta, 513: 435 – 444.

Straubinger M, Jezussek M. Waibel R & Winterhalter P. (1997). Novel glycosidic constituents from saffron Journal Agriculture and Food Chemistry, 45: 1678–1681.

Sujata V, Ravishankar G. A & Venkataraman L. V. (1992). Methods for the analysis of the saffron metabolites crocin, crocetins, picrocrocin and safranal for the determination of the quality of the spice using thin-layer chromatography, high-performance liquid chromatography and gas chromatography. Journal of Chromatography. 624: 497-502.

T

Talbi L & Medjbar W. (2017). Qualité physico-chimique du safran Algérien , université de Béjaia.

Tarantilis P. A, Tsoupra G & Polissiou M. G. (1995). Determination of saffron (*Crocus sativus* L.) components in crude plant extract using high-performance liquid chromatography-UV-visible photodiode-array detection-mass spectrometry. Journal of Chromatography A, 699: 107-118.

Tarvand. (2005b). Grading and Classification. Tarvand Saffron Company, www.tarvandsaffron.com/classification.htm.

Teusher E, Anton R & Lobstein A. (2005). Plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Lavoisier Ed.,Illkirch. 45: 429-435.

Toth J, Mrlinova M, Tekelova D & Korenova M. (2003). Rosmarinic acid – an important phenolic active compound of lemon balm (*Melissa Offcinalis* L.), Acta Facult. Pharm. Univ. Comenianae 50: 139-146.

Tsatsaroni E, Liakopoulou-Kyriakides M & Eleftheriadis I. (1998). Comparative study of dyeing properties of two yellow natural pigments – effect of enzymes and proteins.. Dyes Pigments 37: 307–315.

Tsimidou M & Tsatsaroni E. (1993). Stability of saffron pigments in aqueous extracts. Journal of Food Science. 58: 1073–1075.

U

Ursat, J. (1913). Le safran du Gatinais. Pithiviers, imprimerie Lucien Gautier. France. p. 45.

V

Verma S.K & Bordia A. (1998). Antioxidant property of Saffron in man ,Department of Medicine and Indigenous Drug Research Centre, RNT Medical College, Udaipur, Indian Journal of Medical Science 52, no 5: 205-207.

Vickackaite V. Romani A. Pannacci D & Favaro G. (2004) Photochemical and thermal degradation of a naturally occurring dye used in artistic painting. A chromatographic, spectrophotometric and fluorimetric study on saffron. International Journal of Photoenergy 6: 175–183.

W

Wang L & Weller C.L. (2006). Recent advances in extraction of nutraceutical from plants. Trends in Food Science and Technology 17: 300-312.

Willard P. (2001). Secrets of Saffron: The Vagabond Life of the World's Most Seductive spice Beacon Press, Editor, Hiram Poetry Review. pp. 01-201.

Y

Yeoh S, Shi J & Langrish T.A.G. (2008). Comparisons between different techniques. forwaterbased extraction of pectin from orange peels. Desalination, 218: 229-237.

Z

Zarghami N. S & Heinz D. E. (1971b). The volatile constituents of Saffron. Lebensmittel Wissenschaft and Technology, 4 (2): 43-45.

Ziakova A, Brandsteterova E & Blahova E. (2003). Matrix solid-phase dispersion for the

ZOBEIDI Z & BENKHALIFA.A. (2014). La culture du Safranier (*Crocus sativus* L.) en Algérie. Première exposition ethnobotanique et deuxième Atelier d'initiation à la Phytothérapie. 7 Juin: Jardin d'essai du Hamma Alger, Algérie

Annexe



Figure 01. Risque de confusion du safran à gauche avec à droite le colchique d'automne, très toxique (Palmares, 2015).

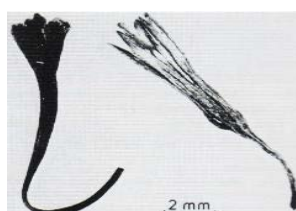


Figure 02. Stigmates de *Crocus sativus*(à gauche) et fleur tubulaire de *Carthamus tinctorius* (à droite) (Hu et al., 2008).

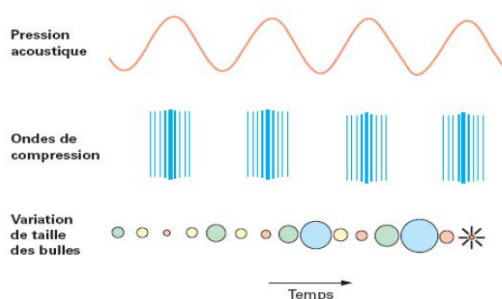


Figure 03.Présentation schématique du phénomène de cavitation acoustique (Draye *et al.*, 2009).

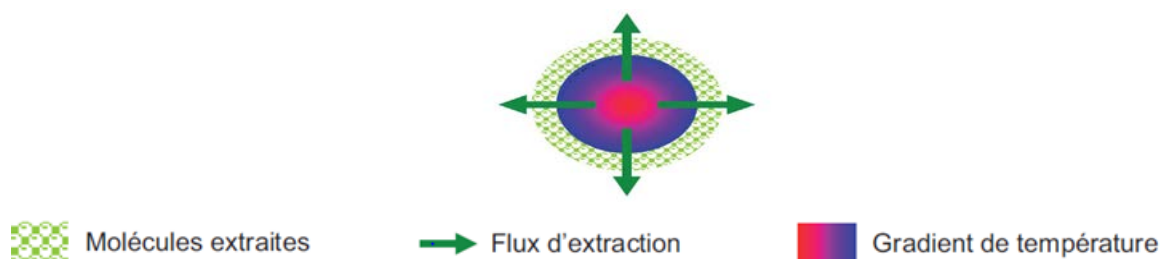


Figure 04.Principe de chauffage par microondes (Al-Harabsheh*et al.*, 2004).



Figure 05. Le jaune du safran illumine ce tapis d'Anatolie centrale (Cardon, 2003).



Figure 06.Échantillon de safran dans un récipient en inox fermé hermétiquement.

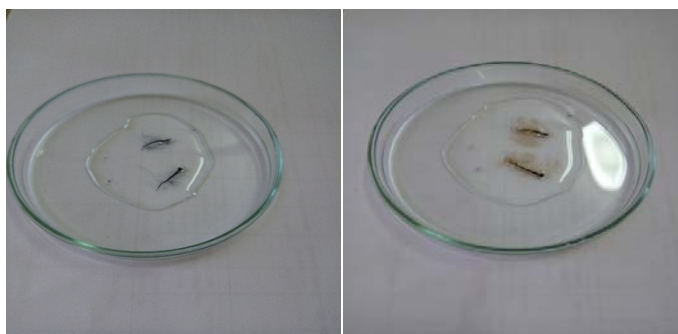


Figure 07.Test d'identification de notre échantillon du safran.

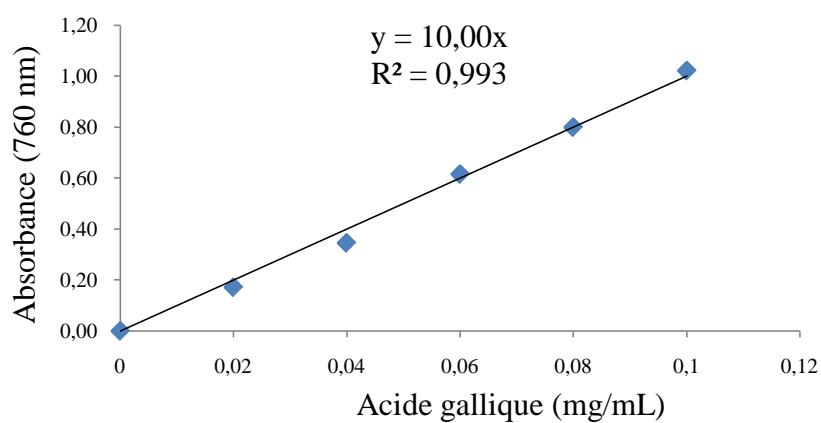


Figure 08. Courbe d'étalonnage des composés phénoliques.

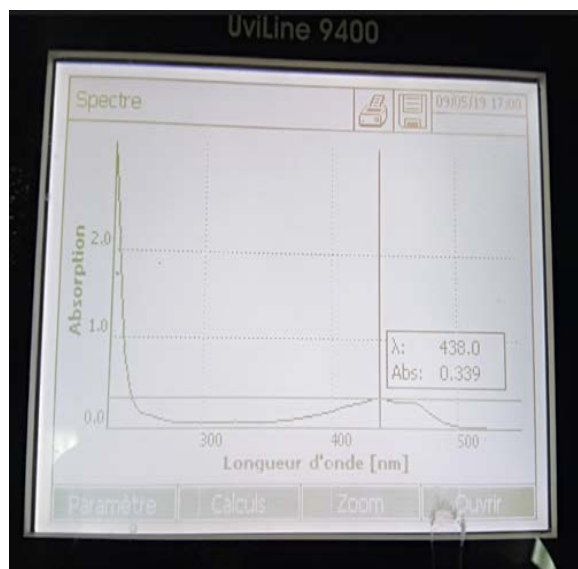


Figure 09. Diminution de l'absorbance de la crocine dans l'extrait stocké à 35°C pendant 7 jours.

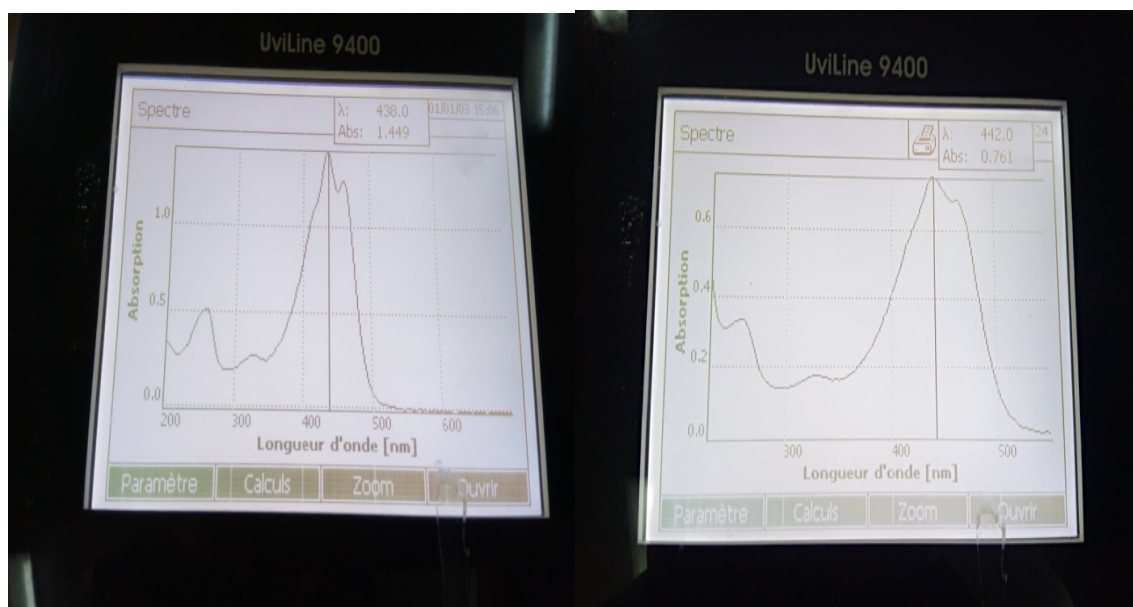


Figure 10. Changement des maximales de longueur d'onde en fonction de solvant: éthanol (à gauche), l'eau (à droite)

Tableau I.Spécifications chimiques du safran en filaments, filaments coupés et en poudre.

	Spécifications			Méthodes d'essai
	Catégories			
	I	II	III	
Humidité et teneur en matières volatiles (fraction massique), % max				ISO 3632-2 2010, article 7
Safran sous forme de filaments et filaments coupés	12	12	12	
Safran sous forme de poudre	10	10	10	
Cendres totales (masse), sur matières sèche, % Max	8	8	8	ISO 928 et ISO 3632-2 : 2010, article 12
Cendres insolubles dans l'acide (fraction massique), %, sur matières sèche, max	1,0	1,0	1,0	ISO 930 et ISO 3632-2 : 2010, article 13
Extrait soluble dans l'eau froide, (fraction massique), %, sur matière sèche, max	65	65	65	ISO 941 et ISO 3632-2 : 2010, article 11
Saveur amère (exprimé en picrocrocine) $E_{\lambda_{max}}^{1\%}$ 257 nm, sur matière sèche, min (à cette longueur d'onde, l'absorbance de la picrocrocine est maximale)	70	55	40	ISO 3632-2 : 2010, article 14
Pouvoir aromatique (exprimé en safranal) $E_{\lambda_{max}}^{1\%}$ 330nm, sur matière sèche, Min Max (à cette longueur d'onde, l'absorbance du safranal est maximale)	20 50	20 50	20 50	ISO 3632-2 : 2010, article 14
Pouvoir colorant (exprimé en crocine) $E_{\lambda_{max}}^{1\%}$ 440 nm, sur matière sèche, min (à cette longueur d'onde, l'absorbance de la crocine est maximale)	200	170	120	ISO 3632-2 : 2010 : article 14
Colorants artificiels	absence	Absence	absence	ISO 3632-2 : 2010, article 16 et / ou 17

Tableau II. Classification du safran en filament et en filaments coupés sur des critères Physiques.

Caractéristiques	Catégories			Méthodes d'essai
	I	II	III	
Restes floraux (fraction massique) % max	0,5	3	5	ISO 3632-2 : 2010, article 8
Matières étrangères (fraction massique) % max	0,1	0,5	1,0	ISO 3632-2 : 2010, article 9

Tableau III. Maximales de longueur d'onde d'extraits de safran comme élucidé en utilisant la spectroscopie (Orfanou, Tsimidou, 1995)

Méthode d'extraction	Le maximum de longueur d'onde nm			
Eau froide	257.5	328.0	442.0	-
Eau : éthanol, 1:1,v/v	256.5	326.5	439.0	463.5
Eau : éthanol, 1:4,v/v	256.5	325.0	436.5	462.0
Eau : méthanol, 1:1,v/v	257.0	327.5	439.5	463.5

Résumé

Les composés bioactifs principaux de safran sont la picrocrocine, le safranal et la crocine, qui contribuent significativement à sa qualité. Cette étude se concentre sur l'effet de la méthode d'extraction, sa durée et son niveau d'énergie utilisés non seulement sur les teneurs en ces trois composés, mais aussi sur les valeurs en polyphénols et sur l'évaluation de l'activité antioxydante des stigmates séchés de *Crocus sativus* L., ainsi que l'évaluation de la stabilité de l'acidité et de température sur le contenu en crocine. L'analyse statistique a montré que l'extraction assistée par l'ultrason à 100 % est la méthode la plus adéquate pour l'extraction de la picrocrocine, de safranal et de la crocine, suivi de l'extraction assistée par microondes à 500W et enfin par la macération avec agitation à 600 rpm. Il a été démontré aussi que le safran algérien provenant de Constantine est très riche en ces composés. L'ultrason et le microonde donnent les meilleurs résultats en polyphénols par rapport à la méthode classique. L'évaluation de l'activité antioxydante mesurée par DPPH a mis en évidence que l'extrait obtenu par l'ultrason présente un pourcentage d'inhibition le plus élevé par rapport à ceux obtenus par le microonde et la macération avec agitation. La congélation et la réfrigération sont des techniques appropriées pour la conservation de la crocine. La température élevée et l'acidité basse affectent significativement la vitesse de dégradation de la crocine. Celle-ci doit être utilisée comme un colorant naturel dans les aliments à acidité modérée ou faible et exposée à un traitement thermique doux.

Mots clés : Safran, Picrocrocine, Safranal, Crocine, Méthodes d'extractions, Antioxydants, Stabilité.

Abstract

The main bioactive compounds of saffron are picrocrocin, safranal and crocin, which contribute significantly to its quality. This study focuses on the effect of the extraction method, its duration and its energy level used not only on the levels of these three compounds, but also on the polyphenols values and on the evaluation of the antioxidant activity dried stigmas of *Crocus sativus* L., as well as evaluation of the stability of acidity and temperature on crocin content. Statistical analysis has shown that 100% ultrasound-assisted extraction is the most appropriate method for the extraction of picrocrocin, safranal and crocin, followed by microwave-assisted extraction at 500W and finally by maceration with stirring at 600 rpm. It has also been shown that Algerian saffron from Constantine is very rich in these compounds. Ultrasound and the microwave give the best results in polyphenols compared to the classical method. The evaluation of the antioxidant activity measured by DPPH showed that the extract obtained by ultrasound has a higher percentage of inhibition compared to those obtained by the microwave and maceration with stirring. Freezing and refrigeration are appropriate techniques for the conservation of crocin. High temperature and low acidity significantly affect the rate of degradation of crocin. It should be used as a natural colorant in foods with moderate or low acidity and exposed to mild heat treatment.

Key words: Saffron, Picrocrocin, Safranal, Crocin, Extraction methods, Antioxidants, Stability.