

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

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



Réf :

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

MASTER

Thème

**Etude de l'effet de stockage sur la crocine
extraite du safran**

Présenté par :

SADOU Dyhia & MERRANI Lahna

Soutenu le : **15 septembre 2020**

Devant le jury composé de :

Mr BOUDRIES Hafid	MCA	Président
Mr BACHIR BEY Mostapha	MCA	Encadreur
Mme LAINCER Firdaousse	MCB	Examinatrice

Année universitaire : 2019 / 2020

Remerciements

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce au dieu qui nous a fourni plusieurs personnes à qui on voudrait témoigner toutes nos reconnaissances.

Nous tenant tout d'abord à adressé nos gratitudees et remerciements à notre promoteur Mr BACHIR BEY Mostapha pour sa disponibilité, son soutien, son encouragement, et surtout sa patience et ses judicieux conseils.

Nous remercions aussi les membres du jury, Mr BOUDRIES Hafid, Mr BACHIR BEY Mostapha et Mme LAINCER Firdaousse Qui ont accepté d'évaluer notre travail.

Nous tenant à témoigner nos respects aux membres de laboratoire du Biochimie alimentaire qui ont mis à notre disposition les moyens nécessaires à la réalisation de ce travail, ainsi nos enseignants de parcours qui nous ont donné les bases de la science.

Et enfin nous remercions profondément tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'accomplissement de ce modeste travail de recherche.

Dédicaces

Je m'incline devant Dieu tout puissant qui m'a ouvert la Porte du savoir pour réaliser ce modeste travail

Que je dédie :

A ma très cher famille «Mon adorable mère et mon estimable père» qui ont sacrifié pour mon éducation et pour leurs encouragements et leurs prières, avec tant d'amour et d'affection, que dieu les protège pour moi.

A mes uniques et chers frères Kouceïla et Faouzi.

A la mémoire de ma grande mère.

A tous mes tantes, cousins et cousines.

A mon binôme Merrani Lahna et sa famille et mes collègues du mémoire Cylia et Yamina.

A mon encadreur Mr Bachir Bey Mustapha pour son soutien, sa patience et ses conseils.

A tous mes ami (e)s Lahna, Lysa, Cylia, Lydia, Nacera, Malia, Sara, Kenza, Asma, Asia, Selma, Amel, et Koceïla. Et à toute personne qui ont contribué d'une manière ou d'une autre à l'élaboration de ce mémoire merci infiniment.

DYHIA

Dédicaces

Je m'incline devant le dieu le tout puissant qui m'a ouvert la porte du savoir pour réaliser ce modeste travail que je dédie :

A ma chère famille grand et petit, à mes chers parents papa et maman que j'aime énormément pour leurs sacrifices illimités, leurs soutiens et leurs prières toute au long de ma vie.

A mes chères sœurs Nabila et Meryame et mes frères Mazigh et Belkacem.

A mon cher oncle Mustapha et sa femme Radia et leurs enfants Imane, Djidji, et Kikou.

A mes chères cousines Asma, Aïchouch et Selma et ma chère tante Djimou.

A mon meilleur ami Koceïla qui a été toujours à mes côtés pour m'aider et m'encourager.

A toutes mes copines de chambre et mes chères amies Cilia, Malya, Lidya, Selma, Amel, et Dyhia.

A mes adorables amies Asma, Liza, Kenza, Sara, Asia, Dyhia et Nacera.

A mon grand frère Mohend qui me donne des conseils et qui m'aide pour réussir mes études.

A mon binôme SADOU Dyhia ainsi qu'à sa famille. Et aussi mes collègues de travail Cilia et Yamina.

A mon promoteur Mr BACHIR BEY Mostapha pour son soutien et ses conseils.

A tous ceux qui ont contribué à la réussite de ce travail de proche ou de loin.

LAHNA

Liste des abréviations

EDTA: Ethylène-diamine-tétra-acétique

HTCC: 4-hydroxy-2, 6,6-triméthyl-1-cyclohexen-1-carboxaldehyde

ISO : Organisation Internationale de Normalisation (International Organization for Standardization)

IUPAC : Union de la chimie pure et appliquée (International Union of Pure and Applied Chemistry)

LSD : Test de différence significative minimale (Least Significant Difference)

MANOVA : Analyse de la variance multivariée (Multiple analysis of variance)

Liste des figures

Numéro	Titre des figures	Page
01	Morphologie de <i>Crocus sativus</i> (plante, bulbes, feuilles et fleurs).	4
02	Différents types de safran (Negin, Sargol, Pushal, et Daste).	6
03	Etapas de la récolte du safran (cueillette, émondage, séchage et conditionnement).	7
04	Principales nations productrices de safran.	9
05	Biosynthèse de la crocétine, la crocine, la picrocrocine et du safranal à partir du clivage oxydatif de la zéaxanthine.	15
06	Structure chimique de la Crocétine.	16
07	Structure chimique de la picrocrocine.	18
08	Structure chimique du safranal.	19
09	Echantillon du safran: (a) flacon de conservation, (b) stigmates et (c) poudre du safran.	20
10	Cinétique de dégradation de la crocine au cours de la conservation à la température de 5°C, (A) effet des conservateurs et (B) du pH.	24
11	Cinétique de dégradation de la crocine au cours de la conservation à la température de 20°C, (A) effet des conservateurs et (B) du pH.	26
12	Cinétique de dégradation de la crocine au cours de la conservation à la température de 35°C, (A) effet des conservateurs et (B) du pH.	28
13	Cinétique de dégradation de la crocine au cours de stockage en fonction des mélanges de conservateurs (acide ascorbique « AA », acide citrique « Ac » et EDTA).	34
14	Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prévues du plan de mélange des conservateurs appliqué pour le stockage de la crocine.	35
15	Triangle équilatéral du plan de mélange montrant la combinaison optimale de conservateurs pour la conservation de la crocine.	37
16	Isomérisation de la configuration trans à la configuration cis.	38
17	Hydrolyse de la crocine en crocétine	39

Liste des figures en annexe

Numéro	Titre des figures
A	Stockage à température de réfrigération 5°C après 8 jours et 16 jours.
B	Stockage à température de réfrigération 5°C de mélange après 1 jour et 11 jours.
C	Stockage à température ambiante de laboratoire 20°C après 8 jours et 16 jours.
D	Stockage à température ambiante de laboratoire 20°C de mélange après 1 jour et 11 jours.
E	Stockage à température 35°C après 8 jours et 16 jours.
F	Stockage à température 35°C de mélange après 1 jour et 11 jours.

Liste des tableaux

Numéro	Titre de tableaux	Page
I	Classification taxonomique du safran.	4
II	Proportions de conservateurs d'un plan de mélange en réseaux	22
III	Différents paramètres de vitesse de réaction pour les ordres 0, 1 et 2.	29
IV	Équations linéarisées des cinétiques de dégradation à 5°C de la crocine, les coefficients de détermination et les temps des demi-vies ($t_{1/2}$) des conservateurs.	30
V	Équations linéarisées des cinétiques de dégradation à 20°C de la crocine, les coefficients de détermination et les temps des demi-vies ($t_{1/2}$) des conservateurs.	31
VI	Équations linéarisées des cinétiques de dégradation à 35°C de la crocine, les coefficients de détermination et les temps des demi-vies ($t_{1/2}$) des conservateurs.	32
VII	Effets des conservateurs sur la cinétique de dégradation de la crocine au cours de la conservation.	33
VIII	Équations linéarisées des cinétiques de dégradation de la crocine, les coefficients de détermination et les temps des demi-vies ($t_{1/2}$) expérimentaux et prédits du plan de mélange.	35
IX	Analyse de la variance du modèle du plan de mélange.	36
X	Paramètre du modèle de plan de mélange des conservateurs.	36
XI	Mélange optimal de conservateurs pour le stockage de la crocine.	37

Liste des tableaux en annexe

Numéro	Titre du tableau
A	Spécifications chimiques du safran en filaments, filaments coupés et en poudre.

Table des matières

Introduction	1
Chapitre I : Généralités sur le safran	
1. Historique et origine.....	3
2. Description botanique et classification	4
3. Distribution géographique.....	5
4. Types du safran	5
5. Etapes de production et de transformation du safran	6
5.1. Récolte	6
5.2. Émondage.....	6
5.3. Séchage.....	7
5.4. Conditionnement et conservation.....	7
6. Production et commercialisation du safran	8
6.1. Production mondiale.....	8
6.2. Commercialisation.....	8
7. Domaines d'application du safran.....	9
7.1. Peinture et textile.....	9
7.2. Côté cuisine	9
7.3. En industries.....	10
7.4. Cosmétologie.....	10
7.5. Histologie	10
7.6. Parfumerie	10
8. Effets thérapeutiques du safran	11
8.1. Action sur le système nerveux.....	11
8.2. Amélioration des troubles cognitifs du sujet âgé	12
8.3. Amélioration des troubles de la vision liée à l'âge	12
8.4. Amélioration du dysfonctionnement sexuel masculin.....	12
8.5. Protection du système cardiovasculaire.....	12
8.6. Amélioration du métabolisme glyco-lipidique.....	12
8.7. Propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires	13
Chapitre II : Composition du safran	
14	
1. Composition chimique du safran	14
2. Principaux composants du safran.....	14
2.1. Caroténoïdes.....	14
2.2. Flavonoïdes	15
3. Substances bioactives spécifiques au safran	15
3.1. Crocétine	15
3.2. Crocines.....	16
3.3. Picrocrocine.....	18
3.4. Safranal.....	19
Partie expérimentale	
1. Matériels et méthodes	20
1.1. Matière végétale	20

1.2. Étude de l'effet de stockage avec différents conservateurs et températures sur la crocine	21
1.3. Optimisation du mélange de conservateurs	21
1.4. Traitement statistique	22
2. Résultats et discussion	23
2.1. Détermination de la teneur de la crocine	23
2.2. Étude de l'effet de stockage avec différents conservateurs et températures sur la crocine	23
2.3. Optimisation du mélange de conservateurs	33
2.3.1. Étude de l'effet des mélanges de conservateurs sur la conservation de la crocine	34
2.3.2. Modèle global d'ajustement	36
2.3.3. Effets des mélanges de conservateurs	36
2.3.4. Détermination expérimentale des conditions optimales de la conservation de la crocine	39
2.4. Discussion générale	38
Conclusion.....	40

Références bibliographiques

Annexes

Introduction

Introduction

Crocus sativus est une plante vivace (Winterhalter et Staubinger, 2000) qui contient que trois stigmates dans sa fleur, en effet environ 150 000 fleurs doivent être soigneusement cueillies pour la production d'un kilogramme d'épice du safran (Lopersti *et al.*, 2014). La récolte des fleurs et la séparation des stigmates prennent beaucoup du temps et nécessite une main d'œuvre intensifiée, pour cette raison elle reste la plus chère épice du monde (Basker et Negbi, 1983 ; Soeda *et al.*, 2007) pour laquelle ils sont attribués l'appellation « Or rouge », de telle sorte un gramme coûte 30 à 40 € (Bergoin, 2005).

Le safran est utilisé dans plusieurs domaines tels que la préparation des parfums (Abdullaev *et al.*, 2006) des produits cosmétiques, des colorations histologiques (Plomares, 2015) et la teinture de textiles (Kamel *et al.*, 2009). Il est très répondeu dans les industries agroalimentaires en tant qu'un additif alimentaire pour ces propriétés colorantes et aromatisants (Moratalla-Lopez *et al.*, 2019) et comme source d'antioxydants naturels et neutralisation des radicaux libres (Hossein Goli *et al.*, 2012). Bien qu'il est utilisé dans la médecine traditionnelle comme traitement de plusieurs maladies (Srivastava *et al.*, 2010), pour ces diverses propriétés biologiques telles que l'activité anti-oxydante, anticancéreuse (Maghsoodi *et al.*, 2012), antidépressive (Alavizadeh et Hosseinzadeh, 2014), anti-tumorale (Boskabady *et al.*, 2016), antispasmodique, anti-inflammatoire, et anti-artérioscléreuse (Rahaiea *et al.*, 2015).

Cette épice est très appréciée dans le monde entier (Tsimidou, 1997) grâce à sa richesse en métabolites secondaires, où la crocine est un groupe d'apocaroténoïdes (Kabiri *et al.*, 2017) qui a une structure glycosidique responsable de la couleur jaune rouge du safran, la picrocrocine est la molécule responsable de son goût amer et le safranal est le composant principal de son arôme intense (Javadi *et al.*, 2012).

La qualité du safran est conditionnée par plusieurs facteurs y compris les conditions de stockage et le traitement thermique qui affectent les teneurs des composés bioactifs, et pour un meilleur stockage une étude est réalisée dans l'objectif de trouver d'une part la température adéquate et d'autre part d'avoir un conservateur ou un mélange de conservateurs idéal pour la conservation de la teneur de la crocine dans l'extrait aqueux du safran.

Ce travail s'inscrit dans un projet de recherche international « *Prima-2019* » sous l'acronyme « Saffromfood » qui vise la valorisation du safran (*Crocus sativus* L.) et de ses sous-produits floraux comme sources innovantes durables pour le développement de produits alimentaires à haute valeur ajoutée.

À cet effet, une série de conservateurs sont testés dans différentes températures bien qu'un plan de mélange est réalisé après avoir sélectionné les meilleurs conservateurs. Ce travail est scindé en partie bibliographique comprenant des généralités sur le safran, sa composition et les différents conservateurs utiliser ainsi le principe du plan du mélange, et une partie expérimentale contenant le matériel et méthodes utiliser avec les résultats obtenus et leurs discussions. En fin nous achevant notre travail par une conclusion générale qui représente les principales recommandations et perspectives conduisant à un stockage idéal.

Chapitre I : Généralités sur le safran

Chapitre I : Généralités sur le safran

1. Historique et origine

Le safran a une longue et vaste histoire d'utilisation. Preuve de la culture de *Crocus sativus* qui s'étend sur de nombreuses cultures, continents et civilisations, le safran qui a été trouvé dans des écrits et des œuvres d'art datant de plus de 3000 ans (Lunsford et Zenger, 2009). La culture de la Crète minoenne a été sélectionnée à l'âge du bronze (Mezabri, 2019). Vers 1500 avant JC où la femme porte les fleurs à des fins cosmétiques et coloration des cheveux. Le safran apparaît d'abord en Europe à travers la cultivation de « *Crocus Cartwrightianus* » en Grèce 2000 avant JC, puis en Turquie dans le village d'Urfa, Hivanet, Hapier 2400 avant JC ; et depuis des siècles au Maroc (El-Bernaoui, 2012 ; Mall *et al.*, 2017).

Historiquement, le mot safran remonte à 10000 ans, il dérive du mot "zarparan" dans la langue dari qui signifie que les stigmates de la fleur évaluent la même chose que l'or comme un métal précieux et cher et ce mot avait été tourné au safran plus tard (Katawazy, 2013). Qui peut même remonter à l'empire assyrien (2300 avant JC) et vient du nom d'une ville appelée Azupirano (ville du safran). Il est dit différemment dans de nombreuses langues en pachto et en arabe, il est prononcé comme «Zaferan», en farsi et en turc, il est prononcé comme «Zefrun», en anglais «Safran», en espagnol «Azafran» et en français «Safrane» (Ordoudiet Tsimidou, 2004).

Le nom *Crocus* est dérivé de l'adjectif latin *crocat* et *krokos* par les Grecs qui signifie jaune safran, tandis que le mot arabe safran ou *zafaran* signifie jaune. Le mot safran peut provenir aussi du *sahafaran* persan, qui dérive d'*asfar*, ce qui signifie jaune (Gresta *et al.*, 2008). Les experts disent que le safran est depuis longtemps cultivé en Iran, Inde, Chine, Espagne, Egypte, Grèce, Italie, France et le nord d'Afrique (Bergoin, 2005).

Malgré les différences qu'il y a sur l'origine du safran, les Iraniens disent que le safran est originaire de Zagross et Montagnes d'Alvand (Mall *et al.*, 2017). Se poursuivant à travers une bande géographique qui comprend l'Iran, l'Afghanistan et la méditerranée. Certains auteurs disent que son origine est le Moyen-Orient, tandis que d'autres suggèrent l'Asie centrale ou les îles du sud-ouest de la Grèce et se sont répandues en Inde, Chine et Moyen-Orient, à partir de ces derniers pays les Arabes ont répandu le safran dans tout le bassin méditerranéen comme dans le Maroc, où il a probablement été introduit au 9^{ème} siècle (Mezabri *et al.*, 2019).

Le safran est considéré comme divin et depuis longtemps apprécié pour son effet médicinal, aromatique (parfums), artistique (colorants) et ses utilisations culinaires (Lunsford et

Zenger, 2009). L'obligation de produire de grands volumes de fleurs afin d'obtenir de petites quantités de safran a assuré sa grande valeur de l'antiquité jusqu'aujourd'hui.

2. Description botanique et classification

C'est une plante herbacée vivace d'une hauteur de 20 à 30 cm qui se développe à partir des bulbes de formes variables (5 cm environ), qui a la capacité de grandir chaque année et ce reproduire pour donner des gros et petits bulbes filles (Rashed-Mohassel *et al.*, 2006).

Le safran dispose de feuilles herbeuses droites et très étroites de couleur vert foncé qui poussent après les fleurs (Figure 01). La floraison se produit à l'automne, les fleurs sont composées d'un périanthe de 6 pétales de couleurs violettes et d'une corolle de 3 étamines (étamine de couleur jaune). À partir d'un ovaire inférieur sort un style. La division de ce dernier permet l'apparition des stigmates sous forme de 3 filaments de couleur rouge et d'une longueur de 30 millimètres environ (Mezabri, 2019).



Figure 01 : Morphologie de *Crocus sativus* (plante, bulbes, feuilles et fleurs) (Mezabri, 2019).

La classification scientifique du safran est donnée comme indiqué dans le tableau I.

Tableau I : Classification taxonomique du safran.

Règne	Végétal
Division	Spermatophyte
Sous-division	Angiosperme
Classe	Monocotylédone
Sous-classe	Corolifère
Ordre	Liliales
Famille	Iridaceae
Genre	<i>Crocus</i>
Espèce	<i>Crocus sativus</i> L.

3. Distribution géographique

La localisation géographique du safran selon la culture et les données archéologique et historique est principalement l'Iran (province du Khorasan) et la Grèce, l'Espagne (La mancha, Alicante, Murcia), Inde (cachemire), ainsi que le Maroc (la ville de tillouine) (Dubois, 2010) qui sont les premiers exportateurs au monde. Au second lieu y a la chine, la France, l'Italie, les États-Unis, le Japon et la Turquie (Yasmin et Nehvi, 2012).

4. Types du safran

Ils existent différents types de safran selon la cultivation de pays producteur, et de la réalisation de la coupure qui est typiquement distincte d'une longueur à une autre.

- **Selon le pays producteur :** Le safran venu d'Espagne est caractérisé par une douceur de couleur, d'arôme et de saveur. Celui de l'Italie est plus puissant avec une teneur élevée de safranal et de crocine, il s'appelait « Aquila » qui définit un arôme piquant et une couleur intense, la variété la plus intense a tendance à être Iranienne. Le safran du Cachemire est parmi les plus sombres safrans du monde avec une couleur marron-violet et une forte saveur et arôme (Golmohammadi, 2014).
- **Selon la coupure :**
 - **Safran de type Poshal-Negin Poshal (Iran) ou Mancha (Espagne) :** La coupe se fait 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. (Moghadam, 2020).

La figure 02 représente les différents types de safran selon la coupure.

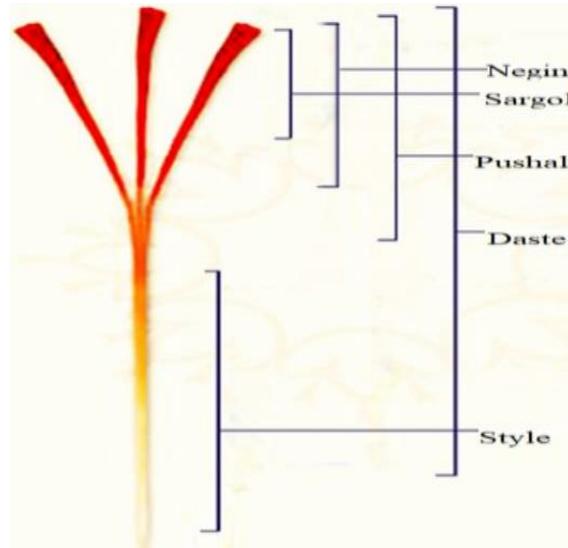


Figure 02 : Différents types de safran (Negin, Sargol, Pushal, et Daste) (Moghadam, 2020).

5. Étapes de production et de transformation du safran

5.1. Récolte

C'est une étape importante qui commence par la cueillette des fleurs, la floraison de cette plante se déroule en automne (de la fin de septembre jusqu'à la fin de novembre).

Les fleurs sont cueillées le matin tôt avant l'ouverture des pétales pour maintenir une bonne qualité du safran (Golmohammadi, 2014), car le soleil affecte négativement la structure chimique du safran et favorise la dégradation de la crocine et la diminution de sa teneur détériore la qualité des stigmates (perte de couleur), la récolte se fait quotidiennement puisque la durée de vie des fleurs de safran est de 48h (Ghizzoni, 2018).

5.2. Emondage

Après la cueillette un traitement hygiénique devrait se faire pour éliminer tout corps étranger, le nettoyage nécessite un environnement et des opérateurs propres (El-Bernaoui, 2012). L'action d'émondage et de séparation des stigmates de reste de la fleur s'effectue manuellement et immédiatement après la cueillette pour garantir une qualité optimale (Esmaeilpour et Kadavani, 2011), les styles ne sont coupés ni trop bas ni trop haut selon la ramification de couleur voulue du jaune au rouge qui conditionne aussi la qualité du safran. L'émondage s'effectue traditionnellement, ou à l'aide d'une machine semi-automatique qui est un ventilateur qui sépare les stigmates du reste de la fleur par l'air.

5.3. Séchage

Le séchage conditionne la qualité organoleptique du safran (goût, arôme et couleur), qui dépend respectivement de la teneur de la picrocrocine, safranal et crocine. Ces derniers présentent une sensibilité contre la chaleur élevée, ce qui nécessite un traitement soigneux et adéquat pour garantir la qualité marchande (Maghsoodi *et al.*, 2012).

Le processus de déshydratation consiste à étaler les stigmates sur un tamis ou une planche de tissu bien propre puis laisser se sécher doucement à l'air et à l'abri du soleil pendant quelques jours (Esmailpour et Kadavani, 2011). Ou avec la température qui constitue les méthodes de séchages artificielles réalisées grâce à des micro-ondes (l'énergie chauffante à travers le convertit la lumière du soleil en électricité, un séchage infrarouge, couche mince ou même par une lyophilisation (Koocheki *et al.*, 2020).

5.4. Conditionnement et conservation

La conservation du safran est mieux faite à l'obscurité dans des réceptions en verre hermétiquement fermés avec une atmosphère modifiée, pour éviter toute éventuelle contamination ou oxydation des composés du safran. Puis ils sont conditionnés à des basses températures (5-10°C) pour maintenir la bonne qualité plus longtemps (Gresta *et al.*, 2008).

La figure 03 montre les étapes de la récolte du safran (cueillette, émondage, séchage et conditionnement).



Figure 03 : Etapes de la récolte du safran (cueillette, émondage, séchage et conditionnement).

6. Production et commercialisation du safran

6.1. Production mondiale

La plus grande part de la production mondiale provient d'une large ceinture qui s'étend de la mer Méditerranée au Cachemire occidentale (Palomares, 2015). Entre 2012 et 2016, les plus grands pays producteurs de safran sont l'Iran, la Grèce, l'Espagne, la Turquie, l'Inde et le Maroc (Mortazavi *et al.*, 2012), avec 111 000 ha de fermes de safran et environ 404 tonnes de production en 2018, l'Iran et plus exactement sur les provinces de Khorasan est la principale source d'approvisionnement de safran au monde (Koocheki *et al.*, 2020).

Selon Negbi, l'Inde et le Cachemire venant avec un rendement de 30 à 40 t/an, suivi par le Maroc et l'Italie par 2 à 3 t/an et 100 kg/an respectivement, puis arrivent quelques petites productions françaises et suisses, avec le safran du Gâtinais et du Quercy avec un rendement de 6 kg/an et du Mund avec 1,5 à 3 kg/an (Negbi *et al.*, 1999). Récemment l'Algérie a lancé la production du safran dans 25 Wilayas.

6.2. Commercialisation

Le safran est une épice rare et chère, un gramme de safran coûte 30 à 40 € ou bien 30 000 € pour le kilo (Bergoin, 2005). Le prix élevé du safran s'explique par la difficulté de sa récolte et l'obtention du safran sec (150 000 à 200 000 fleurs/Kg) (Acar *et al.*, 2011).

L'Iran est le principal producteur de safran, bien que plus de 90% (Maghsoodi *et al.*, 2012 ; Moratalla-López *et al.*, 2019) du safran mondial y produit, une part importante de la valeur ajoutée du safran appartient à d'autres pays en raison du secteur de transformation peu développé de l'Iran (Koocheki *et al.*, 2020). L'Iran et l'Espagne ont occupé la première et la deuxième position respectivement dans l'exportation de safran. La Grèce occupe la troisième position, dans la majorité des années (Koocheki *et al.*, 2020).

L'Arabie saoudite, les Émirats du Golfe et les États Unis sont les plus grands importateurs du safran (Negbi *et al.*, 1999).

La figure 04 représente les principales nations productrices de safran.

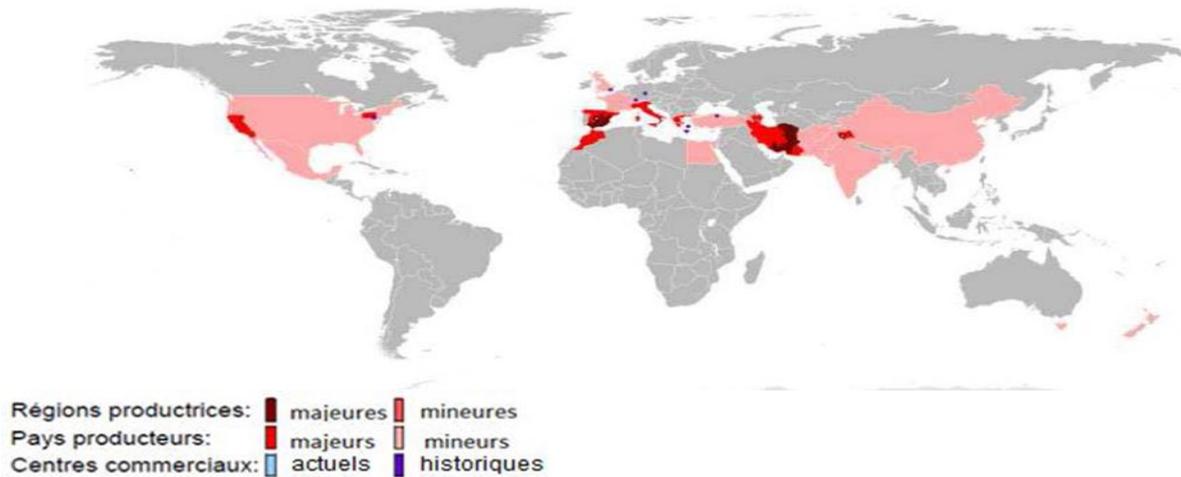


Figure 04 : Principales nations productrices de safran (Palomares, 2015).

7. Domaines d'application du safran

7.1. Peinture et textile

La couleur jaune d'or du safran est utilisée dans la peinture (Mousavi *et al.*, 2011), la teinture des textiles (José *et al.*, 2005), et l'agroalimentaire (Begoïn, 2015).

De tout temps, le colorant naturel est utilisé dans de nombreuses applications telles que l'industrie de textile (Kamel *et al.*, 2009) et des moquettes. La teinture des fibres de laine (Besker et Negbi, 1983 ; Winterhalter et Straubinger, 2000 ; Yasmin et Nahvi, 2012), la soie, le coton (Besker et Negbi, 1983; José *et al.*, 2005 ; Kamel *et al.*, 2009 ; Yasmin et Nahvi, 2012), les chapeaux et les costumes traditionnels de femmes (Negbi *et al.*, 1999 ; Begoïn, 2015), les robes hindoues, le châle Pashmina (Bathaie *et al.*, 2014) ainsi la robe de mariée (Besker et Negbi, 1983) et les moines bouddhistes (Begoïn, 2015).

7.2. Côté cuisine

Le safran a été utilisé à la fois comme épice et comme agent colorant (Selim *et al.*, 2000 ; Saito, 2004 ; Amin *et al.*, 2014 ; Hosseinzadeh *et al.*, 2014 ; Karasu *et al.*, 2019) à des fins culinaires depuis les temps anciens (Tavakkol-Afshari *et al.*, 2008 ; Srivastava *et al.*, 2010 ; Bathaie *et al.*, 2014 ; Mzabri *et al.*, 2019).

Il est utilisé en nourriture (Tsimidou, 1997; Sanchez *et al.*, 2011; Hosseinzadeh *et al.*, 2014; Moratalla-López *et al.*, 2019) dans la préparation des plats, en Iran (chelow kabab), en Inde (biryani), en Espagne (la Paella), en Italie (Risotto), en France (bouillabaisse), au Maroc (les koftas) ; ainsi dans les boissons ; les infusions et les thés (Mzabri *et al.*, 2019) comme au Cachemire appelé Kehwa (Koocheki *et al.*, 2020) ; les desserts et même dans la décoration des aliments (Gregory *et al.*, 2005 ; Srivastava *et al.*, 2010).

7.3. En industries

Le safran est largement utilisé dans différentes industries (Sanchez *et al.*, 2011 ; Moratalla-López *et al.*, 2019 ; Karasu *et al.*, 2019) telles que les confiseries, les industries de boissons alcoolisées, coloration des saucisses, les margarineries (production des oléo-margarines), les industries laitières comme le beurre, le fromage et la crème glacée comme colorant et améliorant de saveur (Koocheki *et al.*, 2020).

Depuis l'antiquité une large gamme d'aliments a été améliorée afin de perfectionner l'appétence, y compris la crème ou le fromage, poulet et viande, riz, gâteaux, mayonnaise (Besker et Negbi, 1983).

7.4. Cosmétologie

Le safran est un ingrédient essentiel des produits cosmétiques aujourd'hui et dans les préparations de beauté anciennes et comme maquillage pour le visage (Moratalla-López *et al.*, 2019 ; Mzabri *et al.*, 2019).

Grâce à son pouvoir antioxydant et son effet anti-vieillessement, le safran a également été utilisé à des fins cosmétiques (Bathaie *et al.*, 2014), sans oublier ses propriétés antisolaires et hydratantes, qui contribuent dans la prévention du cancer de la peau (Khorasany *et al.*, 2015).

Ainsi que dans les traditions iraniennes et grecques, le safran est utilisé pour l'amélioration du teint, le traitement de l'érysipèle, rafraîchir la peau du visage, soigner l'acné et les maladies de la peau, les plaies etc., en effet, cela peut rendre le corps plus jeune et plus lumineux (Khorasany *et al.*, 2015).

7.5. Histologie

Le safran assure une tache histologique, en tant que colorant pour le tissu conjonctif. (Srivastava *et al.*, 2010). Il est utilisé en combinaison avec l'hématoxyline et la phloxine pour améliorer les méthodes de coloration histologique animale et humaine (Negbi *et al.*, 1999).

7.6. Parfumerie

Le safran utilisé dans la préparation des parfums (Kamalipour *et al.*, 2011 ; Mousavi *et al.*, 2011 ; Hosseinzadeh *et al.*, 2014 Ahmad Shah *et al.*, 2017) et essences en Moyen-Orient (Saito *et al.*, 2004), le safran est le composé responsable de l'odeur adorable du safran (Palomares, 2015).

L'utilisation du safran remonte à l'Égypte ancienne et à Rome, où il a été utilisé comme colorant dans le parfum (Tavakkol-Afsharien *et al.*, 2008) ; en effet, le safran est parmi les

premières plantes utilisées pour produire des parfums huileux et aqueux et des huiles cosmétiques.

En Iran, le safran était reconnu comme une substance aromatique, il a été traité de différentes manières pour aromatiser et décorer la peau et garder-le frais (le brûler ainsi que l'appliquer comme essences pour remplir les espaces de parfum) (Bathaie *et al.*, 2014).

8. Effets thérapeutiques du safran

De nombreuses nations utilisent le safran pour soigner de nombreuses maladies depuis des siècles et diverses activités pharmacologiques et médicinales (Abdullaev, 2002) du safran et de ses constituants ont été largement étudiées.

Des nouvelles recherches approuvent que le safran et ses constituants aient plusieurs effets thérapeutiques sur divers tissus et organes ; on compte le système cardio-vasculaire (Mehrnia *et al.*, 2016 ; Moratalla-López *et al.*, 2019), l'hypertension (Ghaffari *et al.*, 2019) athérosclérose, le système immunitaire, le système nerveux central (Milajerdi *et al.*, 2015), le système génétique... (Gregory *et al.*, 2005), les yeux (la vision), le système respiratoire, la fonction érectrice, le désordre de l'utérus... (Mousavi *et al.*, 2011).

Les propriétés thérapeutiques du safran peuvent être dues aux importantes propriétés de ses composants bioactifs ; antispasmodique, agent sédatif gingival et nerveux, anti-obésité et aussi la fonction de détoxification d'alcool (Mecocci *et al.*, 2014 ; Rahaiee *et al.*, 2015), il a été utilisé dans diverses cultures anciennes pour renforcement de la digestion, soulagement de la toux (anti-toussif) (Poma *et al.*, 2012), lissage des menstruations (Das *et al.*, 2010 ; Khorasany *et al.*, 2015), relaxation des spasmes musculaires, apaisement de l'anxiété, et amélioration de l'humeur (Ahmad Shah *et al.*, 2017).

8.1. Action sur le système nerveux

L'administration orale de safran peut être utile comme traitement des troubles neurodégénératifs (Maccarone *et al.*, 2008 ; Khorasani *et al.*, 2008) accompagnés des troubles de mémoire. (Milajerdi *et al.*, 2019).

Deux constituants du safran, le safranal et la crocine, marquent une activité antidépressive (Schmidt *et al.*, 2007) chez la souris (Ahmad Shah *et al.*, 2017). La crocine peut également être efficace contre les dommages neurodégénératifs causés par le stress oxydatif (Riazi *et al.*, 2016).

8.2. Amélioration des troubles cognitifs du sujet âgé

Traditionnellement, le safran a été utilisé pour améliorer les fonctions cognitives et atténuer les autres fonctions associées à la maladie d'Alzheimer (Akhondzadeh *et al.*, 2010 ; Mecocci *et al.*, 2014).

Les deux principaux ingrédients du safran, la crocine et la crocétine, améliorent la mémoire (Abdullaev, 2006) et les compétences d'apprentissage (Mecocci *et al.*, 2014) ainsi que cette dernière peut interagir avec les systèmes glutamatergique, cholinergique et dopaminergique pour prévenir le parkinsonisme (Poma *et al.*, 2012 ; Khorasany *et al.*, 2015).

8.3. Amélioration des troubles de la vision liée à l'âge

Le safran été utilisé dans le traitement des troubles oculaires (Heitmar *et al.*, 2019) et rétinaux, des recherches indiquent que des analogues de crocine isolés du safran augmentaient la circulation sanguine dans la rétine et la choroïde ainsi que la récupération facilitée de la fonction rétinienne et ainsi pour être utilisé pour le traitement de la rétinopathie ischémique et/ou la dégénérescence maculaire liée à l'âge (Xuan *et al.*, 1999 ; Abdullaev, 2006 ; Poma *et al.*, 2012). Le safran peut réduire plusieurs maladies oculaires telles que les cataractes (Besker et Negbi, 1983 ; Javadi *et al.*, 2012), la dégénérescence rétinienne, la mort des cellules photoréceptrices à médiation lumineuse.

8.4. Amélioration du dysfonctionnement sexuel masculin

Le safran a marqué un effet dans la médecine traditionnelle en tant qu'un stimulant aphrodisiaque (Khazdair *et al.*, 2015) pour une amélioration de la fonction sexuelle (Modabbernia *et al.*, 2012) chez l'homme et la femme (Khorasany *et al.*, 2015) ; un agent d'avortement (Ahmad Shah *et al.*, 2017) et bien qu'une aide au cours de l'accouchement, un diurétique et un purificateur des reins et de la vessie (Das *et al.*, 2010).

8.5. Protection du système cardiovasculaire

Il a également été utilisé pour l'abaissement de la tension artérielle (Khorasani *et al.*, 2008), et comme un agent cardiotonique (Tavakkol-Afsharien *et al.*, 2008) et dans le traitement des troubles respiratoires, comme il a une action d'agrégation antiplaquettaire importante (Poma *et al.*, 2012) et de la prévention l'athérosclérose (Rahaiee *et al.*, 2015).

8.6. Amélioration du métabolisme glyco-lipidique

Il est connu pour ses effets anti-gastriques (Al-Mofleh *et al.*, 2006 ; Tamaddonfarda *et al.*, 2019), anti-stomacal et anti-génotoxique (Poma *et al.*, 2012), anti-lipidique (Mashmoul *et al.*, 2013 ; Ghaffari *et al.*, 2019), par la neutralisation de l'acide gastrique, le nettoyage de l'estomac,

l'augmentation de la digestion des aliments, le renfort du foie et de l'estomac (Moratalla-López *et al.*, 2019) et la diminution de l'appétit (Khorasany *et al.*, 2015).

8.7. Propriétés anti-oxydantes et anti-inflammatoires

En plus, le safran est un agent anticancéreux (Tavakkol-Afsharien *et al.*, 2008 ; Maccarone *et al.*, 2008) et anti-tumoral (Rahmani *et al.*, 2017 ; Veisi *et al.*, 2019). Un chélateur de métaux lourds (Moshiri *et al.*, 2014). Antioxydant (Purushothuman, 2015 ; Riazi *et al.*, 2016), anti-inflammatoire (Boskabady *et al.*, 2016 ; Rahmani *et al.*, 2017 ; Tamaddonfarda *et al.*, 2019), antitoxique (Mashmoul *et al.*, 2013 ; Bathaie *et al.*, 2014), antibiotique (Koocheki *et al.*, 2019), antimicrobien, hépato-protecteur (Javadi *et al.*, 2012 ; Rahmani *et al.*, 2017) et une activité antidiabétique (Al-Mofleh *et al.*, 2006 ; Dehghan *et al.*, 2016), et un immuno-modulateur (Boskabady *et al.*, 2014).

La stigmatisation de safran et les extraits de pétales ont montré des effets antinociceptif (Hosseinzadeh *et al.*, 2002 ; Abdullaev, 2006), cytotoxiques et antimutagènes (Bharate *et al.*, 2018), ainsi une activité antidiabétique (Al-Mofleh *et al.*, 2006 ; Dehghan *et al.*, 2016).

Chapitre II : Composition du safran

Chapitre II : Composition du safran

9. 1. Composition chimique du safran

Cette épice est très riche, car son analyse a révélé plus de 150 composés volatils, et d'autres non volatiles. On trouve 63% sont des glucides y compris des pentoses, xylulose, et des traces de rhamnose ainsi que la picrocrocine qui est un glycoside avec une fraction sucrée responsable du goût amer de safran, ce dernier peut se transformer en safranal après séchage et sert d'huile essentielle. Elle est composée aussi de pigments responsables de sa coloration principalement la crocine et ses cinq types (crocine 1 à 5) et la crocétine qui sont des caroténoïdes y compris la β -carotène, le lycopène et la zéaxanthine (Ahmad Dar *et al.*, 2017).

Le safran est composé aussi de 5% de gras qui sont des fractions stéroliques, 12% de protéine et 5% de minéraux (Cl ; Mg ; Fe ; Ca...), et de vitamine (riboflavine et thiamine), ainsi qu'une quantité minimale d'eau, cependant les proportions de ces constituants peuvent varier en raison des conditions de croissance et du pays d'origine (Melnyk *et al.*, 2010).

10.

2

. Principaux composants du safran

Plusieurs études ont été réalisées afin de déterminer la composition du safran, selon les dernières décennies, il est constitué de caroténoïdes et flavonoïdes.

2.1. Caroténoïdes

Ce sont les composants majeurs caractéristiques du safran, c'est des métabolites secondaires qui constituent un large groupe de pigments naturels présents dans les plantes y compris le safran, ils sont responsables de la couleur jaune, orange et rouge.

Ce sont des tétra-terpénoïdes C_{40} qui possèdent de doubles liaisons conjuguées dans leurs structures, ils comprennent le lycopène, la β -carotène et la zéaxanthine ainsi que la crocétine qui est un apocaroténoïdes C_{20} formé par l'élimination des fragments du squelette carboné (généralement par clivage oxydatif) d'un caroténoïde C_{40} (Siracusa *et al.*, 2011).

Les caroténoïdes possèdent la propriété d'agent préventif contre plusieurs maladies du cancer (prostate et sein), également d'antioxydants qui procure ainsi la protection contre certaines maladies dégénératives (dégénérescence maculaire de l'œil), sont aussi source de vitamine A (Fernández *et al.*, 2004).

2.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes appartiennent au groupe de polyphénols, le principal composant de ces flavonoïdes est l'acide gallique (Karimi *et al.*, 2010).

Ce composé phénolique présent principalement dans les pétales du safran a montré un pouvoir antioxydant élevé, ce qui valorise les pétales de cette plante comme source d'antioxydants naturels (Hosseini Goli, 2012).

Les flavonoïdes du safran sont nommés aussi flavonols, ou kaempférols, ils ont tous le même squelette de base à quinze atomes de carbones de configuration C₆-C₃-C₆ de type phényl-2-benzopyrane.

11.

3

. Substances bioactives caractéristiques au safran

Les stigmates du safran contiennent 3 composantes clés, la crocine responsable de la couleur caractéristique du safran (c'est des caroténoïdes hydrosolubles), la picrocrocine responsable du goût amer et la safranal qui est un arôme typique du safran (c'est une huile essentielle) (Mashmoul *et al.*, 2013).

La biosynthèse des substances bioactives du safran sont présentés dans la figure 05.

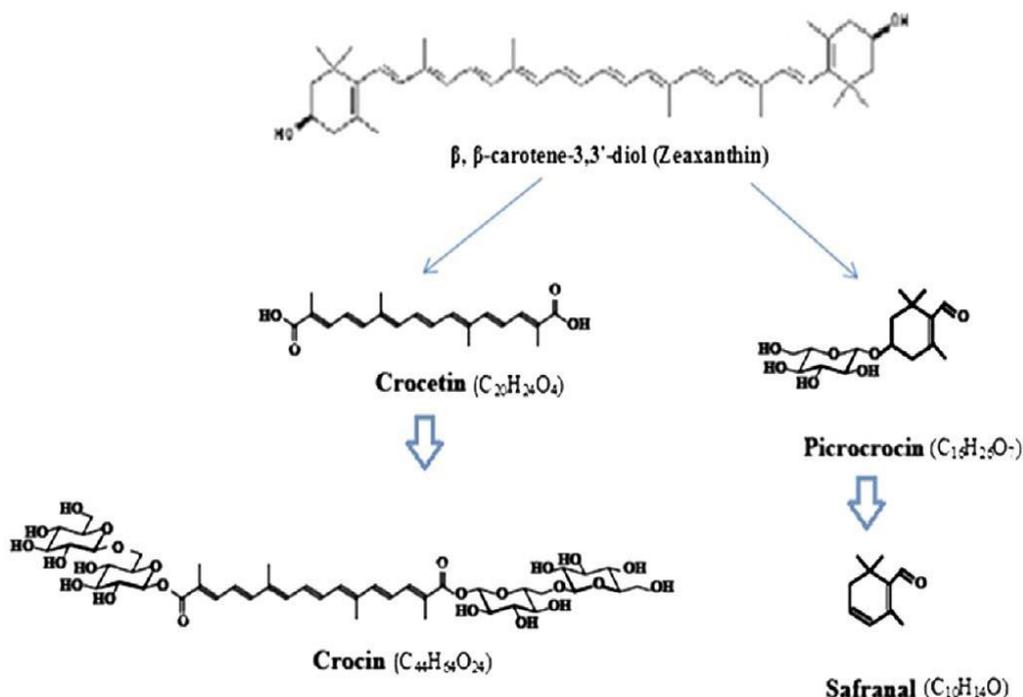


Figure 05 : Biosynthèse de la crocétine, la crocine, la picrocrocine et du safranal à partir du clivage oxydatif de la zéaxanthine (Begoin, 2005).

3.1. Crocétine

La crocétine est une molécule liposoluble de formule chimique brute ($C_{20}H_{24}O_4$) et un nom IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) : Acide (2E,4E,6E,8E,10E,12E,14E)-2,6,11,15-Tetraméthyl-2,4,6,8,10,12,14 hexadecaheptaènedioïque (Palomares, 2015). La figure 06 représente la structure chimique de la crocétine.

C'est un polyène de diacide carboxylique conjugué hydrophobe, et donc liposoluble (Tsimidou et Tsatsaroni, 1993).

Ce sont des métabolites secondaires bio-synthétisés par deux voies : la dégradation oxydative de la zéaxanthine, et la dimérisation de deux composés en C_{10} des géranyl-pyrophosphates (GPP), suivie de réactions de déshydrogénation et d'oxydation. Cependant, pour la deuxième voie, l'absence de précurseurs de la crocétine de type hydrocarbures en C_{20} dans le safran écarte la biosynthèse de la crocétine (Begoin, 2005).

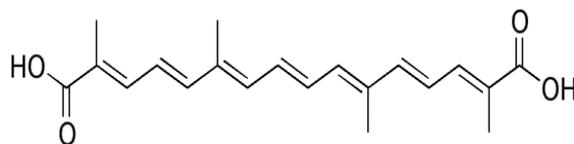


Figure 06 : Structure chimique de la Crocétine (Talbi et Medjbar, 2017).

3.2. Crocines

3.2.1. Définition

La crocine est le principal colorant du *Crocus sativus*, appelé aussi α -crocine connu aussi sous le nom IUPAC [8,8'-diapocarotène-8,8'-dioïque acide bis (6-O- β -D-glucopyranosyl-Dglucopyranosylester)], sa formule brute est ($C_{44}H_{64}O_{24}$) (Palomares, 2015).

C'est un diester formé à partir du disaccharide gentobiose et l'acide dicarboxylique (la crocétine), via une réaction d'estérification des sucres de types glucosyle, gentiobiosyle, 3- β -D glucosyle, néapolitanosyle (Begoin, 2005). Elles constituent le majeur composant actif du safran et l'unique caroténoïde hydrosoluble dans la nature (Christodoulou *et al.*, 2015), en raison de sa solubilité dans l'eau, elle est très utilisée en alimentaire et en pharmaceutique comme colorant, voir d'autres applications (Alonso *et al.*, 1990).

3.2.2. Propriétés des crocines

- Les crocines sont polaires, solubles dans l'eau seule, dans le mélange eau/éthanol ; et aussi dans le mélange eau/méthanol (Alonso *et al.*, 2000).
- Les crocines ont une activité optimale à 40°C, sont naturellement présentes sous forme trans (la configuration la plus stable), mais un léger chauffage entraîne une isomérisation vers la configuration cis, moins colorée (Begoin, 2005).
- Les crocines sont sensibles à la lumière et absorbent à 440 nm (Gregory *et al.*, 2005).
- Les crocines ont une activité anti-oxydante (Christodoulou *et al.*, 2015), et sensible aux pH bas (Bathaie *et al.*, 2014).
- Les crocines se dégradent dans des humidités élevées (Atyane *et al.*, 2017 ; Chaouqi *et al.*, 2018).
- Les crocines ont une stabilité vis-à-vis les antioxydants et les conservateurs (Begoin, 2005).

3.2.3. Biosynthèse des crocines

La crocine se forme sous l'action de l'enzyme « glucosyl-transférase » sur la fonction carboxylique de la crocétine et un groupement hydroxyle du sucre pour former la liaison ester.

A l'origine, le safran contient une molécule appelée « la zéaxanthine » qui est l'origine de la synthèse d'une molécule de la crocétine et deux molécules de picrocrocine ; qui se forme par le clivage des doubles liaisons de cycle de zéaxanthine (Begoin, 2005).

3.2.4. Dégradation des crocines

La dégradation des métabolites secondaires, lors du stockage du safran, reste complexe et peu connu notamment la dégradation des crocines ; plusieurs facteurs jouent un rôle dans leur dégradation ;

La température élevée ou douce (30°C ou 60°C) et le temps de séchage très long ou rapide (25-53h ou 2-4h) provoque la biodégradation thermique de la crocine par la rupture de la liaison glycosidique au sein de cette molécule ;

Pour des températures supérieures ou égales à 25°C et des humidités relatives supérieures ou égales à 23 %, sachant que l'humidité des stigmates est de 4-10%, la crocine s'auto-oxyde dans le temps ce qui s'explique par la fonction protectrice des caroténoïdes au sein des cellules et qui s'accélère par la lumière. La solubilité de la crocine dans l'eau favorise

son contact avec l'oxygène. La crocine s'hydrolyserait en crocétine (incolore) au sein des stigmates ; ainsi qu'une humidité relative (a_w) entre $[0,43 < a_w < 0,53]$ dégrade la crocine ;

La lumière induit une isomérisation de la crocine de la forme trans vers la configuration cis ; ce qui est dû à la structure polyénique des caroténoïdes, qui est sensible à des dégradations thermiques et enzymatiques ;

Les pH bas et les milieux humides favorisent la dégradation de la crocine (Begoin, 2005).

3.3. Picrocrocine

La principale substance responsable du goût amer du safran est la picrocrocine, de formule brute ($C_{16}H_{26}O_7$) et un nom IUPAC (4-(P-D-glucopyranosyloxy)- 2, 6,6-triméthyl-1-cyclohexene-1-carboxaldehyde)(Alonso *et al.*, 1990).

La Picrocrocine est le second composé le plus important en masse, représentant 1 à 13% des matières sèches du safran, elle est découverte par Kajser (Christodoulou *et al.*, 2015).

Il s'agit d'un mono-terpène glycosylé (Alonso *et al.*, 2000), inodore et incolore (Benmostefa et Guellil, 2017) issu de la dégradation du caroténoïde zéaxanthine et précurseur d'un autre composé chimique important qui est le Safranal (Palomares, 2015) via l'action de la « β -glucosidase » (Chaouqi *et al.*, 2018).

La Picrocrocine est soluble dans les solvants polaires ; et insoluble dans les solvants apolaires. Elle est plus soluble dans l'eau que dans une solution alcoolique (eau/alcool) (Alonso *et al.*, 2000).

La structure chimique de la picrocrocine est représentée dans la figure 07.

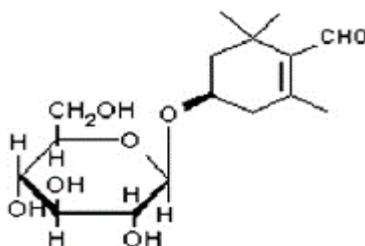


Figure 07 : Structure chimique de la picrocrocine (Palomares, 2015).

3.4. Safranal

Le safran contient 0,4 à 1,3 % d'huile essentielle, c'est un aldéhyde aromatique est le composé majoritaire de la fraction volatile du safran, il représente 82,82 % de cette fraction (Palomares, 2015).

Le safranal de formule brute ($C_{10}H_{14}O$) et du nom IUPAC (2, 6,6-triméthyl-1,3-cyclohexadiène-1-carboxaldéhyde) qui est à son tour le composé responsable de l'arôme du safran (Christodoulou *et al.*, 2015). Dans les conditions normales, le safranal est généré par voie chimique, hydrolyse, ou enzymatique, grâce à la β -glucosidase, à partir d'un intermédiaire 4-hydroxy-2,6,6-triméthyl-1-cyclohexène-1-carboxaldéhyde (HTCC) (Sanchez *et al.*, 2011).

Par contre, avec des traitements de chaleur élevés ou dans des milieux acides ou basiques il se forme directement par déshydratation de la picrocrocine.

Dans les stigmates frais du safran, le safranal est présent en état de traces ou totalement absent. Sa concentration dépend des conditions de séchage et de stockage de safran (Begoin, 2005).

Le safranal a une propriété d'insolubilité dans l'eau (Gregory *et al.*, 2005), sa structure chimique est représentée dans la figure 08.

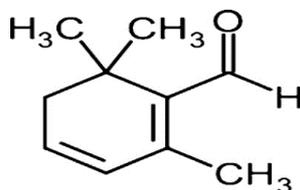


Figure 08 : Structure chimique du safranal

Partie expérimentale

Partie expérimentale

1. Matériel et méthodes

1.1. Matière végétale

Les fleurs de *Crocus sativus* sont récoltées en mois d'octobre 2018 à la ferme de recherche de la commune d'Iben Badis ; distante de 40 km du chef-lieu de la willaya de Constantine.

Les stigmates du safran sont récupérés de la fleur manuellement ; par la suite séchés à l'air libre pendant une dizaine de jours pour avoir du safran sec. Quinze grammes de ce dernier sont transportés au laboratoire de Biochimie Alimentaire où sont broyés à l'aide d'un mortier et pilon puis le broyat est passé à travers un tamis de mailles de diamètre de 0,25 mm. La poudre obtenue est mise dans un flacon opaque en inox fermé hermétiquement puis conservée au congélateur (figure 09).



Figure 09 : Echantillon du safran : (a) flacon de conservation, (b) stigmates et (c) poudre du safran.

❖ Préparation de l'extrait

L'extraction par macération est utilisée pour la préparation de l'extrait du safran, la poudre de safran est mise dans un petit bécher avec un solvant (eau ou tampon), à l'aide d'une plaque d'agitation magnétique l'agitation est faite avec une vitesse de 400 rpm (rotation par minute) pendant une durée de 20 minutes selon les normes ISO 3632-2 : 2010.

Pour vérifier la qualité du safran analysé, l'extinction spécifique de l'extrait du safran est calculée selon la formule suivante : $E_{1cm}^{1\%}(\lambda_{max}) = \frac{D \times 200}{m(100 - W_{mv})}$

Où $E_{1cm}^{1\%}$ est l'extinction spécifique, D est l'absorbance à λ_{max} , m est la masse de l'échantillon du safran (g), W_{mv} est la fraction massique de l'humidité et de la teneur en matières volatiles de l'échantillon, qui est de 8%, 200 est le facteur de dilution.

❖ Préparation des tampons et des conservateurs

Le tampon phosphate à pH 7 est d'une molarité de 0,2M est préparé par la dissolution de l'acide sodium phosphate monobasique (H_2NaO_4P) et de la base conjuguée di-sodium hydrogène phosphate.

Les conservateurs sont préparés dans le tampon phosphate, le pH-mètre est utilisé pour l'ajustement des différents pH acides et basiques.

1.2. Etude de l'effet de stockage avec différents conservateurs et températures sur la crocine

La procédure consiste à mélanger 1,5ml d'extrait du safran avec 1,5ml de conservateurs (1 mg/ml du tampon), de tampons et une préparation avec H_2O comme témoin : acide citrique, acide ascorbique, EDTA, tampon phosphate à pH neutre (7), tampon à pH acide (pH 2 et 5), tampon à pH basique (8), ainsi que l'eau distillée. La préparation est faite pour différentes températures : température de réfrigération ($5^{\circ}C$), température ambiante ($20^{\circ}C$), et une température élevée ($35^{\circ}C$).

Les différentes préparations sont conservées aux températures indiquées (5, 20 et $35^{\circ}C$) et mesurées à des temps variables (0, 6, 8,9, 12, 16,23, 33 jours). La teneur en crocine est suivie par la mesure de l'absorbance à 440nm et les résultats sont exprimés en pourcentage de réduction relativement à la préparation initiale.

Le suivi de la cinétique de dégradation de la crocine est exprimé en pourcentages :

$$Taux\ de\ dégradation(\%) = \frac{|Abs_t|}{|Abs_{t0}|} - \frac{|Abs_t|}{|Abs_{t0}|}$$

Abs_{t0} : Absorbance initiale de la crocine ; Abs_t : Absorbance de la crocine à l'instant t

1.3. Optimisation du mélange de conservateurs

Cette optimisation est réalisée après avoir choisi trois conservateurs ayant les meilleures aptitudes de conservation de la crocine (acide ascorbique, acide citrique et EDTA). A cette fin, un plan de mélange en réseau est choisi.

L'extrait du safran est préparé par la mise de la poudre de safran avec un tampon puis agiter pendant 20 min. La procédure consiste à mélanger l'extrait (1,5ml) avec les conservateurs à différentes proportions de façon à avoir un volume final de 3ml. Les différentes combinaisons de conservateurs sont indiquées dans le tableau II. Les différentes préparations sont stockées à la température de $20^{\circ}C$ durant (0, 1, 7, 11, 19 et 28 jours). La teneur en crocine est suivie par

la mesure de l'absorbance à 440 nm et la demi-vie de la crocine est déterminé en utilisant le tracé linéaire de second ordre ($1/[crocine]=kt + 1/[crocine]_0$).

Tableau II : proportions de conservateurs d'un plan de mélange en réseaux

N°	Acide ascorbique	EDTA	Acide citrique	Extrait
1	0	0	1,5	1,5
2	0	0,5	1	1,5
3	0	1	0,5	1,5
4	1	0,5	0	1,5
5	0,5	1	0	1,5
6	0	1,5	0	1,5
7	0,5	0	1	1,5
8	1	0	0,5	1,5
9	1,5	0	0	1,5
10	0,5	0,5	0,5	1,5
11	0	0	0	1,5

1.4. Traitement statistique

Une analyse descriptive des résultats est réalisée à l'aide du logiciel Microsoft Office Excel 2013, afin de déterminer les moyennes, les écarts types des trois répétitions ainsi que les graphiques des cinétiques de dégradation et leurs équations. Une analyse de la variance (MANOVA, test LSD : Least Significant Difference) est appliquée à l'aide de logiciel STATISTICA 5.5 pour mettre en évidence les différences significatives entre les différentes préparations en fonction de la température, du milieu de conservation et la durée de stockage. Le degré de signification des données est pris à la probabilité $p < 0,05$. Le logiciel JMP 10 est utilisé pour la construction du plan de mélange ainsi que l'analyse des résultats.

2. Résultats et discussion

2.1. Détermination de la teneur de la crocine

ISO 3632 propose trois catégories I, II et III classées en fonction de plusieurs paramètres (Annexe 01) dont l'intensité de la couleur (exprimer en crocine), le goût (exprimer en picrocrocine) et le pouvoir aromatique (exprimer en safranal).

Selon l'extinction spécifique calculée (262,5), le safran étudié présente un pouvoir colorant appartenant à la catégorie I.

2.2. Etude de l'effet de stockage avec différents conservateurs et températures sur la crocine

L'effet des conservateurs sur la cinétique de dégradation de la crocine au cours de la conservation à la température de 5°C à pH 7 est montré dans la figure 10 (A). Il est indiqué que la teneur de la crocine diminue très lentement avec l'acide ascorbique, au bout de la période de stockage (33jours), seulement 12% de la quantité du départ est dégradée. L'utilisation de deux conservateurs, l'acide citrique et l'EDTA, manifeste une rapide diminution de la crocine jusqu'au 16^{ème} jour avec respectivement une réduction de 65 et 70%. Par la suite, la dégradation continue, mais d'une manière moins intense pour atteindre des valeurs d'environ de 20% en fin de conservation. Le stockage de la crocine dans l'eau distillée et en absence de conservateur provoque une dégradation très rapide de la crocine où une perte de 80% a été enregistrée après 9 jours de stockage, puis elle continue avec une diminution lente et tend vers la stabilité à 6%. L'utilisation de conservateurs pour la préservation de la crocine à 5°C a permis de montrer un effet positif avec une très bonne protection avec l'acide ascorbique et faible avec l'acide citrique et l'EDTA.

La figure 10 (B) montre que la crocine se dégrade pour les quatre différents pH, mais de manières distinctes. En effet, la dégradation dans le pH 5 est moins intense suivie par les pH 7 et 8 et enfin le pH 2. L'allure des courbes de cinétique de dégradation peut être scindée en deux parties, une première qui se manifeste par une dégradation rapide de la crocine qui correspond aux durées de 15j (pH 5), 12j (pH 7 et 8) et 6j (pH 2), suivie d'une partie avec une dégradation faible. En fin de la période de la conservation, la teneur de la crocine restante dans les différents pH est faible, elle varie entre 3,32% (pH 2) et 15% (pH 5). La crocine est sensible à la variation du pH, à partir des résultats obtenus, le pH 5 est plus adéquat pour la conservation de la crocine.

Les résultats de stockage à 5°C montrent que l'acide ascorbique est le conservateur le plus efficace pour la conservation de la crocine, suivie successivement par l'EDTA, l'acide citrique, le pH 5, le pH 8 et le pH 7, l'H₂O et enfin le pH 2 (Annexe 02, figure A).

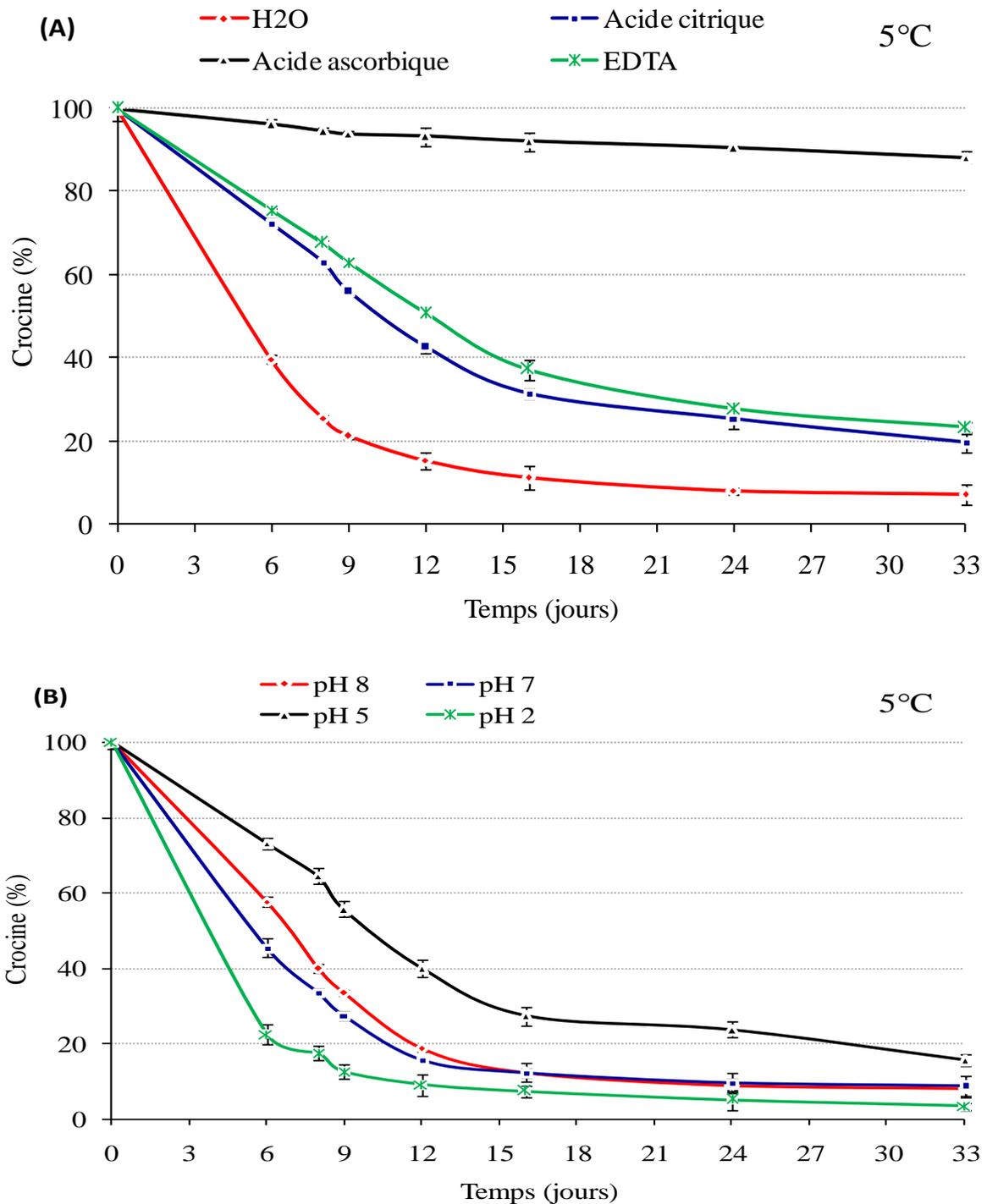


Figure 10 : Cinétique de dégradation de la crocine au cours de la conservation à la température de 5°C (A) effet des conservateurs et (B) du pH.

Effet des conservateurs sur la cinétique de dégradation de la crocine au cours de la conservation à une température de 20°C à pH 7 comme la figure 11 (A) l'illustre. La teneur de la crocine avec l'acide ascorbique diminue lentement voire à 85% au 9^{ème} jours. Puis elle continue de diminuer plus lentement jusqu'au 33^{ème} jours pour avoir une teneur de 80%, que 20% de diminution, une quantité importante pour un stockage de 33 jours. La crocine avec l'EDTA et l'acide citrique diminue rapidement jusqu'au 12^{ème} jours voire une teneur de 40% pour EDTA et de 30% pour l'acide citrique, elle ne cesse pas de diminuer jusqu'au 33^{ème} jours, respectivement avec une teneur d'environ 15% et de 10%. Avec H₂O une très grande dégradation voir que 15% de la crocine restante au 9^{ème} jours, elle continue de diminuer jusqu'à une stabilisation vers les derniers jours de stockage aux environs de 5%. De ce fait l'utilisation des conservateurs (acide ascorbique, EDTA, acide citrique) permet de conserver la quantité de la crocine dans l'extrait de safran mieux que l'eau distillé.

La figure 11(B) montre que la quantité de la crocine diminue au cours de stockage pour les quatre pH. On remarque que la diminution est lente pour le pH 5 que le pH 7 que le pH 8 que le pH 2. Cette dernière est toujours caractérisée par une diminution rapide de la teneur de la crocine comme dans la température de 5°C. Comme on peut voir pour le 6^{ème} jours la teneur de la crocine est de 60% pour le pH 5, et de 40% pour pH 7, et de 38% pour pH 8, et de 20% pour le pH 2. Et au 9^{ème} jours elle est respectivement de 40%, 22% ,20% et 12%. Et on remarque une poursuite de diminution jusqu'aux 16 jours avec 20% pour pH5 et aux environ de 7% pour le pH7 et 8 et de 5% pour pH 2. Suivie d'une stabilisation pour le pH 7 et 2. En analysant cette figure on peut dire que la conservation par le pH est mieux faite par le pH5 que le pH7 que le pH8, et que le pH2 ne conserve pas la crocine.

Les résultats de la figure si dessous montrent que c'est l'acide ascorbique qui conserve le mieux la teneur de la crocine au cours de stockage à une température de 20 °C. Suivie par EDTA et l'acide citrique qui conserve au moyen la quantité de la crocine puis le pH 5. Le pH 7 puis le pH 8 qui ne conserve pas trop la crocine comme le montre les faibles teneurs de la crocine au fil de stockage. En fin l'H₂O mieux que le pH 2 c'est une dégradation presque totale de la quantité de la crocine (Annexe 02, figure C).

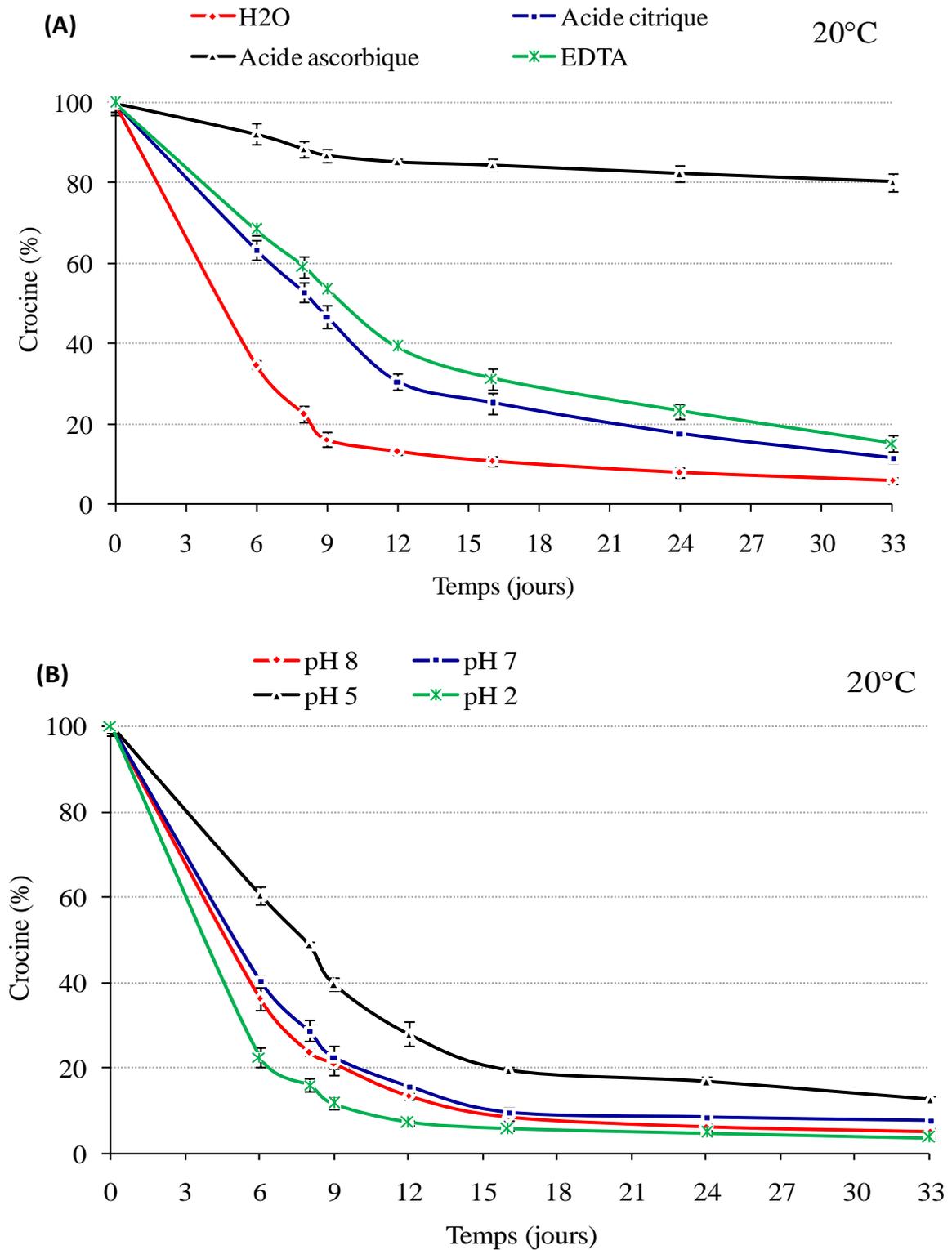


Figure 11 : Cinétique de dégradation de la crocine au cours de la conservation à la Température de 20°C (A) effet des conservateurs et (B) du pH.

Effet des conservateurs sur la cinétique de dégradation de la crocine au cours de la conservation à la température de 35°C à pH 7 est montré par la figure 12 (A). La teneur de la crocine diminue très rapidement et graduellement en basses valeurs pour avoir au 9^{ème} jours 43% avec l'acide ascorbique, et 25% avec l'EDTA, et 18% avec l'acide citrique et 16% avec l'H₂O. Elle continue de diminuer avec une quantité de 22% la plus conservée avec l'acide ascorbique par rapport aux autres conservateurs au 12^{ème} jours par la suite la teneur se stabilise avec l'acide citrique à 5% jusqu'à la fin de stockage, 19% pour l'EDTA et 10% pour l'H₂O. Au de la de 12^{ème} jours on remarque que c'est l'EDTA qui conserve mieux que les autres conservateurs avec des teneurs supérieures à celle des autres qui finit par se stabiliser. La diminution avec l'acide ascorbique s'achève aux 16^{ème} jours où elle est suivie d'une stabilisation jusqu'aux 33^{ème} jours. Avec l'H₂O la teneur de la crocine est mieux conservée que l'acide ascorbique et l'acide citrique qui favorisent sa dégradation. Au de la de 16^{ème} une certaine stabilisation suivie d'une légère dégradation pour l'eau distillée. De ce fait on peut dire que la teneur de la crocine n'est conservée pour une durée qui dépasse 16 jours avec une telle température plus au moins qu'avec l'EDTA qui a conservé environ 7 % de la crocine, et que c'est dans l' H₂O que la crocine est conservée mieux que l'acide ascorbique et l'acide citrique.

Effet des pH sur la cinétique de dégradation de la crocine au cours de la conservation à la température de 35°C, comme la figure 12(B) le montre. La teneur de la crocine diminue rapidement pour les quatre pH pour avoir qu'au 6^{ème} jours une quantité de 30% avec le pH 5 et de 25% pour le pH 8, 20% pour le pH 7 et 15% pour le pH 2 avec ces valeurs on peut dire que c'est le pH 5 qui conserve mieux la crocine au cours de stockage à une température de 35 °C, mais avec une quantité minime. Et au 9^{ème} jours elle est de 18% pour le pH 5, de 16% pour le pH 8, de 10% pour le pH 7 et de 7% pour le pH 2. La dégradation continue pour le pH 5 jusqu'aux derniers jours de stockage avec une faible quantité restante de 5%, et se stabilise pour le pH 7 et 2 avec 2 % et 1% respectivement, mais pour le pH 8 y'a une certaine stabilisation avec une petite dégradation vers la fin, la teneur est de 3% avec ce dernier. C'est des teneurs très faibles qu'on ne peut pas considérer pour une conservation par ces pH plus ou moins pour le pH 5.

Les résultats de cette figure montrent que l'acide ascorbique ne conserve pas longtemps la crocine pour un stockage à une température de 35°C et son activité conservatrice disparaît au fil de temps par contre avec l'EDTA la crocine est mieux conservée puis le pH 5 suivi du pH 8 qui conserve avec des faibles valeurs, en fin l'H₂O. Et que le pH 7 et 2 et l'acide citrique dégradent la crocine (Annexe 02, figure E)

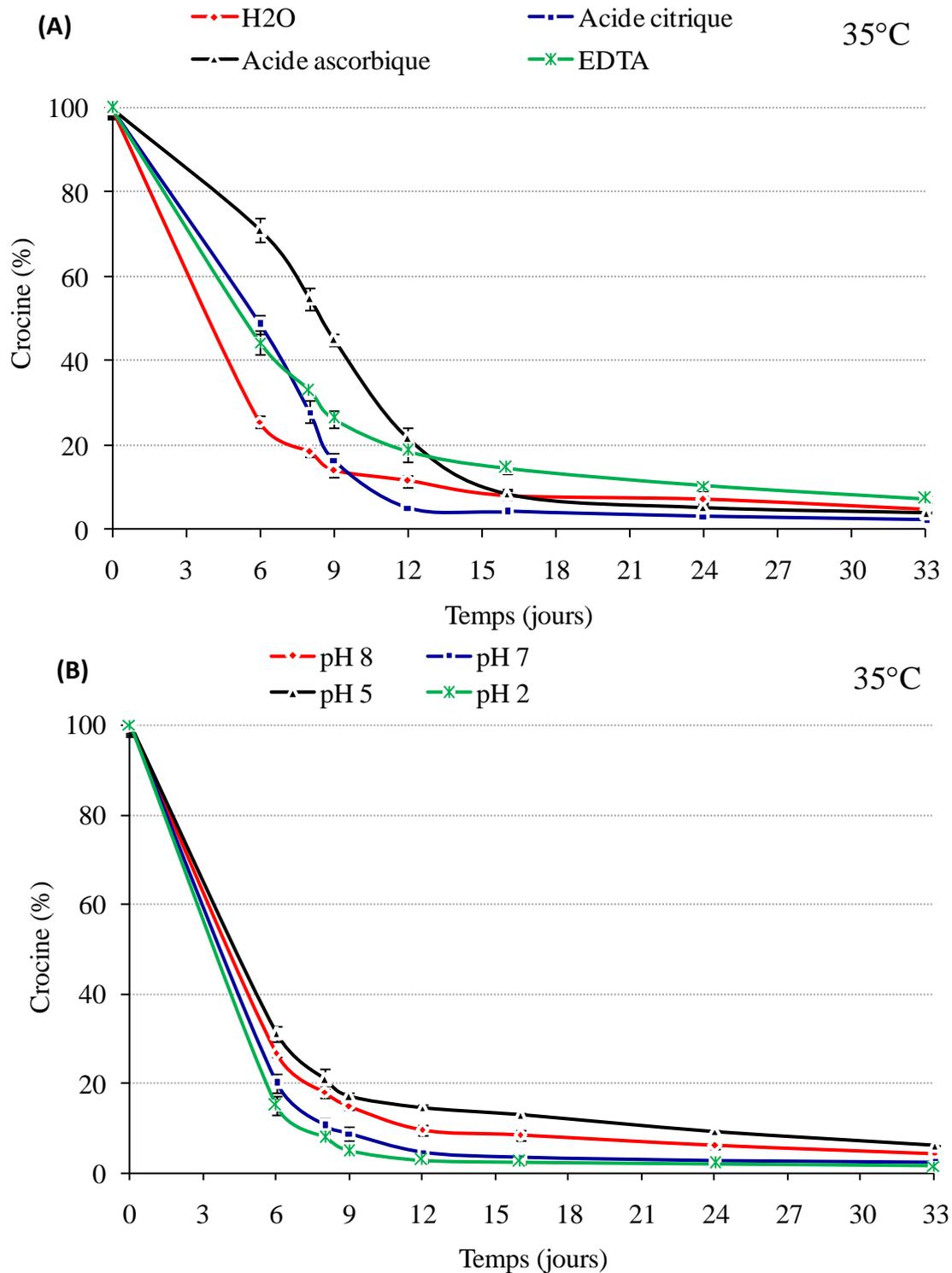


Figure 12: Cinétique de dégradation de la crocine au cours de la conservation à la température de 35°C, (A) effet des conservateurs et (B) du pH.

Dans le but d'étudier, l'aptitude de la conservation de la crocine dans les différents milieux (présence de conservateurs, pH variables, eau) ainsi que l'efficacité des milieux utilisés, la cinétique de dégradation est développée.

La réaction de dégradation de la crocine est donnée comme suit :

La vitesse de réaction peut être exprimée en fonction du produit ou du réactif. L'équation de la vitesse de disparition de la crocine peut s'écrire comme ci-après. Étant donné que la concentration de la crocine diminue au cours du temps, la dérivée est négative.



Dont, V : vitesse de la réaction ; k : constante de vitesse ; α : ordre de réaction

$$V = \frac{d[\text{Crocine}]}{dt} = -k[\text{Crocine}]^\alpha$$

L'ordre de la réaction pour un réactif est la valeur de l'exposant α . Celui-ci n'est pas forcément un nombre entier. Les ordres de réaction ne sont pas nécessairement les coefficients stœchiométriques de l'équation de réaction, ils ne peuvent être déterminés que de façon expérimentale. Si la vitesse ne dépend pas de la concentration de l'un des réactifs, elle est dite d'ordre zéro par rapport à ce dernier ($\alpha=0$). Dans ce cas, $V=-k [\text{Crocine}]^0$ ou $V=-k$. Si la vitesse de la réaction est proportionnelle à la concentration du réactif, la réaction est d'ordre un : $V=-k [\text{Crocine}]^1$. Dans le cas où $\alpha=2$, l'ordre de réaction est deux. $V=-k [\text{Crocine}]^2$. L'ordre de la vitesse de la cinétique de dégradation de la crocine est déterminé à partir des résultats obtenus suivant les différents paramètres indiqués au tableau III. L'analyse des trois types de lois a montré que la dégradation de la crocine suit l'ordre 2 du fait que les coefficients de détermination des droites de l'inverse de la concentration en fonction du temps sont les plus élevés.

Tableau III. Différents paramètres de vitesse de réaction pour les ordres 0, 1 et 2.

Ordre	Loi de vitesse	Loi de vitesse intégrée	Graphique d'une droite	k	Demi-vie
0	$(d[C]/dt) = k$	$[C]_t = -kt + [C]_0$	[C] fonction de t	- pente	$[C]_0/2k$
1	$(d[C]/dt) = k[C]$	$\text{Ln}([C]_t/[C]_0) = -kt$	$\text{Ln}[C]$ fonction de t	- pente	$0,693/k$
2	$(d[C]/dt) = k[C]^2$	$(1/[C]_t) = -kt + 1/[C]_0$	$1/[C]$ fonction de t	pente	$1// k[C]$

Après la détermination de l'ordre de réaction de dégradation de la crocine, les différentes courbes de l'effet du temps sur les pourcentages de la crocine en présence des différents conservateurs ou à des pH variables sont linéarisées et les différents paramètres sont regroupés dans les tableaux IV, V et VI.

Les équations linéaires, les coefficients de détermination ainsi que les demi-vies des cinétiques de dégradation de la crocine sous l'effet des différents conservateurs au cours de stockage à 5, 20 et 35°C sont regroupés dans les tableaux IV, V et VI et à partir des coefficients de détermination (R^2) très élevés qui varient entre 0,929 et 0,990 ; 0,828 et 0,984 ; 0,933 et 0,990, respectivement, les cinétiques de dégradation de la crocine répondent fortement à la vitesse de réaction d'ordre 2.

À partir des équations de régressions linéarisées, le temps de demi-vie est calculé. Ce paramètre représente le temps nécessaire à la dégradation de 50% de la crocine et reflète directement l'efficacité des différents milieux (conservateurs et pH) utilisés pour la conservation de la crocine.

À partir des résultats des demi-vies, l'acide ascorbique s'avère le plus efficace pour la conservation de la crocine à 5°C, qui manifeste un temps de dégradation de la moitié de la crocine de 266,34 j, suivi successivement par l'EDTA (11,24 j), l'acide citrique (9,43 j), les milieux à pH en ordre 5, 8 et 7, l'eau (H_2O) avec 2,65 j, et enfin le milieu à pH 2 (2,52 j).

Tableau IV : Équations linéarisées des cinétiques de dégradation à 5°C de la crocine, les coefficients de détermination et les temps des demi-vies ($t_{1/2}$) des conservateurs

Conservateur	Équation de régression linéaire	R^2	$t_{1/2}$ (jours)	$t_{1/2}$ (heures)
H_2O	$y = 0,00445t + 0,00824$	0,972	2,65	63,49
Acide citrique	$y = 0,00133t + 0,00749$	0,982	9,43	226,27
Acide ascorbique	$y = 0,00004t + 0,0102$	0,929	266,34	6392,16
EDTA	$y = 0,00111t + 0,00752$	0,978	11,24	269,70
pH 8	$y = 0,00409t + 0,00179$	0,943	4,45	106,73
pH 7	$y = 0,0036t + 0,0093$	0,935	2,98	71,42
pH 5	$y = 0,00171t + 0,00511$	0,965	8,72	209,18
pH 2	$y = 0,00887t + -0,0024$	0,990	2,52	60,58

y : 1/Crocine (%), t : Temps (jours)

À partir des paramètres de cinétique de dégradation de la crocine à 20°C, regroupés dans le tableau V, l'acide ascorbique manifeste le temps demi-vie ($t_{1/2}$) le plus élevé (142 jours) comparativement aux autres conservateurs et pH. L'utilisation de l'EDTA et l'acide citrique ont des aptitudes de conservation rapprochées de 8,66 et 7,12 j, respectivement. Le pH influence fortement la stabilité de la crocine. En effet, la conservation à pH 5 manifeste une stabilité la plus élevée de la crocine comparativement aux autres pH, suivit par le pH 8, puis 7. Ce dernier indique une aptitude de conservation semblable à celle de l'eau du fait du rapprochement de leurs pH. Cependant, le pH 2 indique un temps de demi-vie le plus bas. Il est également noté que l'augmentation de la température de 5 à 20°C a provoqué une accélération de la dégradation de la crocine avec des pourcentages allant de 23 à 26%.

Tableau V : Équations linéarisées des cinétiques de dégradation à 20°C de la crocine, les coefficients de détermination et les temps des demi-vies ($t_{1/2}$) des conservateurs

Conservateur	Équation de régression linéaire	R ²	$t_{1/2}$ (jours)	$t_{1/2}$ (heures)
H ₂ O	$y = 0,00491t + 0,01016$	0,984	2,01	48,15
Acide citrique	$y = 0,00237t + 0,00313$	0,977	7,12	170,83
Acide ascorbique	$y = 0,00007t + 0,01057$	0,828	141,97	3407,29
EDTA	$y = 0,00173t + 0,005$	0,975	8,66	207,82
pH 8	$y = 0,0064t - 0,00086$	0,978	3,26	78,20
pH 7	$y = 0,00415t + 0,01072$	0,909	2,23	53,62
pH 5	$y = 0,00225t + 0,00709$	0,967	5,74	137,77
pH 2	$y = 0,00856t + 0,01184$	0,958	0,95	22,88

y : 1/Crocine (%), t : Temps (jours)

La conservation de la crocine à 35°C marque une baisse très considérable des temps de demi-vies (Tableau VI). L'acide ascorbique reste toujours le meilleur conservateur (6,01 j), suivi par l'EDTA (4,25 j) puis l'acide citrique (3,44 j). La conservation de la crocine dans les différents pH (2, 5, 7, 8) et l'eau distillée indique des $t_{1/2}$ très faibles (0,72-2,22 j).

Tableau VI : Équations linéarisées des cinétiques de dégradation à 35°C de la crocine, les coefficients de détermination et les temps des demi-vies ($t_{1/2}$) des conservateurs

Conservateur	Équation de régression linéaire	R ²	t _{1/2} (jours)	t _{1/2} (heures)
H ₂ O	$y = 0,00629t + 0,00907$	0,978	1,74	41,69
Acide citrique	$y = 0,01428t - 0,02906$	0,933	3,44	82,46
Acide ascorbique	$y = 0,00868t - 0,03215$	0,939	6,01	144,15
EDTA	$y = 0,00409t + 0,00264$	0,990	4,25	101,95
pH 8	$y = 0,00725t + 0,00389$	0,987	2,22	53,30
pH 7	$y = 0,0148t - 0,00127$	0,963	1,44	34,50
pH 5	$y = 0,00446t + 0,01066$	0,984	2,10	50,29
pH 2	$y = 0,02188t + 0,00421$	0,947	0,72	17,32

y : 1/Crocine (%), t : Temps (jours)

D'après les trois tableaux tableau IV, V et VI, les temps de demi-vies des conservateurs sont influencés par la température ; l'augmentation de la température induit une diminution des temps de demi-vies. L'utilisation de la température de 35°C se traduit par l'augmentation de l'incidence sur la conservation de la crocine qui se manifeste par une réduction des $t_{1/2}$ de 46 et 63% comparativement aux températures de 20 et 5°C, respectivement.

Les influences de la présence des conservateurs ou l'utilisation des différents milieux à pH variable sur le stockage de la crocine aux variables températures (5, 20, 35°C) comparativement au témoin (H₂O) sont regroupés dans le tableau VII. L'utilisation des trois conservateurs (acide citrique, acide ascorbique et EDTA) manifeste un impact positif très hautement significatif sur la conservation de la crocine, et cela quelle que soit la température de conservation. L'utilisation des pH 5, 7 et 8 à 5 et 20°C améliore également la conservation de la crocine de manière très hautement significative. Cependant, l'utilisation du pH 2 à trois températures, ainsi que le pH 7 à 35°C influence négativement ($p < 0,0001$) la conservation de la crocine.

Tableau VII : Effets des conservateurs sur la cinétique de dégradation de la crocine au cours de la conservation

Température Conservateur	5°C	20°C	35°C
Acide citrique	+++	+++	+++
Acide ascorbique	+++	+++	+++
EDTA	+++	+++	+++
pH 8	+++	+++	++
pH 7	+++	+++	---
pH 5	+++	+++	++
pH 2	---	---	---

« +++ » : Effet positif significatif à $p < 0,001$; « ++ » : Effet positif significatif à $p < 0,01$; « --- » : Effet négatif significatif à $p < 0,0001$.

2.3. Optimisation du mélange de conservateurs

L'effet du mélange de conservateurs sur la cinétique de dégradation de la crocine au cours du stockage à 20°C à pH 7 est présenté dans la figure 13. Les courbes des cinétiques peuvent être scindées en trois groupes. Le premier groupe se manifeste par une dégradation lente de la crocine constatée pour les quatre différents mélanges formés par l'acide ascorbique et acide citrique sans la présence de l'EDTA. Cette première catégorie de courbes indique une meilleure conservation de la crocine durant la période de stockage qui varie de 70 à 81%. Le deuxième groupe est présenté par la courbe obtenue par l'EDTA sans la présence des acides ascorbique et citrique, qui se manifeste par une conservation intermédiaire de la crocine (environ une tierce). Le troisième groupe rassemble les mélanges avec la présence de l'EDTA et d'au moins un acide (ascorbique ou citrique) ainsi que le témoin (tampon à pH 7). Ce groupe montre des cinétiques de dégradation accélérées durant les dix premiers jours avec une réduction de la crocine variant de 77 à 90% suivis des plateaux indiquant l'épuisement des milieux en crocine (Annexe 02, figure D).

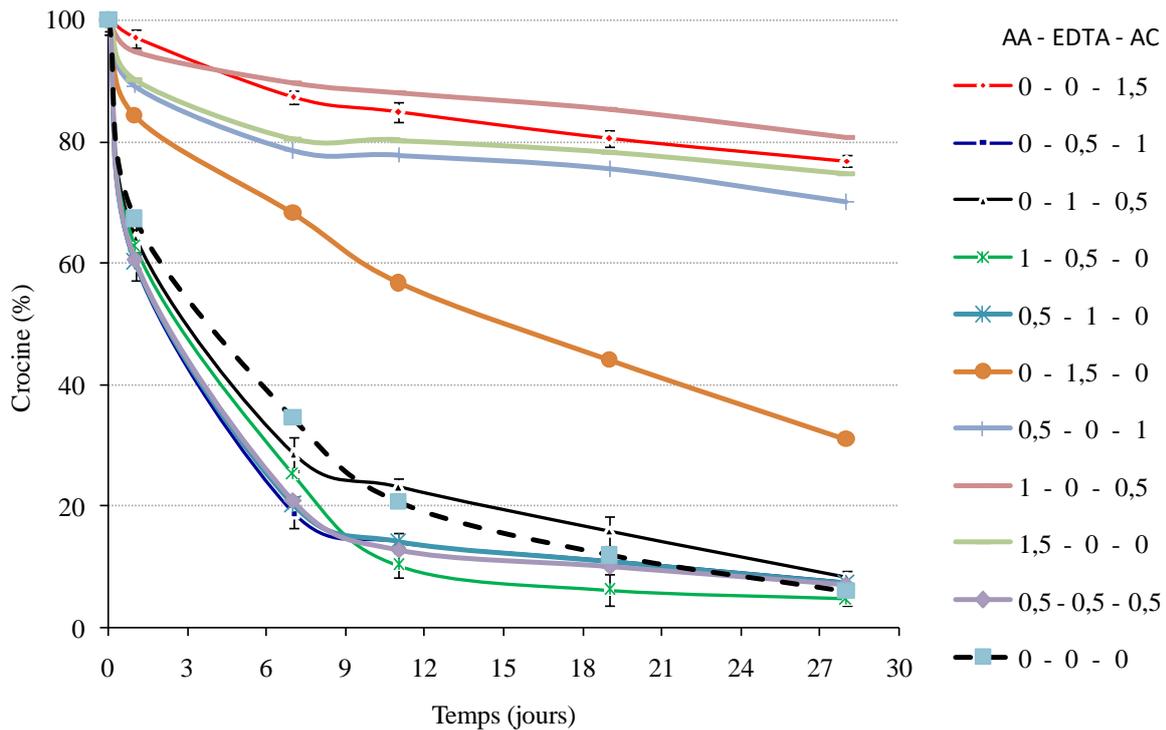


Figure 13 : Cinétique de dégradation de la crocine au cours de stockage en fonction des mélanges de conservateurs (acide ascorbique « AA », acide citrique « Ac » et EDTA).

2.3.1. Etude de l'effet des mélanges de conservateurs sur la conservation de la crocine

Les équations linéarisées des cinétiques de dégradation de la crocine, et les coefficients de détermination ainsi que les temps des demi-vies ($t_{1/2}$) expérimentaux et prédits du plan de mélange sont regroupés dans le tableau VIII. À partir des coefficients de détermination (R^2) très élevés qui varient entre 0,7599 et 0,9881, les cinétiques de dégradation de la crocine répondent fortement à la vitesse de réaction d'ordre deux.

Le temps de demi-vie est calculé à partir des équations de régressions linéarisées d'ordre deux. Ce paramètre traduit directement l'efficacité des différents mélanges de conservateurs utilisés pour la conservation de la crocine. Il est constaté que les valeurs expérimentales et calculées sont proches et cela est soutenu par la courbe de régression tracée entre les deux types de valeurs (Figure 14) qui montre un coefficient de détermination de 0,89.

Tableau VIII : Équations linéarisées des cinétiques de dégradation de la crocine, les coefficients de détermination et les temps des demi-vies ($t_{1/2}$) expérimentaux et prédits du plan de mélange.

N°	Acide ascorbique	EDTA	Acide citrique	Extrait	Tampon phosphate	Équation de régression linéaire	R ²	t _{1/2} (heures)	
								Exp.	Prédit
1	0	0	1,5	1,5	0	$y = 0,0001x + 0,01035$	0,9351	92,31	81,74
2	0	0,5	1	1,5	0	$y = 0,00424x + 0,01571$	0,9823	1,01	8,89
3	0	1	0,5	1,5	0	$y = 0,00358x + 0,00809$	0,9586	3,33	-10,83
4	1	0,5	0	1,5	0	$y = 0,00759x + 0,00587$	0,9830	1,86	11,03
5	0,5	1	0	1,5	0	$y = 0,00435x + 0,01435$	0,9881	1,30	-13,97
6	0	1,5	0	1,5	0	$y = 0,00075x + 0,00995$	0,9828	13,43	22,60
7	0,5	0	1	1,5	0	$y = 0,00013x + 0,01099$	0,8244	69,92	92,89
8	1	0	0,5	1,5	0	$y = 0,00008x + 0,01037$	0,9288	127,37	98,17
9	1,5	0	0	1,5	0	$y = 0,0001x + 0,01093$	0,7599	90,78	97,60
10	0,5	0,5	0,5	1,5	0	$y = 0,00464x + 0,0145$	0,9842	1,19	12,89
11	0	0	0	1,5	1,5	$y = 0,00528x + 0,00058$	0,9463	3,68	/

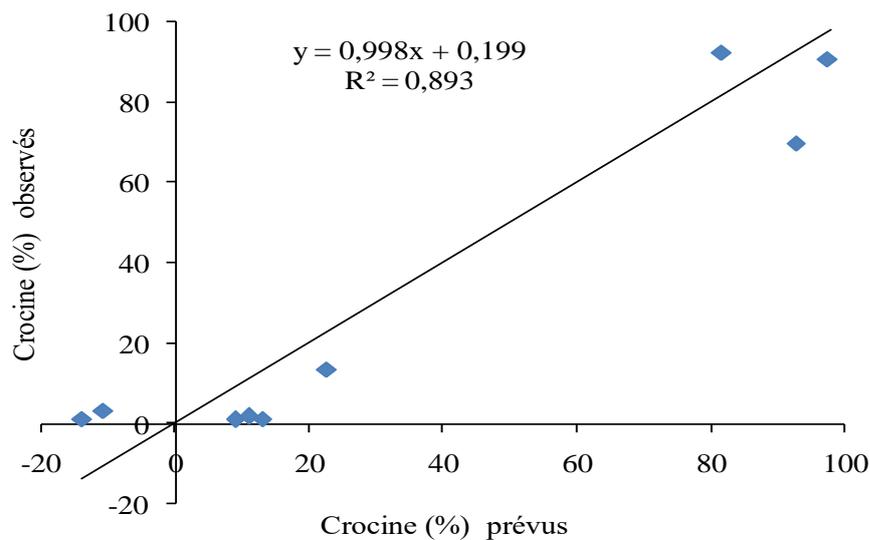


Figure 14 : Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prévues du plan de mélange des conservateurs appliqué pour le stockage de la crocine.

2.3.2. Modèle global d'ajustement

Le tableau IX résume l'analyse de la variance du modèle du plan de mélange. Le rapport de Fisher montre une valeur de 6,6832 correspondant à une probabilité 0,0448 ce qui indique que le modèle est statistiquement significatif.

Tableau IX. Analyse de la variance du modèle du plan de mélange.

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré des moyennes	Rapport F	Prob. > F
Modèle	5	19534,167	3906,83	6,6832	0,0448*
Résidus	4	2338,315	584,58		
Total	9	21872,482			

* indique une valeur significative.

2.3.3. Effets des mélanges de conservateurs

Les effets des trois conservateurs (acide ascorbique, acide citrique et EDTA) ainsi que leurs interactions sur la réponse sont montrés dans le tableau X. Plus la différence entre la valeur du coefficient (estimation) et l'erreur standard est grande, plus le facteur est jugé influent. Cela peut se traduire par la comparaison du rapport de coefficient et de l'erreur standard indiquée par le « Rapport t ». La valeur de la probabilité renseigne sur la significativité du paramètre, elle est considérée statistiquement significative lors qu'elle est inférieure à 0,05. Le tableau indique que l'acide ascorbique et l'acide citrique ont des effets très significatifs sur la conservation de la crocine. Cependant, l'EDTA et les termes d'interaction entre trois conservateurs ont des valeurs de probabilité supérieures au seuil significatif 0,05, par conséquent, ils l'exercent pas d'effets sur la conservation de la crocine.

Tableau X. Paramètre du modèle de plan de mélange des conservateurs.

Terme	Estimation	Erreur standard	Rapport t	Prob.> t
Acide ascorbique	97,43	22,75	4,28	0,0128*
EDTA	23,09	22,75	1,01	0,3676
Acide citrique	81,91	22,75	3,6	0,0228*
Acide ascorbique x EDTA	-277,37	100,73	-2,75	0,0512
Acide ascorbique x Acide citrique	27,07	100,73	0,27	0,8014
EDTA x Acide citrique	-239,81	100,73	-2,38	0,0759

* indique une valeur significative ($p < 0,05$).

Les modèles mathématiques du plan de mélange pour la conservation de la crocine peuvent se présenter sous forme de polynôme du premier ordre. Le modèle mathématique qui donne le temps de demi-vie de la crocine en fonction du mélange de conservateurs en considérant les termes d'influences significatives sont comme suivis :

$$Z = 97,43x_1 + 81,91x_2$$

Où Z : demi-vie du taux de crocine (jours) ; x_1 : part de l'acide ascorbique ; x_2 : part de l'acide citrique.

2.3.4. Détermination expérimentale des conditions optimales de la conservation de la crocine

Le mélange requis afin de maximiser la conservation de la crocine est déterminé à l'aide du module de Profileur de prévision (logiciel de JMP) qui est estimée avec la combinaison de l'acide ascorbique et l'acide citrique à un rapport de volume de 1,185 /0,315 (ml/ml) ou 79 /21% (v/v) et qui est présenté dans le profileur d'isoreponse de la figure 15. Ce mélange permet d'estimer un temps de demi-vie de la crocine de trois mois (90 jours).

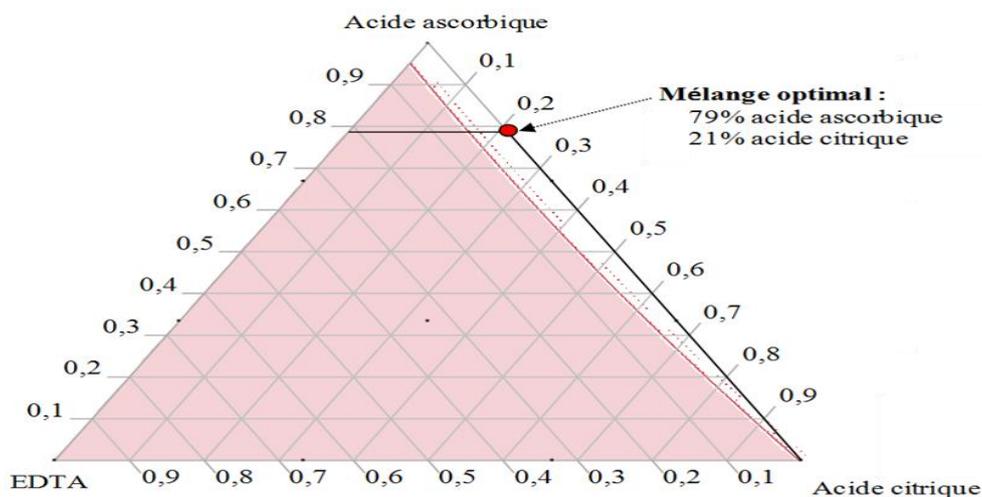


Figure 15 : Triangle équilatéral du plan de mélange montrant la combinaison optimale de conservateurs pour la conservation de la crocine.

Le tableau XI regroupe les proportions adéquates du mélange des conservateurs pour un temps de demi-vie optimal.

Tableau XI. Mélange optimal de conservateurs pour le stockage de la crocine

Conservateur	Mélange optimal	$t_{1/2}$ optimal (jours)
Acide ascorbique	1,185 (0,79%)	89,66
EDTA	0 (0%)	
Acide citrique	0,315 (0,21%)	

2.4. Discussion générale

L'effet de stockage de la crocine dans les conservateurs à différentes températures a montré que l'incubation à 5°C conserve fortement le taux de la crocine en comparant à 20°C qui a provoqué une légère réduction et une sévère diminution à 35°C. L'étude menée par Sanchez *et al.*, (2008) confirme que la dégradation de la crocine est plus marquée avec l'augmentation de la température. Tsimidou et Tsatsaroni, (1993) ont réalisé une incubation des extraits aqueux de safran à 4°C qui réduit la dégradation de taux de crocine plus de 3, 8 et 10 fois par rapport à sa dégradation à 25, 40 et 62°C, respectivement.

La dégradation des pigments de safran dépendant de la température, l'augmentation de la température influence fortement la cinétique de dégradation, en outre, la vitesse de dégradation est accélérée (Tsimidou et Biliaderis, 1997).

Le traitement thermique de la crocine provoque son isomérisation du forme trans à la forme cis (Figure 16, favorise sa dégradation par oxydation (Tsimidou et Tsatsaroni, 1993) ou son hydrolyse en crocétine (deviens incolore) au milieu aqueux (Alonso *et al* 1993) (Figure 17).

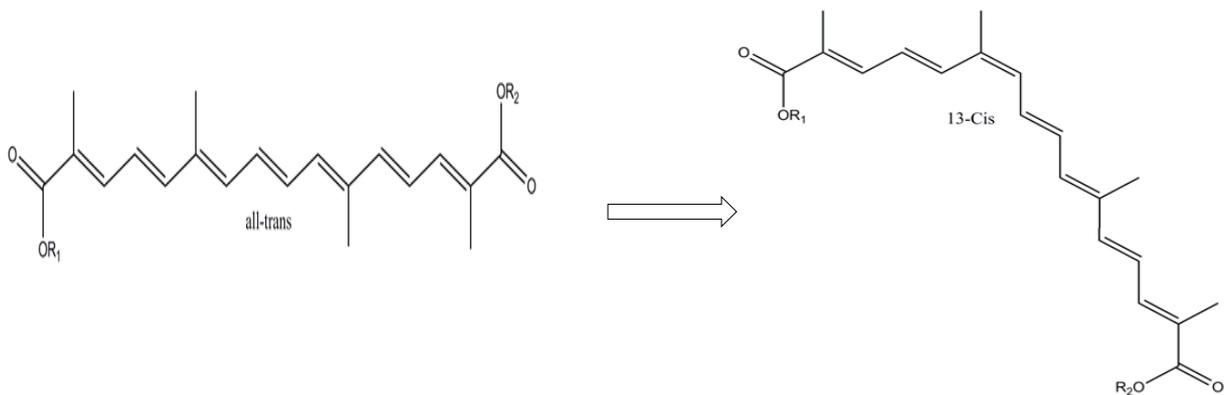


Figure 16 : Isomérisation de la configuration trans à la configuration cis.

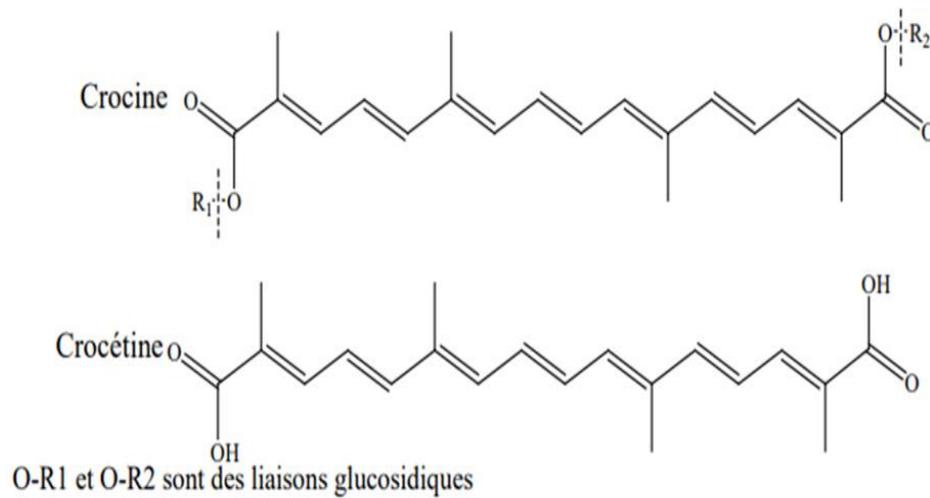


Figure 17 : Hydrolyse de la crocine en crocétine (Bergoin, 2005).

L'acide ascorbique est sélectionné le meilleur conservateur pour le stockage de la crocine à 5 et 20 °C, mais à 35°C il n'est plus, car il possède une structure fragile et une configuration spécifique (Damanski *et al*, 1968), et subit une oxydation plus complète au contact de l'air, sa structure chimique s'altère profondément et perd son activité physiologique. (Schwartz, 2016)

Selon nos résultats, la teneur de la crocine est dégradée plus de cinq fois pour la variation des pH (2, 5, 7 et 8) où les faibles pH manifestent une intense dégradation dans les températures étudiées (5, 20 et 35°C) (Tsimidou et Tsatsaroni, 1993 ; Karasu *et al.*, 2019). Selon la littérature, cette perte énorme est occasionnée par la facilité d'hydrolyse des liaisons glucosidiques de la crocine par des réactions alcalines et acides.

Selon l'expérience de plan de mélange, la combinaison de l'acide ascorbique en dominance avec l'acide citrique montre une meilleure conservation grâce à leur forte synergie. L'étude réalisée par Orfanou et Tsimidou (1995) ont montré par contre une forte synergie entre l'acide ascorbique et l'EDTA avec l'augmentation de pourcentage de rétention de couleur des pigments de safran plus deux fois après 68 heures de stockage à 40 °C.

Conclusion

Conclusion

Au terme de notre étude à propos de l'impact des conservateurs durant le stockage à différentes températures sur la crocine, nous a permis de conclure que la conservation de la crocine dépend du type de conservateur, la variation du pH ainsi la température de stockage.

La teneur de la crocine est influencée par la température, les températures basses permettent de mieux conserver la qualité du safran et de la crocine. L'acide ascorbique était le plus efficace pour la conservation de la crocine à 5 et 20°C avec des valeurs respectivement de 88 et 80%. Suivit par l'EDTA et l'acide citrique avec des valeurs moins de 20%. Par contre à 35°C l'acide ascorbique n'a conservé que 5%, et l'EDTA marque une conservation un peu meilleure ; l'acide ascorbique est très influencé par la température, car il s'agit d'une vitamine qui est sensible à la chaleur, la dégradation de la crocine peut s'expliquer par le changement de configuration (trans – cis), par oxydation ou par hydrolyse en crocétine.

L'utilisation des pH bas affecte significativement la dégradation de la crocine, et comme nos résultats l'indiquent à pH 2 la teneur de la crocine était presque nulle, ainsi qu'à un pH au voisinage de la neutralité a permet une certaine conservation de la teneur de la crocine.

L'étude du plan de mélange a permet de conclure que la stabilité de la crocine dépend des combines de conservateurs utilisés et de leurs concentrations. Le test du plan de mélange de conservateurs a révélé que l'utilisation du couple acide ascorbique et acide citrique a manifesté une très bonne conservation de la quantité de la crocine lors de sa conservation avec une valeur d'environ 80%.

Il est préconisé pour préserver la teneur de la crocine dans l'extrait aqueux du safran de réaliser un stockage avec l'acide ascorbique ou une combine d'acide ascorbique avec l'acide citrique à des basses températures. Et en fin, nous souhaitons que notre modeste travail va apporter du bénéfique et d'enrichir les connaissances sur le stockage du safran. Nous souhaitons réaliser comme ambitions :

- ✓ L'utilisation des méthodes séparatives pour l'identification des propriétés de la crocine telles que l'HPLC et CPG.
- ✓ Test sur l'effet de concentration des conservateurs.
- ✓ Une étude similaire pour les autres composés du safran (crocétine, microcrocine et safranal).
- ✓ Incorporation du safran dans un produit alimentaire et tester sa stabilité à l'échelle industrielle.
- ✓ Etudier le type d'emballage idéal à la conservation du safran.

Références bibliographiques

Références bibliographiques**A**

- Abdullaev F. (2006). Biological properties and medicinal use of saffron (*Crocus sativus* L.). In II International Symposium on Saffron Biology and Technology, 339-345.
- Abdullaev F.I. (2002). Cancer chemopreventive and tumoricidal properties of saffron (*Crocus sativus* L.). *Experimental biology and medicine*, 227(1), 20-25.
- Acar B., Sadikoglu H. et Ozkaymak M. (2011). Freez drying of saffron (*Crocus sativus* L.): a review. *Drying technology*, 29(14), 1622-1627.
- Ahmad Dar R., Shahnawaz M., Banoo Malik S., Sangale M.K. et ADE A.B., Hassan Qazi P (2017). Cultivation, distribution, taxonomy, chemical composition and medical importance of *Crocus sativus*. *The journal of phytopharmacology*, 6(6), 356-358.
- Ahmad Shah Z., Mir R., Matoon J.M., Ahmad Dar M. et Beigh M.A. (2017). Medicinal importance of saffron: A review. *Journal of pharmacognosy and phytochemistry*, 6(5), 2475-2478.
- Akhondzadeh Basti A., Ghoreishi S.A., Noorbala A.A., Akhondzadeh S.H. et Rezazadeh S.H (2008). Petal and Stigma of *Crocus sativus* L. in the Treatment of Depression: A Pilot Double - blind Randomized Trial: *Journal of Medicinal Plants*, 7(4), 29-36.
- Akhondzadeh S., Shafiee-Sabet M., Harirchian M.H., Togha M., Cheraghmakani H., Razeghi S., Hejazi S.Sh., Yousefi M.H., Alimardani R., Jamshidi A., Zare F. et F. Moradi F. (2010). Saffron in the treatment of patients with mild to moderate Alzheimer's disease: a 16-week, randomized and placebo-controlled trial. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 35(5), 581-588.
- Alavizadeh, S. H., et Hosseinzadeh, H. (2014). Bioactivity assessment and toxicity of crocin: a comprehensive review. *Food and Chemical Toxicology*, 64, 65-80.
- Al-Mofleh L.A., Alhaider A.A., Mossa J.S., Al-Sohaibani M.O., Qureshi S. et Rafatullah S. (2006). Antigastric Ulcer Studies on 'Saffron' *Crocus sativus* L. in Rats. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 9(6), 1009-1013.
- Alonso G.L., Salinas M.R., Garuo J. et Sanchez-fernandez M.A. (2000). Composition of crocins and picrocrocin from spanish saffron (*Crocus sativus*. L). *Journal of Food Quality*, 219-233.
- Alonso G.L., Varon R., Gomez R., Navvaro F. et Salinas M.R. (1990). Auto-oxidation in Saffron at 40°C and 75% Relative Humidity. *Journal of food science*, 55(2), 595-596.
- Amin B., Abnous K., Motamedshariaty V. et Hosseinzadeh H. (2014). Attenuation of oxidative stress, inflammation and apoptosis by ethanolic and aqueous extracts of *Crocus sativus* L. stigma after chronic constriction injury of rats. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 86(4), 1821-1832.

Atyane L.H., Ben El Caid M., Serghini M.A. et Elmaimouni L. (2017). Influence of different extraction methods and the storage time on secondary metabolites of saffron. *International journal of engineering research and technology*, 6(1), 65-69.

B

Basker D. et Negbi M. (1983). Uses of saffron. *Economic Botany*, 37(2), 228-236.

Bathaie SZ, Farajzade A et Hoshyar R. A review of the chemistry and uses of crocins and crocetin, the carotenoid natural dyes in saffron, with particular emphasis on applications as colorants including their use as biological stains. *Biotech Histochem*, 89(6), 401-11.

Benmostefa I. et Guellil Z. (2017). Dosage des polyphénols de la fleur de *Crocus Sativus* L. Université Abou Bakr Belkaid- Tlemcen. p 10-53.

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. Université de Toulouse. p.275.

Bharate S.S., Kumar V., Singh G., Singh A., Gupta M., Singh D., Kumar A., Vishwakarma R.A. et Bharate S.B. (2018). Développement préclinique de *Crocus sativus* -Based botanical lead iim-141 for alzheimer's disease: Chemical Standardization, Efficacy, Formulation Development, Pharmacokinetics, and Safety Pharmacology. *ACS omega*, 3 (8), 9572–9585.

Boskabady M.H. et Farkhondeh T. (2016). antiinflammatory, antioxidant, and immunomodulatory effects of *Crocus sativus* L. and its Main Constituents. *Phytother. Res*, 30(7), 1072-1094.

C

Casas-Catalan M.J. et Domenech-Carbo M.T. (2005). Identification of natural dyes used in works of art by pyrolysis–gas chromatography/mass spectrometry combined with in situ trimethylsilylation. *Anal Bioanal Chemistry*, 382(2), 259–268.

Chauoqi S., Moratalla-López N., Lage M., Lorenzo C., Alonso G.L. et Guedira T. (2018). Effect of drying and storage process on moroccan saffron quality. 1-21.

Chauoqi S., Moratalla-López N., Lage M., Lorenzo C., Alonso G.L. et Guedira T. (2018). Effect of drying and storage process on Moroccan saffron quality. *Food bioscience*, 22, 146-153.

Christodoulou E, Kadoglou NP, Kostomitsopoulos N. et Valsami G. Saffron: a natural product with potential pharmaceutical applications. *Journal Pharm Pharmacol*. 67(12), 1634-1649.

D

Damanski A.F. et Milosavljevic M. (1968). Quelques aspects de la chimie de l'acide ascorbique, *Plant Food Hum Nutr*, 16, 342–361.

Das I., Das S. et Saha T. (2010). Saffron suppresses oxidative stress in DMBA induced skin carcinoma: A histopathological study. *Acta histochemica*, 112(4), 317-327.

Dehghan F., Hajiaghaalipour F., Yusof A., Muniandy S., Hosseini S.A., Heydari S., Salim L.Z. et Azarbayjani M.A. (2016). Saffron with resistance exercise improves diabetic parameters through the GLUT4/AMPK pathway in-vitro and in-vivo. *Sci Rep*. Apr 28(6), 25-139.

Dubois A. (2010). Analyse de la filière au Maroc : quelques perspectives pour la mise en place d'une indication géographique. Thèse de Doctorat. Université Montpellier. p.80.

E

El Bernaoui O. (2012), La culture du safran en régions arides. Centre de recherche scientifique et technique sur les régions arides Nezla –tougourt, 1-8.

Esmailpour A.M. et Kardavani P. (2011). Saffron (*Crocus sativus*) potentials for sustainable rural development: A case study of Balavelayat village in Kashmar, North Eastern Iran, 6(13), 3149-3160.

F

Fernandez J.A., Rubio A. et Gomez-Gomez L. (2004). Biosynthesis of carotenoids in saffron, Acta Horti, 650, 99-107.

G

Ghaffari S. et Roshanravan N. (2019). Saffron; An updated review on biological properties with special focus on cardiovascular effects: a review. Biomedicine & Pharmacotherapy, 109, 21-27.

Ghizoni L. (2018). Red Gold Rush: Managing Quality for Afghan Saffron Exports. International Trade Centre. ITC, Geneva. p 135.

Golmohammadi F. (2014). saffron and its farming, economic importance export, medicinal characteristics and various uses in south khorasan province-east of Iran. International Journal of Farming and Allied Sciences, 3(5), 566-596.

Gregory M.J., Menary R.C. et Davies N.W. (2005). Effect of Drying Temperature and Air Flow on the Production and Retention of Secondary Metabolites in Saffron. Journal Agricultural Food Chemistry, 53 (15), 5969-5975.

Gresta F., Lombardo G.M., Siracusa L. et Ruberto G. (2008). Saffron, an alternative crop for sustainable agricultural systems. A review. Agronomy for Sustainable Development, 28(1), 95-112.

H

Heitmar R., Brown J. et Kyrou I. (2019). Saffron (*Crocus sativus* L.) in Ocular Diseases: A Narrative Review of the Existing Evidence from Clinical Studies: a review. Nutriment, 11(13), 649.

Hosseini Goli S. A., Mokhtari F. et Rahialek M., (2012). Phenolic compounds and antioxidant activity from saffron (*Crocus Sativus* L.) petal. Journal of Agricultural Sciences, 4(10), 175-179.

Hosseinzadeh H. et Alavizadeh S.H. (2014). Bioactivity assessment and toxicity of crocin: A comprehensive review. Food and Chemical Toxicology, 64, 65-80.

Hosseinzadeh H. et Younesi H.M. (2002). Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Crocus sativus* L. stigma and petal extracts in mice. BioMed Central, 2(7), 1-8.

J

Javadi B., Sahebkar A. et Emami S.A. (2012). A Survey on saffron in major islamic traditional medicine books. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 16, 1-11.

K

Kabiri M., Rezadoost H. et Ghassempour A. (2017). A comparative quality study of saffron constituents through HPLC and HPTLC methods followed by isolation of crocins and picrocrocin. *LWT- Food Science and Technology*, 84, 1010-1016.

Kamalipour M., Akhondzadeh M. et Pharmacol F.B. (2011). Cardiovascular Effects of Saffron: An Evidence-Based Review. *The Journal of Tehran University Heart Center*, 6 (2), 59-61.

Kamel M.M., Helmy H.M. et El Hawary N.S. (2009). Some Studies on Dyeing Properties of Cotton Fabrics with *Crocus sativus* L. (Saffron flowers) Using an Ultrasonic Method. *Journal of Natural Fibers*, 6, 151–170.

Karasu S., Bayram Y., Ozka K. et Sagdic O. (2019). Extraction optimization crocin pigments of saffron (*Crocus sativus* L.) using response surface methodology and determination stability of crocin microcapsules. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13, 1515-1523.

Karimi E., Oskoueini E., Hendra R. et Jaafar Z.E.H. (2010). evaluation of (*Crocus sativus* L) stigma phenolic and flavoid compounds and its antioxidant activity. *Molecules*, 15(9), 6244-6256.

Katawazy A.S. (2013). A Comprehensive study of Afghan saffron. Report of Research, Planning and Policy Directorate, Afghanistan Investment Support Agency. Kabul, Afghanistan. p. 46.

Khazdair M.R., Boskabady M.H., Hosseini M., Rezaee R. et Tsatsakis A.M. (2015). The effects of *Crocus sativus* L. (saffron) and its constituents on nervous system: A review. *Avicenne journal de phytomédecine*, 5(5), 376-391.

Khorasani G., Hosseinimehr S.J., Zamani P., Ghasemi M. et Ahmadi A. (2008). The Effect of Saffron (*Crocus Sativus* L.) Extract for Healing of Second-degree Burn Wounds in Rats. *Keio J Med*, 57(4), 190–195.

Khorasany A.R. et Hosseinzadeh H (2015). Therapeutic effects of saffron (*Crocus sativus* L.) in digestive disorders: a review. *Iranian journal of basic medical sciences*, 19(5), 455.

Koocheki A. et Khajeh-hosseini M. (2020). Saffron: Science, Technology and Health. In: "Saffron processing". pp. 291-298.

L

Lopresti A.L. et Drummond P.D. (2014). Saffron (*Crocus sativus* L.) for depression: a systematic review of clinical studies and examination of underlying antidepressant mechanisms of Action. *Hum. Psychopharmacol Clin Exp*, 29(6), 517–527.

Lunsford C. et Zenger J. (2009). Saffron: "Red Gold": a review. RRC Afghan Team, 1-21.

M

- Maccarone R., Di Marco S. et Bisti V. (2008). Saffron Supplement Maintains Morphology and Function after Exposure to Damaging Light in Mammalian Retina: a review. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 49(3), 1254-1261.
- Maghsoodi., Vida., Kazemi., Akhtar. et Akhondi. (2012). Effect of Different Drying Methods on Saffron (*Crocus Sativus* L) Quality. *Iran. Journal Chemistry Chemistry Eng*, 3(2), 85-89.
- Mall.T.P.et Tripathi.S.C. (2017). Safran-a treasure of the angient medicine chest-an overview: a review. *World journal of pharmaceutical research*, 6(4), 1604-1623.
- Mashmoul M., Azlan A., Khaza'ai H., Mohd Yusof B .N. et S.Moh Noor (2013), Saffron: A Natural Potent Antioxidant as a Promising Anti-Obesity Drug. *Antioxidants*, 2(4), 293-308.
- Mecocci P., Tinarelli C., Schulz R.J. et Polidor M.C. (2014). Nutraceuticals in cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Nutraceuticals and dementia. International Journal of Biological Macromolecules*, 5, 1-11.
- Mehrnia M.A, Jafari S.M., Behzad S., Zadeh M. et Maghsoudlou Y. (2016), Crocin Loaded Nano-emulsions: Factors Affecting Emulsion properties in Spontaneous Emulsification. *International journal biol macromol.* 84, 261-267.
- Melnyk P.J., Wang S.et Marcone F. M. (2010).Chemical and biological properties of the woeld's most expensive spice: saffron: a review. *Food research international*, 1982-1988.
- Mezabri I., Addi M.et Berrichi A. (2019), Traditional and Modern Uses of Saffron (*Crocus Sativus*): a review. *Cosmetics*, 6(63), 2-11.
- Milajerdi A., Bitarafan V., Mahmoudi M. (2015). A review on the effects of saffron extract and its constituents on factors related to neurologic, cardiovascular and gastrointestinal diseases. *Journal of medicinal plants*, 14(55), 9-28.
- Modabbernia A., Sohrabi H., Nasehi A-A., Raisi F., Saroukhani S., Jamshidi A., Tabrizi M., Ashrafi M. et Akhondzadeh S. (2012).Effect of saffron on fluoxetine-induced sexual impairment in men: randomized double-blind placebo-controlled trial: a review. *Psychopharmacology (Berl)*, 223 (4), 381-388.
- Moghadam M.M., Taghizadeh M., Sadrnia V. et Pourreza H.R. (2020). Nondestructive classification of saffron using color and textural analysis. *Food science and nutrition*, 8(4), 1923-1932.
- Moratalla-López N., José Bagur N., Lorenzo C., Martínez-NavarroV, M. Salinas M.E. et Alonso G.L. (2019). Bioactivity and Bioavailability of the Major Metabolites of *Crocus sativus* L. Flower: a review. *Molecules*, 24(15), 1-23.
- Mortazavi S.M., Kamali Moghaddam M., Safi S. et Salehi R. (2012). Saffron Petals, a By-Product for Dyeing of Wool Fibers. *Prog. Color Colorants Coat*, 75-84.
- Moshiri M., Vahabzadeh M. et Hosseinzadeh H. (2014), Clinical Applications of Saffron (*Crocus sativus*) and its Constituents: A Review. 1-9.
- Mousavi, S. Z., et Bathaie, S. Z. (2011). Historical uses of saffron: Identifying potential new avenues for modern research. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 1(2), 57-66.

N

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

O

of crocin in several cancer cell lines: An updated review. Iranian Journal of Basic Medical Sciences, 23(1), 3-12.

Orfanou O. et Tsimidou M. (1995). Influence of selected additives on the stability of saffron pigments in aqueous extracts. A review: Elsevier Science B.V, 881-894.

Ourdoudi A.S. et Tsimidou Z.M. (2004). Saffron quality: effect of agricultural practices processing and storage. A review: Preharvest practice, 209-211.

P

Palomares C. (2015). Le safran précieuse épice ou précieux médicament. Thèse de Doctorat. Université de Lorraine. p.130.

Poma A., Fontecchia G., Carlucchi G. et Chichiricò G. (2012), Anti-Inflammatory Properties of Drugs from saffron *Crocus*. Anti-Inflammatory and Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry, 11(1), 37-51.

Purushothuman S. (2015). Oxidative stress in neurodegenerative conditions and the protective potential of a natural antioxidant, dietary saffron. Oxidants and Antioxidants in Medical Science, 4 (3), 112-118.

R

Rahaiea S., Shojaosadati S.A., Hashemi M., Moini S. et Razavi S. (2015). Improvement of crocin stability by biodegradable nanoparticles of chitosan-alginate. International Journal of Biological Macromolecules, 1-9.

Rahmani A.H., Ali Khan A., Aldebasi Y.H. (2017). Saffron (*Crocus sativus*) and its active ingredients: role in the prevention and treatment of disease: a review. Pharmacognosy Journal, 9(6), 873-879.

Ramadan A., Soliman G., Mahmoud S.S., Nofal S.M. et Abdel-Rahma R.F. (2012). Evaluation of the safety and antioxidant activities of *Crocus sativus* and Propolis ethanolic extracts. Journal of Saudi chemical society, 16(1), 13–21.

Rashed-Mohassel M.H., Kafi M., Koochaki A. et Nassiri M. (2006). Saffron botany. Saffron (*Crocus sativus*) Production and Processing. Enfield, NH: Science, 13-39.

Riazi A., Panahi Y., Agha Alishiri A., Hosseini M.A., Karimi Zarchi A.A., Sahebkar A.H. (2016). The impact of saffron (*Crocus sativus*) supplementation on visual function in patients with dry age-related macular degeneration. Italian journal of medicine. 1-14.

S

- Saito H. (2004). The Therapeutic and Prophylactic Effects of *Crocus sativus* L. (Saffron) in Senile Dementia. 407-422.
- Saito H. (2004). The therapeutic and prophylactic effects of *Crocus sativus* L. (saffron) in senile dementia. Acta hortic. 650, 407-422.
- Samarghandian S., Azimi-Nezhad M. et Samini F. (2014). Ameliorative effect of saffron aqueous extract on hyperglycemia, hyperlipidemia, and oxidative stress on diabetic encephalopathy in streptozotocin induced experimental diabetes mellitus: a review. Biomed research international, 2014, 1-13.
- Sampathu S.R., Shivashankar S., Lewis Y.S. et Wood A.B. (1984). Saffron (*Crocus sativus* Linn.) — Cultivation, processing, chemistry and standardization, Critical: journal Reviews in Food Science & Nutrition, 20(2), 123-157.
- Sanchez A. M., Carmona M., Jaren-Galan M., Minguez Mosquera M. I., et Alonso, G. L. (2011). Picrocrocin kinetics in aqueous saffron spice extracts (*Crocus sativus* L.) upon thermal treatment. Journal of agricultural and food chemistry, 59(1), 249-255.
- Sanchez A.M., Carmona M., Ordoudi S.A., Tsimiou M.Z. et Alonso G.L. (2008). Kinetics of individual crocetin ester degradation in aqueous extracts of saffron (*Crocus sativus* L.) upon thermal treatment in the dark. Journal agricultural and food chemistry, 56 (5), 1627–1637.
- Schmidt, M., Betti, G., et Hensel, A. (2007). Saffron in phytotherapy: pharmacology and clinical uses. Wiener Medizinische Wochenschrift, 157(13-14), 315.
- Selim, K., Tsimidou, M., et Biliaderis, C. G. (2000). Kinetic studies of degradation of saffron carotenoids encapsulated in amorphous polymer matrices. Food Chemistry, 71(2), 199-206.
- Siracusa L., Gresta F., et Ruberto, G. (2011). Saffron (*Crocus sativus* L.) apocarotenoids: a review of their biomolecular features and biological activity perspectives. Carotenoids: Properties, Effects and Diseases. Nova Science Publ. Inc., NY, USA, 145-178.
- Soeda S., Ochiai T., Shimeno H., Saito H., Abe K., Tanaka H. et Shoyama Y. (2007). Pharmacological activities of crocin in saffron. Journal of Natural Medicines, 61(2), 102-111.
- Srivastava R., Ahmed H., Dixit R.K. (2010). *Crocus sativus* L. A comprehensive review. Pharmacognosy Reviews, 4(8), 200-208.

T

- Talbi L. et Medjbar W. (2017). Qualité physico-chimique du safran Algérien. Université de Bejaia. p. 43.
- Tamaddonfarda E., Erfanparasta A., Farshidb A.A., Imanic M., Mirzakanib N., Salighedara R. et Tamaddonfard S. (2019). Safranal, a constituent of saffron, exerts gastro-protective effects against indomethacin-induced gastric ulcer. Life Sciences. 224, 88-94.
- Tavakkol-Afshari J., Brook A. et Mousavi S.H. (2008). Study of cytotoxic and apoptogenic properties of saffron extract in human cancer cell lines. Food and Chemical Toxicology, 46(11), 3443-3447.

Tsimidou M. et Biliaderis G.C. (1997). Kinetic Studies of Saffron (*Crocus sativus* L.) Quality deterioration. *Journal agricultural food chemistry*, 45(8), 2890–2898.

Tsimidou M. et Tsatsaroni E. (1993). Stability of Saffron Pigments in Aqueous Extracts. *Journal of food science*, 58(5), 1073-1075.

V

Veisi A., Akbari G., Mard, S. A., Badfar, G., Zarezade, V., et Mirshekar, M. A. (2020). Rol

W

Winterhalter P. et Straubinger M. (2000). Saffron-renewed interest in an ancient spice. *Journal Food review international*, 16(1), 39-59.

X

Xuan B., Zhou Y.H., Li N., Min Z.D. et Chiou G.C. (1999). Effects of crocin analogs on ocular blood flow and retinal function. *Journal Ocul Pharmacol Ther.* Apr, 15(2), 143-152.

Y

Yasmin S. et Nehvi F.A. (2013). Saffron as a valuable spice: A comprehensive review. *African Journal of Agricultural Research*, 8(3), 234-242

Annexes

Annexe 01

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

Annexe 02



Figure A : Stockage à température de réfrigération 5°C après 8 jours et 16 jours



Figure B : Stockage à température de réfrigération 5°C de mélange après 1 jour et 11 jours



Figure C : Stockage à température ambiante de laboratoire 20°C après 8 jours et 16 jours



Figure D : Stockage à température ambiante de laboratoire 20°C de mélange après 1 jour et 11 jours

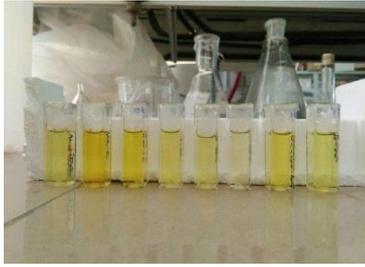


Figure E : Stockage à température 35°C après 8 jours et 16 jours



Figure F : Stockage à température 35°C de mélange après 1 jour et 11 jours

Résumé

Le safran est connu pour sa richesse en composés bioactifs bénéfiques, dont la picrocrocine, le safranal et la crocine qui reflètent sa qualité. Cette dernière a fait l'objet de notre étude centré sur l'effet du stockage de la crocine du safran. Ce travail expérimental s'est déroulé au sein du laboratoire de Biochimie alimentaire, département des Sciences alimentaires, faculté de la Science de la nature et de la vie de l'université de Bejaia. Pour cela nous avons utilisé une méthode de conservation avec une série de conservateurs dans différentes températures et un plan de mélange des meilleurs conservateurs. En effet, nos résultats révèlent que le stockage à des basses températures assure le maintien de la teneur de la crocine, par rapport aux températures élevées (35°C), tandis que la capacité des différents conservateurs utilisés a montré que l'acide ascorbique est le conservateur idéal pour la conservation de la crocine, suivi par l'EDTA et en fin par l'acide citrique. Ainsi, le couple acide ascorbique et acide citrique manifeste un très bon stockage de la crocine. Le stockage doit être réalisé dans des préparations d'acidité faibles et d'incorporation d'acide ascorbique ou du mélange d'acide ascorbique et d'acide citrique dans des températures basses.

Mots clés : Safran, crocine, picrocrocine, safranal, stockage, dégradation, conservateurs, plan de mélange.

Abstract

Saffron is known for its richness in beneficial bioactive compounds, including picrocrocin, safranal and crocin, which reflect its quality. The latter was the subject of our study, which focused on the effect of storing saffron crocin. This experimental work took place in the laboratory of Food Biochemistry, Department of Food Sciences, Faculty of Nature and Life Science of the University of Bejaia. For this, we used a method of conservation with series of preservatives in different temperatures and a mixing plan of the best preservatives. In fact, our results reveal that storage at low temperatures assure the maintenance of the content of the crocin, compared to high temperatures (35 ° C), while the capacity of the different preservatives used has shown that ascorbic acid is the ideal preservative for the preservation of crocin, followed by EDTA and finally by citric acid. Thus, the couple ascorbic acid and citric acid shows very good storage of crocin. Storage should be carried out in preparations of low acidity and incorporation of ascorbic acid or the mixture of ascorbic acid and citric acid at low temperatures.

Keywords: Saffron, crocin, picrocrocin, safranal, storage, degradation, preservatives, mixing plan.