

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

**Cinétique de dégradation de la crocine extraite
du safran**

Présenté par :

ISSAADI Yamina & KACI Cilya

Soutenu le : **17 Septembre 2020**

Devant le jury composé de :

Mme CHOUGUI Nadia	MCA	Présidente
Mr BACHIR BEY Mostapha	MCA	Encadreur
Mme BOUDJOU Souhila	MAB	Examinatrice

Année universitaire : 2019/2020

Remerciements

Toute notre parfaite gratitude et remerciement à Allah le plus puissant qui nous a donné la force, le courage et la volonté pour élaborer ce travail.

C'est avec une profonde reconnaissance et considération particulière qu'on remercie notre encadreur, **Mr BACHIR BEY Mostapha**, pour son soutien, ses conseils judicieux et sa grande bienveillance durant l'élaboration de ce projet. Nous saisissons également cette opportunité pour remercier les membres du laboratoire de biochimie alimentaire.

Ainsi nous exprimons notre reconnaissance à tous les membres de jury Mme **CHOUGUI Nadia** et Mme **BOUDJOU Souhila**, qui nous feront l'honneur de juger notre travail, de lire ce manuscrit et d'apporter les critiques nécessaires à la mise en forme de cet ouvrage

Enfin, à tous ceux qui ont aidé de près ou de loin pour la réalisation de ce projet de fin d'étude.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

*A mes parents aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de
l'amour dont ils ne cessent de me combler.*

*A mon très cher père regretté que dieu l'accueille dans son vaste
Paradis et procure bonne santé et longue vie à ma mère.*

A celui et celle qui m'ont soutenue tout au long de ce projet.

A mes chers frères Ali et Arezki.

A mes chères sœurs Kamilia, Nadia, Kahina, Soraya.

A tous mes amis et mes copines.

A toute la promotion de QPSA 2019-2020

*A toute la famille Issaadi et Bouaziz et tous ceux qui ont contribué
de près ou de loin dans ce projet, je vous dis merci.*

Yamina

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

A la personne la plus chère, que j'ai le perdu, mon père, merci pour ta meilleure éducation, tes sacrifices, ta tendresse, merci d'avoir mis en disposition tous les moyens possibles pour que ce jour arrive, tu resteras toujours présent dans mon cœur que Allah t'accueille dans son vaste paradis.

Ma mère que j'aime très fort et qui espère toujours ma réussite et prie le dieu de me protéger du mal.

Merci pour votre patience, pour votre aide, et de m'avoir toujours rassurée et soutenue dans ma vie.

A ma très chère grand-mère Imma Azouzou à qui je souhaite une longue vie pleine de santé et de prospérité, et à la mémoire, de ma grand-mère, Ima hedjila et mes deux grands-pères Akil et Youcef.

Mon bras droit, chère grand frère Boulam, sa femme Siham et son fils Eliane. Mes chers frères et sœur (Yacine, Amirouche, Salim, Djahid, Ledjida Lynda, Nedjima) merci pour votre soutien indéfectible.

*Mes nièces Dihia, Kenza, Farah, et mes neveux, Massi, koukou
A mon cher oncle Hanafi et toute ma grande famille Kaci, cousins et cousines
A ma camarade Yamina et sa famille*

Pour terminer un immense merci à mes amis, minou Silya, Soraya, Naïma et toute la promotion QPSA.

Cilya

Liste des abréviations

GABA_A ---- Récepteurs de l'acide gamma-aminobutyrique

APG III --- Groupe de phylogénie des angiospermes

AW ----- Activité de l'eau

CCM ----- Chromatographie sur couche mince

CsZCD ---- Crocus zéaxanthine 7,8(7',8') - clivage dioxygénase

DAD ----- Détection de barrettes de diodes

EDTA ----- Acide éthylène diamine tétra-acétique

HPLC ----- Chromatographie liquide à haute performance

HTCC ----- 4-hydroxy-2,6,6-triméthyl-1-cyclohexène-1-carboxaldéhyde

IDOI ----- 4,5,6,7-tétrahydro-7,7-diméthyl-5-oxo-3 *H*-isobenzofuranone

ISO ----- Organisation internationale de normalisation

MS ----- Spectrophotomètre de masse

Liste des figures

Figure 01 : Ancienne fresque minoenne de Knossos (Crète) représentant un homme (au corps bleu, marchant le dos voûté) récoltant les fleurs de safran.....	3
Figure 02 : Différentes parties de la fleur du <i>Crocus sativus</i> . 1 : pétales ; 2 : stigmates ; 3 : étamines 4 : bulbe	6
Figure 03 : Pays producteurs de safran	7
Figure 04 : Structure chimique de la crocétine.....	8
Figure 05 : Structure chimique de la crocine.....	9
Figure 06 : Structure chimique de la picrocrocine.....	9
Figure 07 : Formation du safranal par conversion chimique et enzymatique de la picrocrocine.....	10
Figure 08 : Plat préparé à base du riz utilisé dans la bouillabaisse française avec une soupe additionner du safran	11
Figure09 : Structures de quelques sucres et d'isomères cis et trans de crocétine impliqués dans les différentes structures de crocines du safran	13
Figure 10 : Structures des esters de crocétine identifiées pour la première fois.....	15
Figure 11 : Voie proposée pour la génération de safranal et isophorane d'une fraction enrichie en ester de trans crocétine lorsqu'il est soumis à la dégradation thermique.....	18
Figure 12 : Voies possibles de dégradation de la crocine	18
Figure 13 : Schéma de l'hydrolyse de la crocine en crocétine en milieu aqueux.....	21
Figure 14 : Localisation de la commune d'Iben Badis de la wilaya de Constantine.....	22
Figure 15 : Stigmates du safran.....	22
Figure16 : Cinétique de dégradation de la crocine sous la température de 100°C en utilisant des conservateurs acides (A), des conservateurs basiques et tampon phosphate (pH=7) (B).....	28
Figure17 : Cinétique de dégradation de la crocine sous la température de 125°C en utilisant des conservateurs acides (A), des conservateurs basiques et de tampon phosphate (pH 7) (B).....	30

Figure 18 : Cinétique de dégradation de la crocine sous la température de 150°C en utilisant des conservateurs acides (A), des conservateurs basiques et de tampon phosphate (pH 7) (B).....31

Figure 19 : Cinétique de dégradation de la crocine sous la température de 100°C, effet de sucre (Saccharose) et de sel (NaCl).....33

Figure 20 : Cinétique de dégradation de la crocine sous la température de 125°C, effet de sucre (Saccharose) et de sel (NaCl).....34

Figure 21 : Cinétique de dégradation de la crocine sous la température de 150°C, effet de sucre (Saccharose) et de sel (NaCl).....35

Liste des tableaux

Tableau I : Composition chimique du safran.....8

Tableau II : Les types de la crocine et leurs teneur exprimée en g/100g de safran sur une base sèche16

Tableau III : Effet combiné de l'acide ascorbique et de l'EDTA sur la rétention de couleur d'extrait aqueux de pigments de safran à 40°C, pH 5 et dans l'obscurité19

Tableau IV : Influence des conservateurs sur la rétention de couleur du l'extrait aqueux du safran à 40°C pH 5, dans l'obscurité20

Tableau V : Additifs utilisés dans cette étude.....23

Tableau VI : Effets des conservateurs sur la cinétique de dégradation de la crocine.....32

Table des matières

Partie bibliographique

Introduction	1
I- Safran	3
1. Origines et histoire du safran	3
2. Origine du mot safran.....	4
3. Caractéristiques botaniques.....	4
3.1. Classification botanique	4
3.2. Description de la plante	5
3.2.1. Bulbes	5
3.2.2. Feuilles	5
3.2.3. Fleur	6
4. Production mondiale	6
5. Composition chimique du safran	8
5.1. Crocétine.....	8
5.2. Crocine.....	9
5.3. Picrocrocine	9
5.4. Safranal.....	10
6. Commercialisation de safran	10
7. Utilisation de safran	11
7.1. Usage culinaire	11
7.2. Usage médicinal	12
II- Crocines	12
1. Structures chimiques	13
2. Propriétés.....	16
3. Cinétique de dégradation.....	17
3.1. Effet de traitement thermique.....	17
3.1.1. Pour la poudre du safran.....	17
3.1.2. Pour l'extrait aqueux de safran	18
3.2. Effet de la lumière	19
3.3. Effet des conservateurs.....	19
3.4. Effet de pH	20

Partie expérimentale

I. Matériel et méthodes	22
1. Matériel végétal.....	22
2. Produits chimiques utilisés.....	23
3. Préparation des solutions.....	24
3.1. Préparation de la solution tampon phosphate.....	24
3.2. Préparation des solutions des produits de conservation	24
3.3. Extraction de la crocine.....	24
4. Effet de la température sur la dégradation de la crocine	25
5. Analyses statistique	25
II. Résultats et discussion.....	26
1. Effet de la température sur la cinétique de dégradation de la crocine en présence des conservateurs	26
1.1. Cinétique de dégradation de la crocine à 100°C.....	26
1.2. Cinétique de dégradation de la crocine à 125°C.....	28
1.3. Cinétique de dégradation de la crocine à 150°C	29
1.4. Effet des conservateurs sur la crocine à différentes température	31
2. Effet de la température sur la cinétique de dégradation de la crocine en présence NaCl et saccharose.....	31
2.1. Cinétique de dégradation de la crocine à 100°C.....	31
2.2. Cinétique de dégradation de la crocine à 125°C.....	32
2.3. Cinétique de dégradation de la crocine à 150°C.....	33
3. Discussion des Résultats	34
3.1. Effet de la température de conservation sur la stabilité de la crocine	35
3.2. Effet de la présence des conservateurs sur la stabilité de la crocine	36
Conclusion	39

Références bibliographiques

Introduction

Introduction

Le safran, l'épice la plus chère provient de l'espèce *Crocus sativus* L. qui est une plante médicinale appartient à la famille des Iridacées. Il est cultivé et produit principalement en Iran, en Grèce, au Maroc, en Inde, en Espagne et en Italie. La poudre de safran est obtenue par une déshydratation des stigmates dont il faut 150 000 fleurs de crocus pour produire seulement 1 kg de safran sec (Palomares, 2015) et la récolte des fleurs et la séparation des stigmates se fait manuellement.

Le safran est utilisé pour ses propriétés culinaires, médicinales et cosmétiques, il est très employé dans les cuisines arabe, européenne, indienne et d'Asie centrale (Tsatsaroni et al., 1998), et rentre dans les préparations de boulangerie et de confiserie ainsi que dans les boissons. Le safran est utilisé aussi dans le cosmétique pour sa couleur attractive et son odeur caractéristique (Roia, 1966 ; Cannon et Cannon, 2003). Vu ses propriétés médicinales et antioxydantes, cette épice est utilisée contre différentes pathologies ; elle est indiquée comme antitussif (Hosseinzadeh et Ghenaati, 2006), génoprotecteur (Hosseinzadeh et Sadeghnia, 2007), aphrodisiaque (Hosseinzadeh et al., 2008), antidépresseur (Gutheil et al., 2012 ; Shafiee et al., 2018), anticancéreuse (Abdullaev, 2002), et neuroprotecteur (Essa et al., 2012), et toutes ces activités sont dues à la présence de substances biologiquement actives : crocine, safranal et picocrocine.

Le composé le plus intéressant dans le safran est la crocine qui est un caroténoïde glycosilé ce qui la rend de nature hydrophile. Ce composé est responsable de la couleur fascinante rouge dorée du safran. Vu la sensibilité de cette molécule aux différentes conditions de stockage et de traitement (pH, température, activité de l'eau et la lumière), elle subit des réactions d'isomérisation, d'oxydation et de dégradation (Alonso et al., 1993 ; Tsimidou et Tsatsaron, 1993 ; Orfanou et Tsimidou, 1995). Dans les industries agroalimentaires, de nombreux conservateurs sont utilisés afin de conserver les différents ingrédients sensibles aux variables traitements industriels et durant le stockage.

Cette investigation a pour objectif l'étude de la cinétique de dégradation de la crocine en fonction de deux paramètres, température et temps, en présence des conservateurs dans un milieu aqueux.

Afin d'arriver à cette fin, ce travail comporte deux grandes parties. Dont la première est consacrée à la synthèse bibliographique qui composée de deux chapitre le premier résume l'origine, caractéristique botanique, composition chimique et utilisations du safran et l'autre, un aperçu sur la famille des crocines. La seconde partie concerne la partie expérimentale dont la première section est consacrée aux matériel et méthodes utilisés et la deuxième regroupe les différents résultats obtenus ainsi que leurs discussions. Le travail s'achève par une conclusion et quelques perspectives.

Partie bibliographique

Safran

1. Origines et histoire du safran

Le safran est l'épice qui est élaborée à partir de la plante *Crocus sativus* et qui a accompagné toutes les civilisations, que ce soit pour son usage culinaire ou pour ses propriétés médicinales. La figure 1 montre la plus ancienne représentation qui date entre 1600-1700 av. J.-C. Ce tableau a été trouvé sur les murs de fresque du palais de Minos en Crète, représentant une personne cueillant du safran (Hood ,1978).



Figure 01 : Ancienne fresque minoenne de Knossos (Crète) représentant un homme (au corps bleu, marchant le dos voûté) récoltant les fleurs de safran (Hood ,1978)

L'origine et la domestication de safran restent encore obscures et vagues, certains pensent qu'il vient d'Asie centrale, mais d'après les recherches botaniques de Negbi, le *Crocus sativus* est apparu en Crète à la fin de l'âge du bronze (Negbi, 1999) et à partir de cette zone que le safran serait cultivé avec une production localisée à Derbent, Ispahan et Transoxanie et suit à ces productions que le safran aurait été transporté en Chine et Inde et aux pays du Moyen-Orient, et à partir de ces pays que la culture du safran a été introduit en Afrique de nord aux environs de 9 siècle par les Arabes puis la civilisation maure qui la diffuse en Espagne musulmane (Lage et al., 2007). Ensuite il est apparu en Europe occidentale et en Algérie durant l'invasion française.

Le safran est également désigné par l'appellation « or rouge » suite à sa haute valeur, cette précieuse épice suit le cours de l'or, étant la plus chère au monde. Son coût de revient élevé n'est pas dû à sa rareté, mais à la cherté de la main d'œuvre à cause de sa production laborieuse.

2. Origine du mot safran

Le safran dérive d'une plante scientifiquement connue sous le nom *Crocus sativus* Linnaeus, le nom de la plante adoptée par le scientifique Carl Von Linné en (1754) vient du mot grec *krokos*, qui signifie filament qui fait allusion aux stigmates grêle et allongé qui représente la partie la plus importante de la plante qui donne l'épice. Le terme *sativus*, signifie cultiver, car le *crocus sativus* il n'existe pas sous forme spontanée, mais c'est l'Homme qui assure la culture de cette plante (Dupont, 2001).

Le mot français « safran » revient au 12 siècle, qui est tiré du latin *safranum* qui est également lié au *zafferano* italien et *Azafrán* espagnol lui-même vient du mot arabe « asfar » qui signifie jaune (Katzner, 2001). Le mot *za'farān* est l'appellation de l'épice en arabe. Selon d'autres sources, *safranum* viendrait du persan *Zarparan*, *zar* signifiant « or » et d'un autre mot signifiant « plume », ou « stigmate ». La ressemblance des appellations par les différentes langues renseignent sur la même origine du mot (Favre, 2008) : *Zaferan* ou *Za'faran* (arabe), *Saffron* (anglais), *Safran* (français et allemand), *Zafora* (grec), *Sahafran* (rousse), *Safuran* (japonais), *Szafran* (polonais), *Zafferano* (italien) et *Azafran* (espagnol).

3. Caractéristiques botaniques

3.1. Classification botanique

Crocus sativus L. appartient à la famille des *Iridaceae* et genre *crocus*. Ce dernier comprend plus de 80 espèces qui sont réparties en deux groupes de *crocus* : *crocus* à floraison automnale (Ex. *Crocus sativus*) et *crocus* à floraison printanière (Ex. *Crocus vernus*). Afin de différencier les angiospermes, Arthur Cronquist a publié une classification classique des angiospermes dans « An Integrated System of Classification of Flowering Plants » en 1981, cette classification est basée sur des critères morphologiques, anatomiques et chimiques, mais qui ignore le critère phylogénétique (Dupont, 2007). Mais la classification la plus importante aujourd'hui pour les angiospermes est la classification APGIII (2009). Car elle est basée sur le critère phylogénétique (Anonyme 1). La classification de *Crocus sativus* L. est comme suit :

Règne : végétal

Embranchement : Spermatophyte

Sous-embranchement : Angiospermes (Magnoliophyta)

Classe : Monocotylédone (Liliopsida)

Sous-classe : Liliidae

Ordre : Liliales

Famille : Iridaceae

Sous-famille : Crocoïdeae

Genre : *Crocus*

Espèce : *Crocus sativus* L.

3.2. Description de la plante

Le safran est une petite plante, elle peut atteindre jusqu'à 25cm de hauteur, pérenne et vivace. Le *Crocus sativus* espèce triploïde issue d'un ancêtre sauvage *Crocus cartwrightianus*, une plante diploïde qui a été sélectionnée par les producteurs qui cherchent une productivité importante en stigmates. L'analyse de l'ADN de *Crocus sativus* confirme que *Crocus cartwrightianus* est l'ancêtre le plus vraisemblable du safran (Grilli et al., 2001).

Le *Crocus sativus*, comme toutes les plantes, est constitué de deux parties : une partie souterraine (corme) et une partie aérienne (fleurs et feuilles).

3.2.1. Bulbes

Le bulbe du *Crocus sativus* est un organe souterrain qui accumule les substances de réserves nécessaires à la floraison et au bourgeonnement, appelé vulgairement oignon, c'est un petit globule brun de forme subovoïdale d'environ 4,5 cm de diamètre, est couvert de plusieurs tuniques fibreuses réticulées, ayant un rôle de protection et aussi de générer les futures feuilles et fleurs, car la plante se reproduit d'une manière végétative chaque corme après la floraison donnera naissance à plusieurs petites cormes (Figure 2).

3.2.2. Feuilles

Les feuilles varient de 5 à 11 par bourgeon et apparaissent pendant ou aussitôt après la fleur. Sont étroites, droites et mesurent entre 1,5 et 2,5 mm de couleur vert foncée (Figure 2).

3.2.3. Fleur

La fleur issue d'une floraison automnale (Figure 2), formée de 6 pétales violets, de 3 étamines et d'un pistil (Deo, 2003), qui est composée d'un ovaire inférieur à partir duquel sont style est divisé en 3 branches de couleur rouge intense appelées stigmates, qui sont odorants et constituent le safran du commerce une fois desséché, c'est la partie la plus intéressante pour l'homme (Ursat, 1913).



Figure 2 : Différentes parties de la fleur du *Crocus sativus*. 1 : pétales ; 2 : stigmates ; 3 : étamines 4 : bulbe (Lachaud, 2012).

4. Production mondiale

Parmi les produits du terroir, le safran occupe une place à part pour ce qui est de sa culture, de sa cueillette et de sa commercialisation. Les pays majoritaires responsables de la production de safran pour le commerce sont l'Iran (150 à 170 t/an), la Grèce (5 à 7 t/an), le Maroc (2 à 3 t/an), l'Espagne (1t/an), l'Inde (dans les massifs montagneux du Cachemire) (Figure 3). Ces pays sont les premiers exportateurs mondiaux du safran. À plus petite échelle, on retrouve la France (Gâtinais, Quercy), le canton du Valais en Suisse, l'Italie, la région de Safranbolu en Turquie, l'Azerbaïdjan, la province du Baloutchistan au Pakistan, la Chine, le Japon et la Pennsylvanie aux États-Unis (Teusher et al., 2005) (San Mames, 2001).

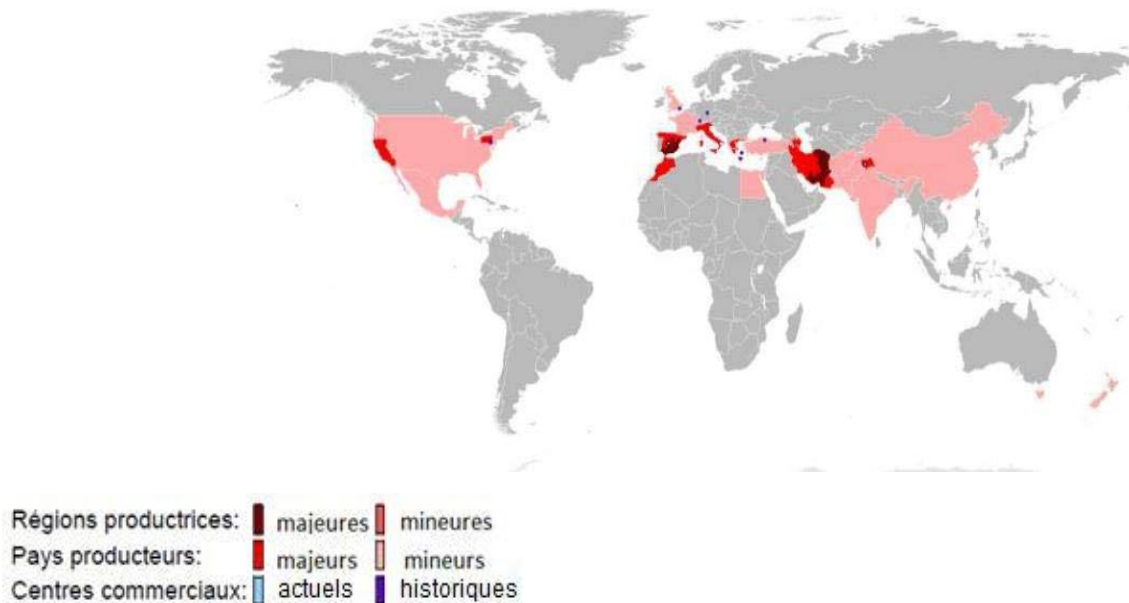


Figure 3 : Pays producteurs de safran (Palomares, 2015).

Pour l'Algérie, l'histoire d'évolution de la culture du safran a lieu dans les années 1920 au jardin de l'Hamma, on recommande depuis cette époque son adoption comme culture familiale dans les régions arrosées et même dans les régions sèches (Chevalier, 1926). Actuellement la culture de safran est lancée dans 25 wilayas du pays avec l'aide de M. Rouibi qui a partagé son expérience pour former quelque 500 agriculteurs qui ont tous réussis. De son côté, Chikhi Aïssa, qui a eu une expérience réussie à Ain Fezza (wilaya de Tlemcen), a expliqué que la création de la maison du safran algérien a pour but d'évaluer toute surface qui permet de produire ce type d'épice aromatique et de déterminer la quantité produite, qui fait partie des ambitions de producteurs, sachant que l'Algérie a les capacités de réaliser une grande production afin de commercialiser ce produit au niveau local et son exportation (Anonyme 2). La quantité produite à travers le territoire national algérien atteint environ 10 à 15 kg de safran pur, une quantité appelée à une augmentation (Loukil, 2018). Pour assurer un meilleur emplacement du safran sur le marché international, un échantillon a été analysé par un laboratoire d'un pays étranger qui a évalué les forces organoleptiques du produit. Les conclusions de ces analyses certifient la conformité de Safran par la norme ISO 3632 (Anonyme 3).

5. Composition chimique du safran

Le safran est une épice rare, d'une qualité exceptionnellement riche en antioxydants et en composants bioactifs. Obtenue par la déshydratation des stigmates des fleurs de *Crocus sativus* renfermant une composition diversifiée en molécules bioactives (Dharmananda, 2005). Le safran contient plusieurs composés (Tableau I) comme les glucides, l'eau, les matières azotées, non azotés, fibres, cendres, vitamines et protéine aussi il renferme une bonne source de minéraux comme le fer, le calcium, le magnésium, le cuivre manganèse, le potassium, le phosphore, le zinc, et le sodium (Rios et al., 1996).

Tableau I : Composition chimique approximative des stigmates commerciaux (% massique). (Bergoin, 2005)

Composant	Proportion %MS
Humidité	10
Matière hydrosoluble	35
Sucre	14
Gommes	10
Pentosanes	8
Pectine	6
Amidon	6
α -crocine	2
D'autre caroténoïdes	1
Protéines	12
Matières inorganique	6
Huiles non volatiles	6
Huiles volatiles	1
Fibres brutes	5

L'analyse chimique des stigmates de *C. sativus* a montré la présence d'environ 150 composants volatils. Il possède également plusieurs composants non volatiles dont environ 50 constituants sont identifiés. Les principaux composés biologiquement actifs sont :

5.1. Crocétine

La crocétine est un caroténoïde dicarboxylique, insoluble dans l'eau et dans la plupart des solvants organiques et sa structure illustrée dans la figure 4. Selon Rödel (1991), le clivage des doubles liaisons adjacentes aux cycles de la zéaxanthine entraîne la formation d'une molécule de crocétine et de deux molécules de picrocrocine. Cette hypothèse confirme une étude antérieure menée par Buchecker et al. (1973). La biosynthèse de cette molécule peut être aussi résultat de l'hydrolyse de la crocine glycosides dans un milieu acide ou alcalin. La

glycosylation de la crocétine par l'uridine-5'-diphosphoglucose-crocétine 8,8'-glucosyl transférase donne naissance à la crocine.

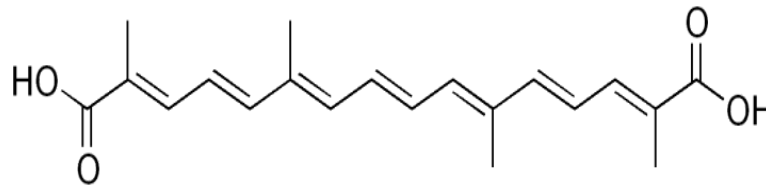


Figure 4 : Structure chimique de la crocétine (Kalalinia et al., 2018).

5.2. Crocine

C'est une molécule formée à partir de la dégradation métabolique de la zéaxanthine via une réaction d'estérification avec des sucres, ce diester est formé à partir de la crocétine ; la fonction acide de chacune des deux extrémités est estérifiée par un diholoside, le gentiobiose le plus souvent, comme c'est mentionné dans la figure 5 (Melnyk et al., 2010).

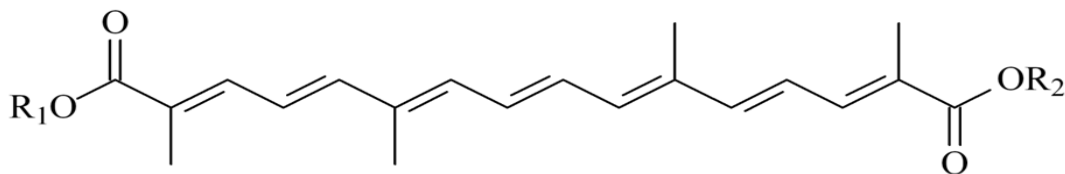


Figure 5 : Structure chimique de la crocine (Lechtenberg et al., 2008)

R₁ et R₂ sont des sucres peuvent être H, glucose, gentiobiose et napolitanose.

La crocine fait partie des caroténoïdes qui sont connus par leur nature lipophile et qui sont responsables de la couleur jaune-orange de nombreux fruits et légumes. La crocine fait l'exception d'avoir une propriété hydrophile due la présence des groupements glycosides aux extrémités de cette molécule ce qui lui confère une solubilité élevée dans l'eau et donne une solution aqueuse de couleur orange (Bertoncelj et al., 2007). La crocine constitue environ 6 à 16% de la matière sèche totale du safran (Gregory et al., 2005).

5.3. Picrocrocine

La picrocrocine (C₁₆H₂₇O₇), un monoterpène glycosyle, est l'agent principal responsable du goût amer du safran (Chrysanthou et al., 2016). La picrocrocine est issue de la dégradation de la zéaxanthine par l'enzyme appelée CsZCD qui coupe la liaison aux deux extrémités pour former une molécule de crocétine et deux molécules de picrocrocine. Il a été isolé pour la première fois en 1922 (Winterstein et al., 1922) et sa structure est élucidée en 1934 (Figure 6).

La teneur de la picrocrocine varie entre 7 et 16% dans les stigmates séchés du safran (Delcampo et al., 2010).

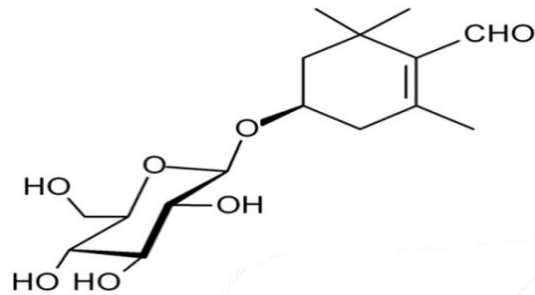


Figure 6 : Structure chimique de la picrocrocine (Lechtenberg et al., 2008).

5.4. Safranal

Le safranal (2,6,6-triméthylcyclohexa-1,3-diène-1-carboxaldéhyde) est le composé majoritaire de la fraction volatile du safran. C'est une molécule organique se présentant sous forme d'huile essentielle qui donne un arôme délicat caractéristique du safran. Au cours de processus de déshydratation et de stockage, le safranal est généré soit par l'hydrolyse enzymatique de la picrocrocine grâce à la β -glucosidase, à partir d'un intermédiaire HTCC, soit par un processus de dégradation oxydative (Figure 7). Le safranal représente entre 60% et 82% de la fraction volatile.

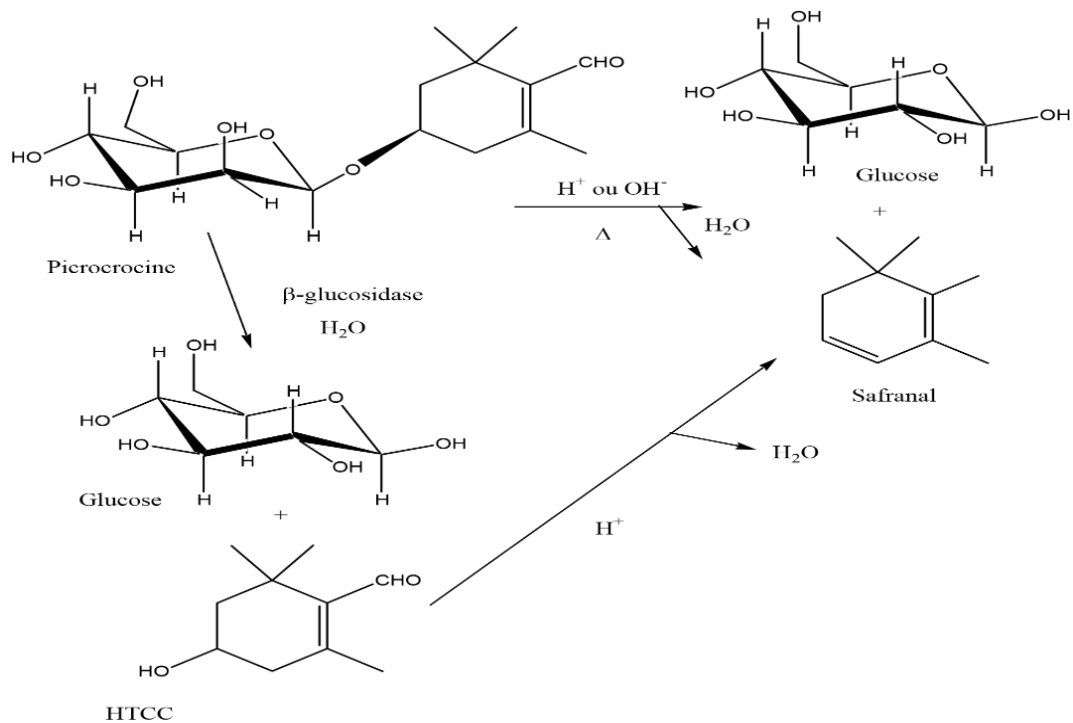


Figure 7: Formation du safranal par conversion chimique et enzymatique de la picrocrocine (Atyane et al., 2017).

6. Commercialisation de safran

La commercialisation de safran se fait soit en filament ou en poudre dans le marché international. Il est préférable acheter le safran en filament qu'en poudre, pour des raisons de qualité, car le safran est l'épice la plus falsifiée au monde. Il est plus facile de détecter des fraudes sur les filaments que sur la poudre. Le safran est utilisé dans différents domaines : pharmaceutique, coloration, parfumerie, peinture, textile et agroalimentaire.

7. Utilisation de safran

7.1. Usage culinaire

Le safran est la seule épice issue d'une fleur et considéré comme un extraordinaire exhausteur de goût. Il sublime la saveur de nombreux aliments tout en libérant son délicieux parfum et leur donnant une couleur jaune d'or (figure 8). Dans la cuisine espagnole, il est utilisé dans de nombreux plats tels que la Paella Valenciana, une spécialité à base de riz et la zarzuela, à base de poisson et également de poisson, Risotto milanais recette italienne. Les Iraniens utilisent le safran dans leurs plats tel que dans le chelowkabab. La cuisine indienne utilise cette épice dans ses biryanis, des plats traditionnels à base de riz. Elle est également utilisée dans certains bonbons comme gulabjaman et kulfi. Au Maroc, le safran est utilisé dans le thé au lieu de la menthe, mais aussi pour pimenter la préparation de divers plats traditionnels dont les koftas (boulettes de viande et tomates) oumrouzia (un plat sucré salé à base de mouton ou d'aneth) (Tsatsaroni et al., 1998).



Figure 8 : Plat préparé à base du riz utilisé dans la bouillabaisse française avec une soupe additionner du safran (Bathaie et al., 2014).

L'effet nocif des colorants alimentaires synthétiques a conduit à leur interdiction dans certains pays, comme le Japon, la Norvège et la Finlande, et le retour vers des colorants naturels est plus sûr. L'utilisation de safran autant que colorant alternatif est avantageuse dans l'agroalimentaire dû à la grande solubilité de la crocine dans l'eau (Tarantilis et al., 1995). Ainsi le pouvoir colorant de safran qui pourrait également être utilisé pour colorer le beurre, les pâtes, les fromages et les oléomargarines, simulant ainsi la présence d'œuf (Mougin, 1999).

7.2. Usage médicinal

Le safran est considéré comme un remède naturel en médecine traditionnelle depuis l'antiquité. On le trouve présent et utilisé dans de nombreuses médecines : dans la médecine traditionnelle perse, le safran est utilisé pour des problèmes de gorge, des troubles menstruels et en cas d'inflammation (Akhondzadeh et al., 2004), dans la médecine égyptienne, le safran était aussi un aphrodisiaque, un antidote couramment utilisé contre les empoisonnements, un stimulant digestif et un tonifiant pour la dysenterie et la rougeole, dans la médecine ayurvédique, le safran était utilisé pour traiter l'asthme, l'arthrite, les rhumes et comme aphrodisiaque et adaptogène (Bhandari, 2015), le safran a été aussi utilisé dans la médecine traditionnelle indienne pour le traitement des dysfonctionnements cognitifs. Plusieurs essais cliniques démontrent que l'extrait de safran possède un effet cytotoxique, antioxydant, anti-inflammatoire, anticonvulsif, antidépresseur et améliore également la mémoire et l'apprentissage et augmente le flux sanguin dans la rétine et la choroïde (Hosseinzadeh et al., 2012 ; Bolhassani et al., 2014 ; Razak et al., 2017 ; Bagur et al., 2018). Le safran contient des caroténoïdes, dont la crocine qui a un rôle dans la protection de la peau, les muqueuses, stimulent l'acuité visuelle, calment les douleurs d'estomac, désintoxiquent le foie et assurent une activité antioxydante, anticancéreuse (Abdullaev, 2002), anti-tumorale, antidépresseur (Gutheil et al., 2012) et facilitant également la récupération de la fonction rétinienne, empêchant ainsi la rétinopathie ischémique et la dégénérescence maculaire liée à l'âge qui entraîne une cécité (Bhargava, 2011). Le trans-crocétine bis (β -D-gentiobiosyl) ester (trans-4GG), le principal constituant de la crocine, inhibe la fibrillogénèse A-beta formé par l'oxydation des fibrilles de bêta-peptide amyloïde dans la maladie d'Alzheimer (Rahimi, 2015), il contient aussi de safranal qui possède une activité sédatrice, anticonvulsivante efficace qui agit comme un agoniste des récepteurs de l'acide gamma-aminobutyrique (GABA_A), en plus il a une activité antioxydante (Escribano et al., 1996), le safran agit sur le système nerveux, il est à la fois analgésique et tonique.

II- Crocines

L'extrait de stigmates de safran est très concentré en crocine qui est un caroténoïde naturel considérée comme le principal agent responsable de pouvoir colorant de cette épice (Carmona et al., 2006). La synthèse de la crocine provient de l'action d'une enzyme, la glucosyltransférase, sur la fonction carboxylique de la crocétine et un groupement hydroxyle du sucre pour former la liaison ester ; son activité est optimale à 40°C (Côté et al., 2000 ; Rubio Moraga et al., 2004).

La crocine a été signalée pour la première fois par Aschoff en 1818 (Aschoff, 1818), Decker a montré sa nature glycosidique et la structure de la crocine a été élucidée par Karrer et Salomon (Karrer et Salomon, 1928).

1. Structures chimiques

Actuellement, plusieurs structures chimiques de la crocine sont identifiées (Karkoulaet al., 2018 ; Moratalla-López et al., 2019). Pfander et ses collègues, sont les premiers qui ont isolé six esters de glycosides de crocétine dans le safran en 1982 (Pfander et al., 1982) (Figure 9).

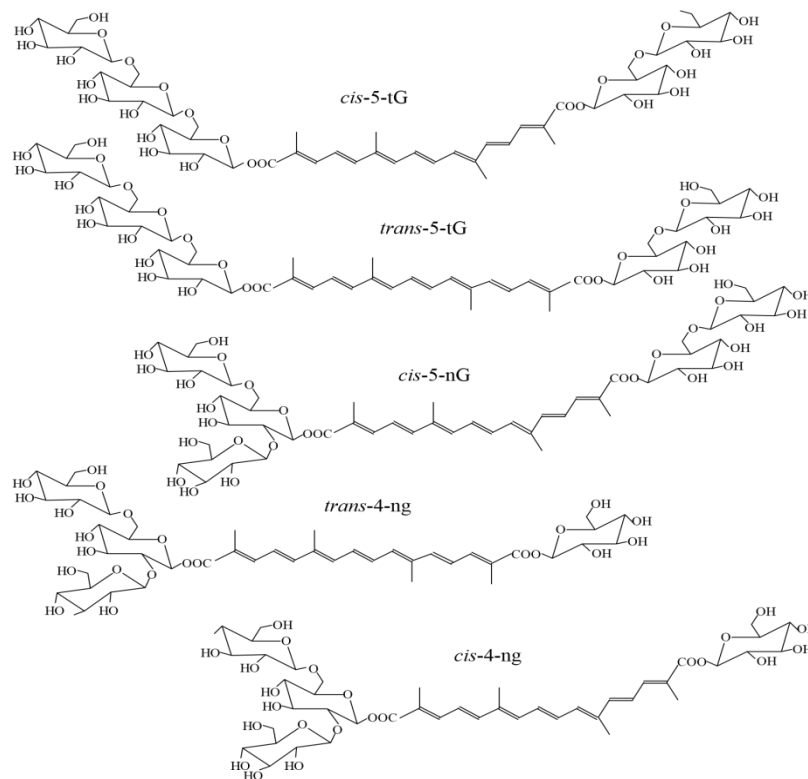


Figure 9 : Structures des esters de crocétine identifiées pour la première fois (Pfander et al., 1982).

Par la suite Speranza identifie leurs isomères cis et trans (Speranza et al., 1984). En 2006, Carmona a identifié quatre crocines (Carmona et al., 2006). L'identification se fait par des méthodes développées telles que la chromatographie liquide à haute performance avec un détecteur UV- visible (Speranza et al., 1984), la chromatographie à couche mince (CCM) et HPLC avec un détecteur UV à barrette de diode couplée à un spectrophotomètre de masse (HPLC-DAD-MS) (Carmona et al., 2006). La détermination globale de la teneur en crocines par la mesure de l'absorption à 440 nm d'un extrait aqueux de safran par spectrophotométrie UV-visible est souvent réalisée. La crocine présente des propriétés d'absorption dans le visible à cause de la présence d'au moins sept doubles liaisons conjuguées. (Corradi et Micheli, 1979).

On distingue plusieurs classes des esters de crocétine (crocines) qui se trouve dans le safran identifié par différents auteurs (Pfander et al., 1982 ; Speranza et al., 1984 ; Tarantilis et al., 1995 ; Carmona et al., 2006) :

- trans/cis- crocétine(β - D -trigentiobiosyl) (β - D -gentiobiosyl) ester. R1 : D R2 : A
- trans/cis- crocétine (β - D- napolitanosyl) (β - D -gentiobiosyl) ester. R1 : C R2 : A
- trans /cis- crocétine bis (β - D –gentiobiosyl) ester. R1=R2 : A
- trans /cis-crocétine (β - D- napolitanosyl) (β - D- glucosyl) ester. R1 : C R2 : B
- trans / cis- crocétine (β - D -gentiobiosyl) (β - D- glucosyl)ester R1 : A R2 : B
- trans /cis- crocétine bis (β - D- glucosyl) ester. R1=R2 : B
- trans / cis- crocétine mono (β - D -gentiobiosyl) ester. R1 : H R2 : A
- trans /cis- crocétine mono (β - D- glucosyl) ester R1: H R2: B

Les classes sont données selon leurs sucres et leurs isomères de crocétine, comme elle est montrée dans la figure 10.

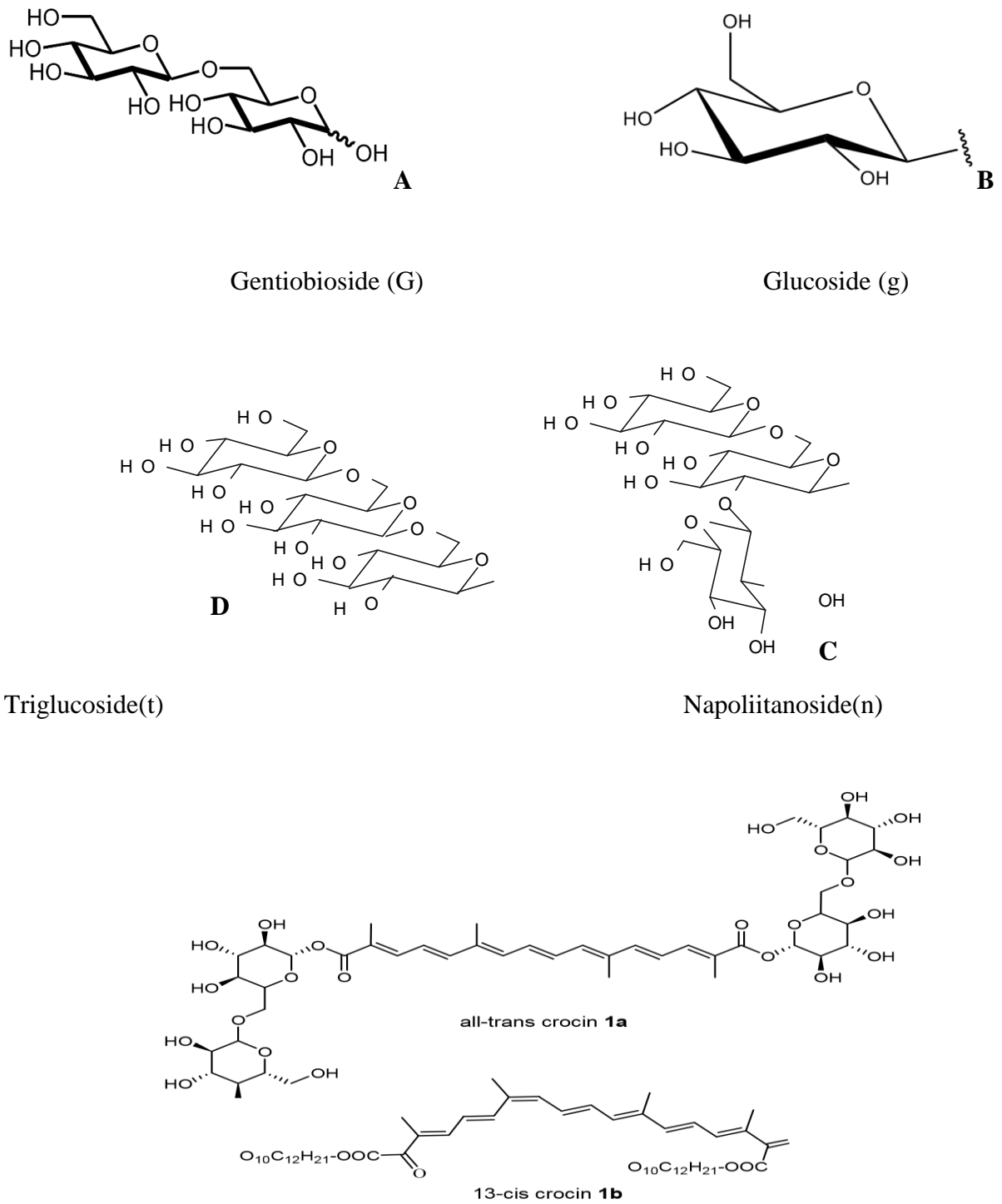


Figure 10 : Structures de quelques sucres et d'isomères cis et trans de crocétine impliqués dans les différentes structures de crocines du safran (Carmona et al., 2006).

Les différentes crocines ainsi que leurs propriétés sont regroupées dans le tableau II. L'abréviation fait la référence aux formes isomères cis et trans a été écrite avec un trait d'union séparant le nombre total de fractions glucose aux deux extrémités de la molécule de base. Ensuite, la distribution des fragments de glucose a été indiquée comme (t) triglucoside, (n) napolitanoside, (G) gentiobioside, ou (g) glucoside. Le nom de la structure de base des esters de crocétine a été supprimé, car il s'agit du même composé, cette abréviation elle est adoptée par Carmona et ses collègues (Carmona et al., 2006). Les teneurs des différentes classes sont exprimées en g/100g sur une base sèche de safran, elles sont dans l'ordre décroissant trans-4-GG> trans-3-Gg> trans-2-G> trans-2-gg> cis-4-GG (Sanchez et al., 2008).

Tableau II : Les types de la crocine et leurs teneur exprimée en g/100g de safran sur une base sèche (Sanchez et al., 2008).

Nombre de glucose	Types de la crocine	Isomères	Sucre	Contenu moyen en g/100g
5	trans-5tG	Trans	triglucoside/gentiobioside	0,36
	cis-5tG	Cis		
	trans-5nG	Trans	neapolitanoside/gentiobioside	0.38
	cis-5nG	Cis		
4	trans-4GG	Trans	gentiobioside/gentiobioside	15,72
	cis-4GG	Cis		0.48
4	trans-4ng	Trans	neapolitanoside/glucoside	
	cis-4ng	Cis		
3	trans-3Gg	Trans	gentiobioside/glucoside	7,64
	cis-3Gg	Cis		0.24
2	trans-2G	Trans	gentiobiose/hydrogène	0.60
	cis-2G	Cis		
2	trans-2gg	trans	glucose/glucose	0.98
	cis-2gg	Cis		
1	trans-1g	Trans	Glucose	0.09
	cis-1g	Cis		

2. Propriétés de la crocine

La propriété principale la plus importante du safran est la couleur jaune en raison de sa teneur élevée en crocine. La crocine est le principal pigment colorant (Pfander et Wittwer, 1975 ; Tsimidou et Tsatsaroni, 1993), qui appartient au groupe de caroténoïdes hydrophiles, qui sont soit des esters polyènes monoglycosylés ou diglycosylés de la crocétine. La crocétine est un polyène de diacide carboxylique conjugué hydrophobe, et donc liposoluble. L'estérification de la crocétine avec des sucres donne un produit hydrosoluble.

La crocine possède une couleur rouge intense et forme des cristaux avec un point de fusion de 186°C ainsi que leurs liaisons glycosidiques sont facilement hydrolysées par une réaction alcaline et acide (Petros et al., 1994). Les crocines trans par rapport à leurs isomères cis ont un point de fusion plus élevé.

La teneur totale en crocine dans l'extrait aqueux de safran représente 60%. En particulier, l'ester de trans bis- crocétine (β - D -gentiobiosyl), trans- crocétine (β - D -gentiobiosyl) (β - D -glucosyl) et ester cis- crocétine (β - D -gentiobiosyl) (β - D -glucosyl) ester, qui représentent plus de 95% du total des crocines. Le composé majoritaire est le trans- 4GG, qui représente 59% de la teneur totale en esters de crocétine de l'extrait aqueux du safran (Sanchez et al., 2008), et possédant une forte coloration en raison de sa grande solubilité dans l'eau (Tarantilis et al., 1995 ; Melnyk et al., 2010). La crocine est considérée comme un complément alimentaire de premier choix grâce à sa solubilité dans l'eau bien qu'il soit également soluble dans le méthanol et l'éthanol.

3. Cinétique de dégradation

Le safran a reçu une grande attention, car il est très utilisé dans les applications alimentaires, malgré de son prix élevé, car les consommateurs préfèrent les produits naturels, ainsi ses bienfaits pour la santé et leurs qualités médicales. En raison de la présence d'un grand nombre de crocine dans les stigmates du safran, des études cinétiques sur la perte des caroténoïdes ont été réalisées dans des conditions variables d'activité de l'eau (a_w), traitement thermique, la lumière et pH ainsi que les additifs (Tsimidou et Tsatsaroni, 1993; Alonso et al., 1993; Orfanou et Tsimidou, 1995), la dégradation de la crocine dans les extraits aqueux de safran et la poudre de safran due à la présence des doubles liaisons conjuguée dans une longue chaîne de carbone (pigments insaturés) (Carmona et al., 2006).

3.1. Effet du traitement thermique

3.1.1. Poudre du safran

Le safran est une épice obtenue par déshydratation des stigmates de *Crocus sativus* L., lors de ce processus, les substances volatiles telles que le safranal et d'autres produits chimiques volatils avec 9 ou 10 carbones, qui donne l'arôme au safran sont générés à partir de la picocrocine, mais une autre étude a montré que le safranal aurait lieu à partir des dérivés glycosidiques différents à la picocrocine (Carmona et al., 2006). Comme c'est indiqué dans la

Figure 11, au cours du processus de dégradation de la trans-crocine, les premiers composés générés sont 4-hydroxy-2,6,6-triméthyl-1-cyclohexène-1-carboxaldéhyde (HTCC) et 4,5,6,7-tétrahydro-7,7-diméthyl-5-oxo-3 *H*-isobenzofuranone (TDOI) ensuite le safranal.

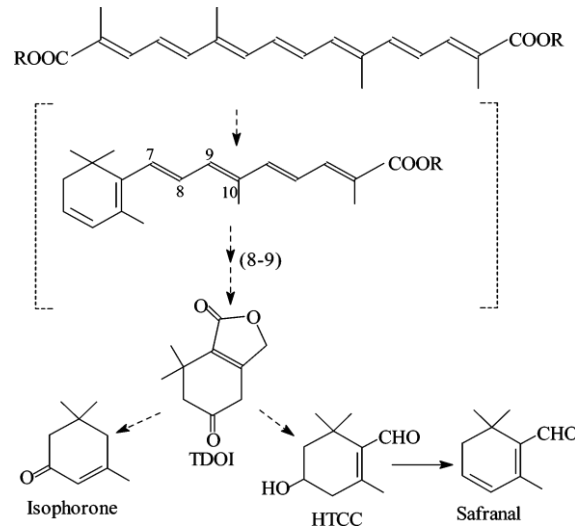


Figure 11 : Voie proposée pour la génération de safranal et isophorane d'une fraction enrichie en ester de trans crocétine lorsqu'il est soumis à la dégradation thermique (Carmona et al., 2006). R = H, glucose, gentiobiose ou napolitanose.

3.1.2. Extrait aqueux de safran

Généralement plusieurs chercheurs ont étudié la dégradation de la crocine à haute température. La crocine peut perdre un glucose ou une partie de gentiobiose et se transforme en un autre type de crocine (figure 12). En raison de la présence des liaisons glycosidiques instables, ce qui entraîne la diminution de la teneur des crocines de poids moléculaire élevé tel t-4GG, c-4GG et t-3Gg et la teneur croissante en crocine de faible poids t-2G, c-2G et de crocétine (Rocchi et al., 2018).

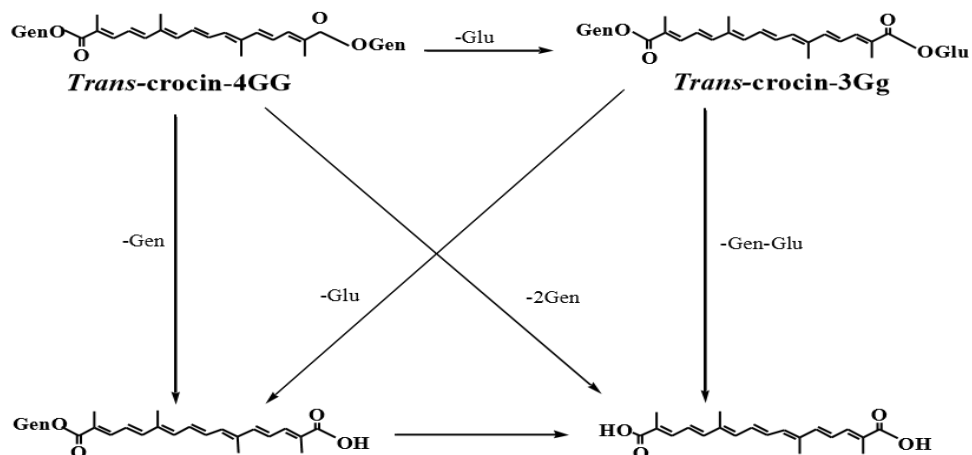


Figure 12 : Voies possibles de dégradation de la crocine (Li et al., 2019).

3.2. Effet de la lumière

La lumière a un effet sur la stabilité de la crocine comme d'autres caroténoïdes, des études ont montré que la teneur totale de crocine a diminué de manière significative avec l'augmentation du temps d'éclairage, cette diminution pourrait s'expliquer par la transformation de t-4GG, t-3Gg et t-2G en forme hydroperoxyde correspondant par des réactions d'oxydations qui se déclenche lorsqu'ils ont été exposés à une lumière fluorescente blanche. De plus, les composés de types alcool et cétone obtenus par clivage des formes monohydroperoxyde du t-2G (Manzocco et al., 2008). Elle est aussi transformée en isomères cis instable et moins coloré par une réaction d'isomérisation, comme t-4GG transformé en c-4GG pendant le traitement d'éclairage (Strain, 1963 ; Sarfaraz et al., 2015).

3.3. Effet des conservateurs

Selon Orfanou et Tsimidou (1995), la dégradation des pigments du safran dans l'extrait aqueux est influencée par l'ajout des conservateurs comme l'acide ascorbique. La dégradation a été suivie par la perte de la couleur mesurée par spectrophotométrie UV-visible à 442 nm. Cette étude a montré que l'ajout des concentrations faible de l'acide ascorbique provoque une perte accélérée de la couleur, mais la rétention de la couleur a été augmentée à des concentrations élevées de l'acide ascorbique. Cela indique que l'ajout de la vitamine C à un certain seuil est efficace pour stabiliser la crocine. Selon le tableau III, l'EDTA manifeste un effet également protecteur sur la crocine et la combinaison de l'acide ascorbique avec EDTA est plus efficace pour stabiliser la crocine.

Tableau III : Effet combiné de l'acide ascorbique et de l'EDTA sur la rétention de couleur d'extrait aqueux de pigments de safran à 40°C, pH 5 et dans l'obscurité (Orfanou et Tsimidou, 1995).

Additives	Rétention de la couleur à 442nm (%)					
	21		46		68	
Deux extraits aqueux de safran	A	B	A	B	A	B
Témoin	69	69	48	42	26	38
100ppm EDTA	79	75	55	52	39	26
100ppm EDTA +100ppm acide ascorbique	95	97	93	92	90	91

L'ajout d'autres conservateurs ont un effet négatif sur la rétention de la couleur de l'extrait tel que l'acide benzoïque, benzoate de sodium, acide p-hydroxybenzoïque et sorbate de potassium à 500 ppm. La perte de la couleur a été plus élevée pour le sorbate de potassium (Tableau IV).

Tableau IV : Influence des conservateurs sur la rétention de couleur de l'extrait aqueux du safran à 40°C pH 5, dans l'obscurité (Orfanou et Tsimidou, 1995).

Additives (500ppm)	Rétention de la couleur à 442nm (%)	
Temps de chauffage (heures)	42	
Deux extraits aqueux de safran	A	B
Absence de conservateur	82	78
Acide benzoïque	70	72
Benzoate de sodium	72	72
Acide p-hydroxybenzoïque	72	75
Sorbate de potassium	51	51

3.4. Effet du pH

Les variations de pH affectent la stabilité des pigments du safran en milieu aqueux. Une étude a été réalisée à différents pH (3, 5 et 7) pour déterminer leur effet sur la crocine dans l'extrait aqueux, cette étude a été réalisée par Tsimidou et Tsatsaroni, (1993) dans des conditions d'obscurité à 40°C en présence de l'oxygène. Les résultats trouvés indiquent que le changement du pH influence la couleur des extraits, à pH 3, la décoloration des pigments de la crocine dans l'extrait est constatée après 40h, par contre à pH 5 et 7 la décoloration n'était pas vraiment intense (un faible changement de la couleur est constaté) et les constantes de vitesse à pH 5 et 7 diffèrent significativement de celles du pH 3.

Une autre expérience était réalisée toujours dans les mêmes conditions, mais en présence de la lumière afin de voir l'effet de la combinaison entre les deux paramètres (lumière et pH) sur la dégradation de la crocine. Les résultats montrent que l'obscurité ou la lumière n'a pas d'effet suivant la variation du pH (Tsimidou et Tsatsaroni, 1993).

La crocine avec une base alcaline (KOH) se transforme en crocétine (Figure 13), cette transformation aurait lieu dans un solvant polaire tel que l'éthylène glycol et l'eau, l'expérience a été répétée dans le butanol pour tester l'effet de la polarité le mieux, les auteurs ont constaté que l'eau est le solvant le plus favorable pour la dégradation, puisque l'hydrolyse se fait en une seule étape (Bjørk, 2008).

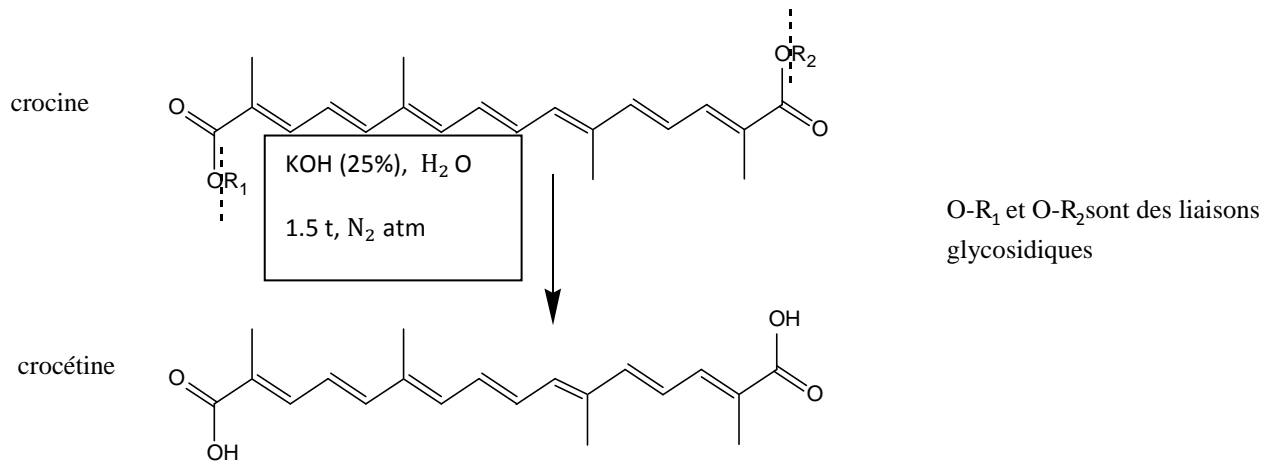


Figure 13 : Schéma de l'hydrolyse de la crocine en crocétine en milieu aqueux basique (Bjørk, 2008).

Partie expérimentale

Partie expérimentale

I. Matériel et méthodes

1. Matériel végétal

Pour la partie expérimentale, l'échantillon du safran utilisé a été récolté au mois d'octobre 2018 dans la ferme expérimentale de recherche de la commune d'Iben Badis de la wilaya de Constantine (Figure 14).



Figure 14. Localisation de la commune d'Iben Badis de la wilaya de Constantine

Le matériel végétal est constitué de stigmates de la plante *Crocus sativus* (Figure 15). Les stigmates sont séchés au niveau de la commune de récolte durant une dizaine de jours à 37°C pour avoir de safran sec. Le safran est transporté au Laboratoire de Biochimie Alimentaire (Université de Bejaia) dans un flacon en inox à froid. Une fois arrivé au laboratoire, l'échantillon est mis dans un congélateur.



Figure 15 : Stigmates du safran

Le safran sec a été broyé à l'aide d'un mortier et un pilon et la poudre a été tamisée à l'aide d'un tamis de porosité de diamètre de 250µm puis conservée dans un flacon hermétiquement fermé dans un congélateur à une température – 12 jusqu'à son utilisation.

2. Conservateurs utilisés

Afin de suivre la cinétique de dégradation de la crocine dans un milieu aqueux, de nombreux produits et composés sont utilisés dont les caractéristiques sont résumées dans le tableau V.

Tableau V : Additifs utilisés dans cette étude (Multon, 2009)

Composé		Code	Formule brute	Solubilité
Conservateurs Acides	Acide ascorbique	E200 (conservateur) E300 (antioxydant)	$C_6H_8O_6$	Soluble dans l'eau et alcool, insoluble dans les solvants organiques hydrophobe.
	Acide citrique	E330	$C_6H_8O_7$	Soluble dans l'eau, l'éthanol, insoluble dans le chloroforme
	Acide borique	E284	H_3BO_3	Soluble dans certains solvants organiques (méthanol, éthanol, glycérol, acétate d'éthyle, acétone)
	Acide benzoïque	E210	$C_7H_6O_2$	Soluble dans l'eau, les graisses et de l'éthanol anhydre
Conservateurs basiques	EDTA	E385	$C_{10}H_{16}N_2O_8$	Soluble dans l'eau
	Nitrate de sodium	E250	$NaNO_3$	Soluble dans l'eau, éthanol et méthanol
	Acétate de Sodium	E262	$C_2H_3NaO_2$	Soluble dans l'eau
Sel (Chlorure de sodium)		/	$NaCl$	Soluble dans l'eau et méthanol
Sucre (Saccharose)		/	$C_{12}H_{22}O_{11}$	Soluble dans l'eau et insoluble dans l'éthanol

3. Préparation des solutions

La cinétique de dégradation de la crocine consternant les conservateurs acides et basiques ont été préparés dans la solution tampon phosphate, cela permettra d'atténuer l'acidité et la basicité des conservateurs. Alors que l'eau distillée est utilisée pour tester les effets du sel et du sucre.

3.1. Préparation de la solution tampon phosphate

La solution tampon phosphate à pH 7 est un mélange entre un acide faible et sa base conjuguée (0,2 M), l'hydrogénophosphate de sodium et le dihydrogénophosphate de sodium ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 / \text{NaH}_2\text{PO}_4$).

3.2. Préparation des solutions des produits de conservation

Les solutions de conservation du safran sont préparées à partir d'une quantité précise pour chaque conservateur (1mg/ml de tampon) et à deux concentrations pour le sel (0,9 et 5% dans l'eau distillée) ainsi que pour le sucre (0,1 et 5% dans l'eau distillée).

3.3. Extraction de la crocine

Cette étape consiste à extraire le composé étudié à partir de la poudre du safran, en utilisant la solution tampon phosphate ou l'eau distillée suivant la norme [ISO 3236-2 \(2010\)](#) avec quelques modifications. L'extraction est réalisée en pesant 20mg de la poudre auxquels sont ajoutés 100ml de la solution tampon phosphate ou l'eau distillé. Après une agitation magnétique durant 20min, l'extrait est récupéré après décantation des particules de la poudre. Le tableau 06 résume les principales caractéristiques du crocine du safran.

Pour la détermination de la qualité du safran utilisé en termes de pouvoir colorant, l'absorbance spécifique est calculée suivant la formule suivante (ISO 3236-2, 2010) :

$$A_{\lambda_{max}}^1 = \frac{A_{440nm} \times 10000}{m(100 - H)}$$

Où $A_{\lambda_{max}}^1$ est l'absorbance à λ_{max} (440nm), m est la masse de l'échantillon du safran (g), H est la fraction massique de l'humidité et de teneur en matières volatiles de l'échantillon, qui est de 8%. 10000 est le facteur de dilution.

4. Effet de la température sur la dégradation de la crocine

Pour suivre la cinétique de dégradation de la crocine, 1,5ml d'extrait du safran sont introduits dans un tube à essai puis 1,5 ml de la solution de conservateur sont ajoutés ainsi que 6 ml de la solution du tampon phosphate. Les tubes à essai sont incubés à la température désirée (100, 125 et 150°C) et à chaque intervalle (t = 0, 10, 30, 60 et 90, et 120min), les tubes sont retirés de l'étuve puis refroidis. L'absorbance est lue par spectrophotomètre à 440nm contre un blanc préparé en remplaçant l'extrait de crocine par le solvant d'extraction et qui est incubé dans les mêmes conditions. Les résultats de la cinétique sont exprimés en pourcentages selon la formule suivant :

$$\text{Taux de crocine dégradée \%} = \frac{A_{t_0} \times A_{t_1}}{A_{t_0}} \times 100$$

Dans le cas de NaCl et de saccharose, la procédure suivie est la même que celles des conservateurs acides et basiques sauf que les solutions du safran, du sel et du sucre sont préparées par l'eau distillée au lieu de la solution du tampon phosphate et l'incubation est réalisée avec les mêmes températures pendant 4 heures, et les absorbances des solutions sont mesurées chaque une heure.

Cette investigation a pour but de suivre la cinétique de dégradation de la crocine en milieu aqueux sous l'effet de certains paramètres à savoir :

- Effet de la température et du temps : les solutions préparées afin de suivre la cinétique de dégradation de la crocine sont conservées à différentes températures (100, 125 et 150°C). Les solutions sont chauffées dans des tubes à essai à des temps variables (0, 10, 30, 60, 90 et 120min).
- Effet de la nature des conservateurs testés : l'ajout des conservateurs (conservateurs acides, basiques, sel et sucre) est réalisé afin d'examiner leurs effets sur la stabilité de la crocine sous les différentes températures et durant les temps variables.

5. Analyses statistique

Une analyse descriptive des résultats est réalisée à l'aide du logiciel Microsoft Office Excel 2013, afin de déterminer les moyennes et les écarts types des trois répétitions.

II. Résultats et discussion

1. Effet de la température sur la cinétique de dégradation de la crocine en présence des conservateurs acides et basiques

L'objectif de cette investigation est l'étude de la cinétique de dégradation de la crocine en présence des conservateurs et à différentes températures durant 2 heures.

1.1. Cinétique de dégradation de la crocine à 100°C

L'influence des conservateurs acides et basiques sur la stabilité de la crocine à 100°C est suivie pendant 2 heures (figure 16) et qui sont comparés à la solution tampon phosphate. La figure 16-A représente la cinétique de dégradation de la crocine en présence des conservateurs acides. Les résultats montrent que l'utilisation de l'acide ascorbique et l'acide citrique ont pu maintenir la concentration de la crocine durant les premières 60 min de conservation à 100°C. Cependant, avec les acides benzoïque et borique, la crocine est maintenue intacte juste durant les 30 premières minutes. La crocine par la suite commence à se dégrader, mais d'une manière ralentie. Au bout de la période de traitement, les taux de dégradation de la crocine atteignent la fourchette des pourcentages de 7,50% avec l'acide ascorbique et 14,38% en utilisant l'acide benzoïque. La figure 16- B illustre la cinétique de dégradation de la crocine en présence des conservateurs basiques et la solution du tampon phosphate (TP) de pH 7. Les résultats montrent que EDTA, TP et nitrate de sodium ont manifesté une conservation de la crocine jusqu'à une heure de conservation, par contre, avec l'acétate de sodium, la diminution de ce composé est entamée au bout des 30 min de chauffage. Le l'EDTA est le conservateur basique qui présente le pourcentage de dégradation le moins élevé avec 8%, alors que le nitrate de sodium est le moins indiqué avec une dégradation de la crocine enregistrée en fin de chauffage de 26%. L'analyse statistique des données de l'effet de chauffage sur la dégradation de la crocine à 100°C montre que l'acide ascorbique et l'EDTA et l'acide citrique sont les meilleurs conservateurs ; les autres conservateurs sont moins efficaces avec des potentiels rapprochés.

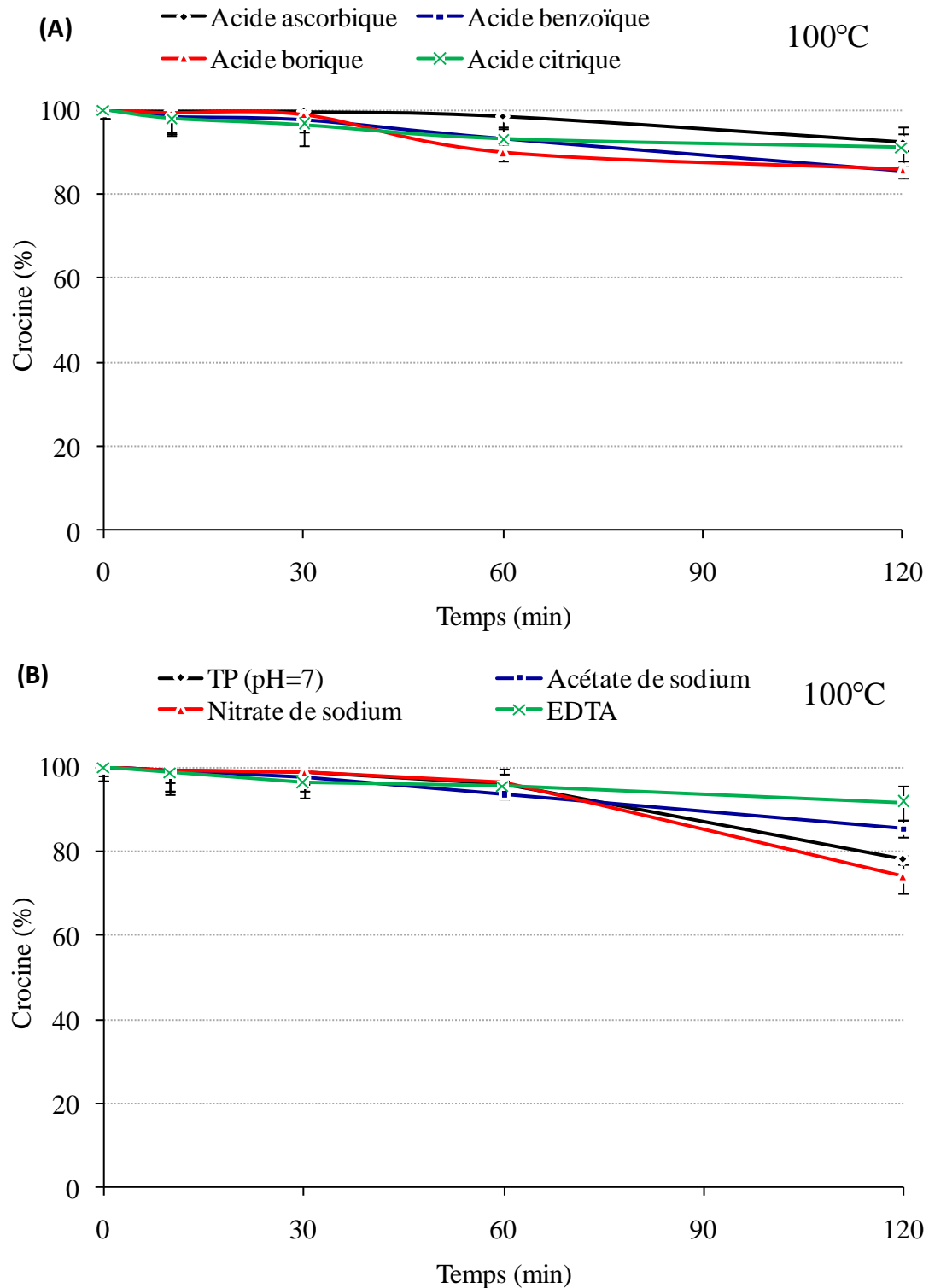
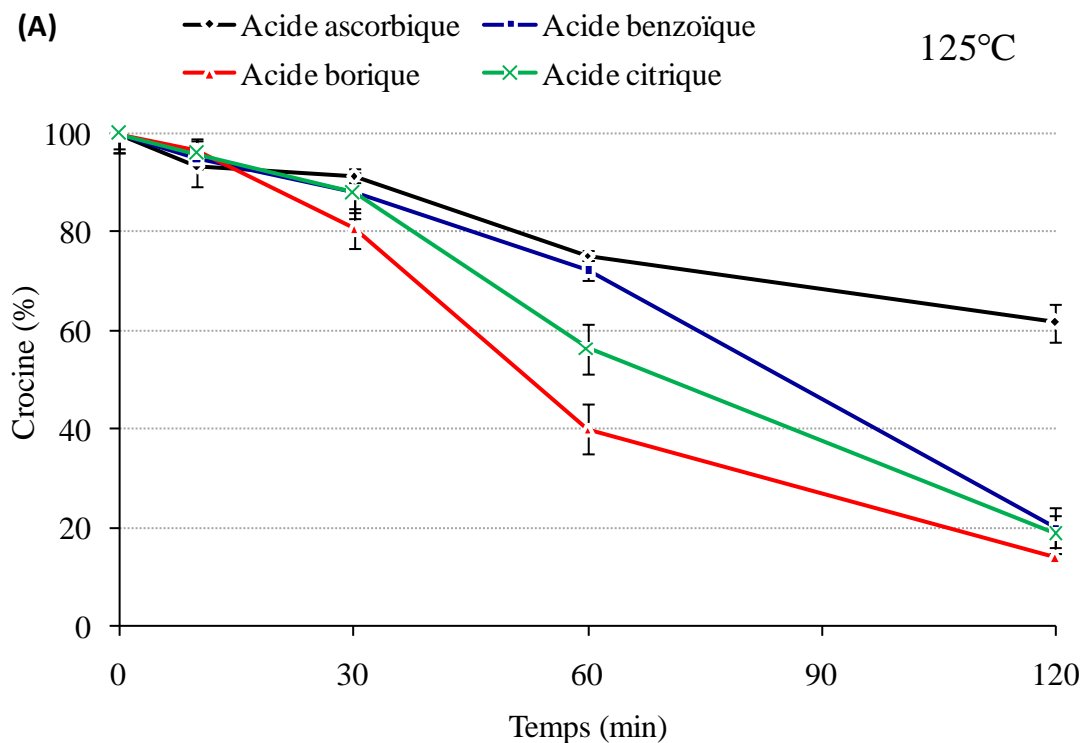


Figure 16 : Cinétique de dégradation de la crocine sous la température de 100°C en utilisant des conservateurs acides (A), des conservateurs basiques et tampon phosphate (pH=7) (B).

1.2. Cinétique de dégradation de la crocine à 125°C

L'influence des conservateurs acides et basiques et TP sur la conservation de la crocine à 125°C est suivie pendant deux heures. Les résultats sont regroupés dans la figure 17. La cinétique de dégradation de la crocine en présence des conservateurs acides est représentée figure 17- A. Cette dernière montre que globalement les conservateurs acides ont pu conserver la crocine durant les 10 premières minutes du traitement, la dégradation effective apparaît clairement au bout de 30min en particulier pour l'acide borique. Au bout de la période de traitement, les taux de dégradation de la crocine sont très élevés pour les acides borique, benzoïque et citrique avec 87, 80 et 78%, respectivement. Tandis que l'acide ascorbique est le conservateur acide qui présente un taux de dégradation le plus faible (38%). La figure 17- B illustre la cinétique de dégradation de la crocine en présence des conservateurs basiques et la solution du tampon phosphate (pH 7). Les résultats montrent qu'il y a une diminution rapide du taux de la crocine pour tous les conservateurs basique et TP. Dans le cas de l'acétate de sodium, nitrate de sodium et TP, les taux de dégradation de la crocine dépassent 80%. Alors, que la crocine présentait une stabilité bien plus importante en présence de l'EDTA avec un taux de conservation qui dépasse moitié.



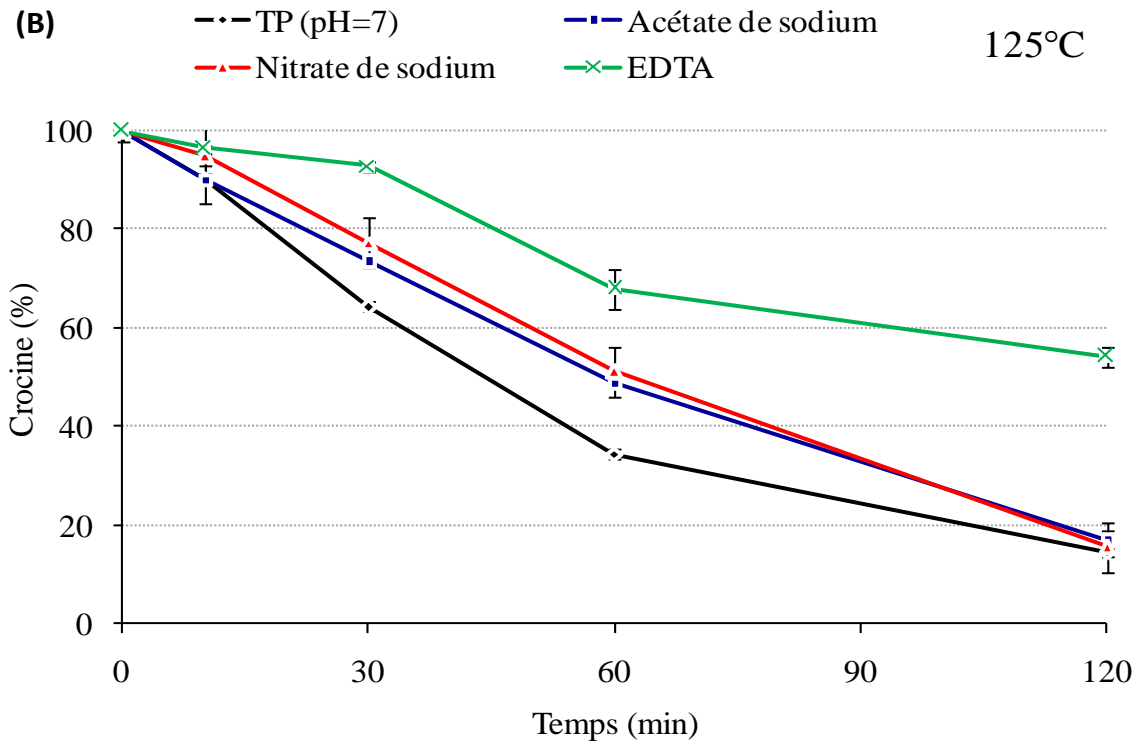


Figure17 : Cinétique de dégradation de la crocine sous la température de 125°C en utilisant des conservateurs acides (A), des conservateurs basiques et de tampon phosphate (pH 7) (B).

1.3. Cinétique de dégradation de la crocine à 150°C°

Nous avons étudié la stabilité de la crocine à des températures élevées et en présence des conservateurs acides et basiques et la solution du tampon phosphate (pH 7). Les résultats sont illustrés dans la figure 18. La figure 18- A représente la cinétique de dégradation de la crocine en présence des conservateurs acides à 150°C. Les résultats montrent que la crocine est conservée pendant les 10 premières minutes du traitement thermique pour l'acide ascorbique. Cependant, avec l'acide citrique, acide borique et l'acide benzoïque, la crocine commence directement à se dégrader. Après 120 min du traitement, le taux de dégradation de la crocine est 100% avec l'acide borique. Alors qu'en présence de l'acide ascorbique, acide citrique et acide benzoïque, nous avons remarqué une diminution de taux de dégradation de la crocine environ 46.16 %, 78.19 % et 82.59 % respectivement. La figure 18-B illustre la cinétique de dégradation de la crocine en présence des conservateurs basiques et la solution du tampon phosphate (pH 7). Les résultats indiquent que la crocine diminue très rapidement avec l'augmentation de temps de chauffage. La crocine est complètement dégradée en utilisant de l'acétate de sodium, alors qu'avec l'EDTA le taux de dégradation de la crocine atteignent la fourchette de pourcentage de 61,79 %. L'analyse statistique des données obtenues a montré

que la crocine est mieux conservée en présence de l'acide ascorbique qu'en présence d'autres conservateurs.

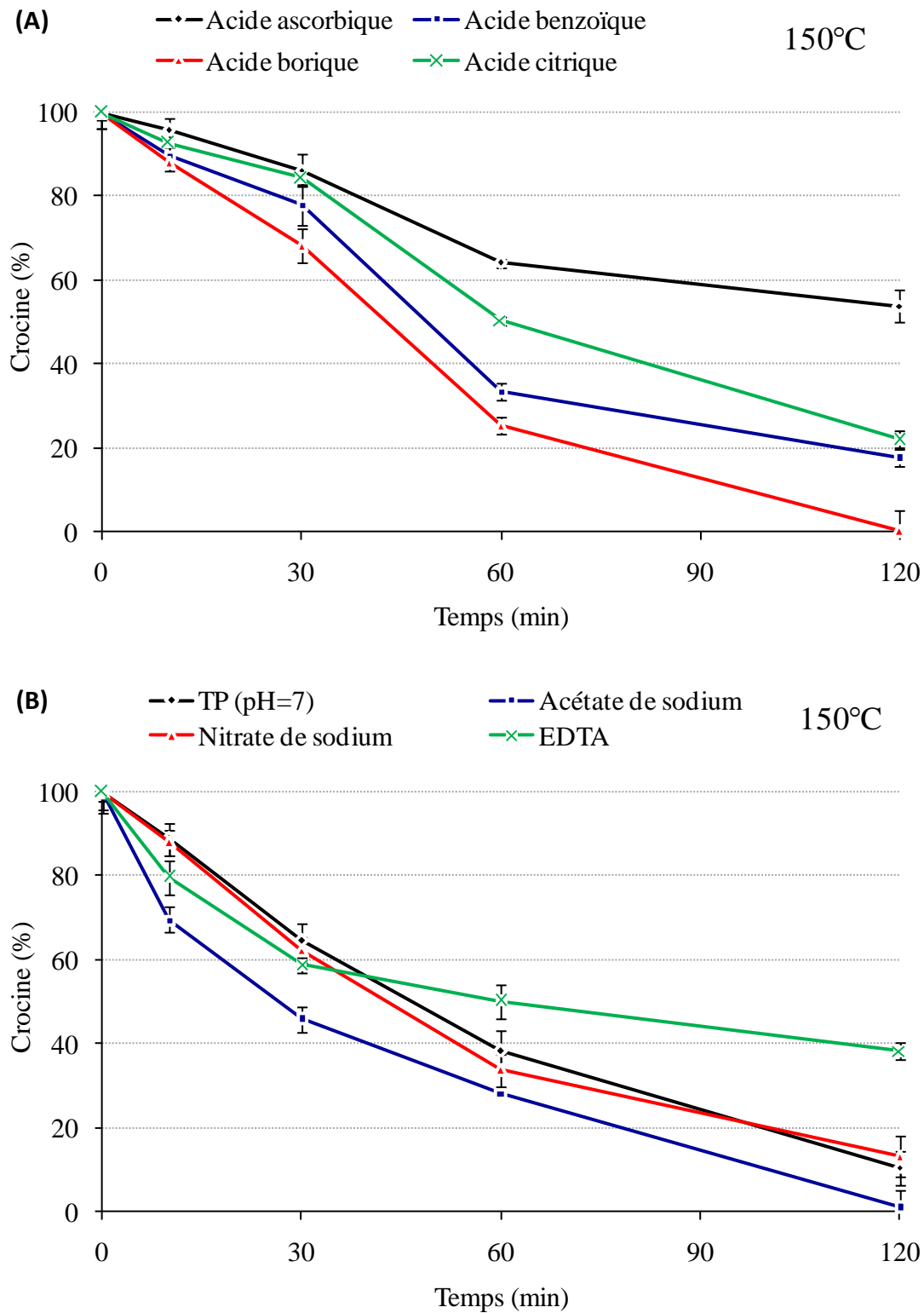


Figure 18 : Cinétique de dégradation de la crocine sous la température de 150°C en utilisant des conservateurs acides (A), des conservateurs basiques et de tampon phosphate (pH 7) (B).

1.4. Effet des conservateurs acides et basiques sur la crocine à différentes températures

Les effets de la présence des conservateurs acides et basiques dans le milieu sur la stabilité de la crocine comparativement à l'extrait préparé dans le tampon phosphate (pH 7) soumis à différentes températures (100, 125 et 150°C) sont montrés dans le tableau VI. Le traitement thermique à 100°C montre que la présence de ces conservateurs n'a aucune influence significative sur la conservation de la crocine pendant 2 heures. Donc, le traitement thermique avec une température de 100°C ne nécessite pas l'ajouter des conservateurs. Lorsque la température du traitement utilisée est augmentée à 125°C, l'addition de tous les conservateurs testés a un effet positif significatif sur la stabilité de la crocine. Le chauffage à 150°C montre que les conservateurs : EDTA et les acides citrique, benzoïque, ascorbique ont permis de protéger la crocine de la dégradation. Cependant, l'acide borique et l'acétate de sodium ne protègent pas la crocine, cela indique que ces deux composés deviennent réactifs avec la crocine soit par leurs produits de dégradation ou par l'affranchissement de l'énergie de réaction avec la crocine. Enfin, le nitrate de sodium ne présente aucun effet sur la stabilité de la crocine.

Tableau VI : Effets des conservateurs sur la cinétique de dégradation de la crocine

	Nitrate de sodium	EDTA	Acide citrique	Acide borique	Acide benzoïque	Acide ascorbique	Acétate de sodium
100 °C	/	/	/	/	/	/	/
125 °C	+	+	+	+	+	+	+
150 °C	/	+	+	-	+	+	-

« / » : Sans effet significatif ($p > 0,05$) ; « + » : effet positif significatif ($p < 0,05$) ; « - » : effet négatif significatif ($p < 0,05$).

2. Effet de la température sur la cinétique de dégradation de la crocine en présence de NaCl et saccharose

2.1 Cinétique de dégradation de la crocine à 100°C

Les cinétiques de dégradation de la crocine sont réalisées en présence du sel et du sucre à deux concentrations différentes et qui sont comparées à l'eau distillée (témoin). La figure 19 représente la cinétique de dégradation de la crocine sous la température de 100°C. Il est indiqué que le taux de crocine est conservé pendant une heure de traitement. À la fin du traitement, les dégradations constatées sont très faibles, dont les pourcentages varient de 14,68 % (NaCl 0,9%) et 7,68 % (Saccharose 0,1%). L'analyse statistique des données a montré que le saccharose 0,1% est le milieu qui conserve la crocine, suivie par l'eau physiologique (NaCl

0,9%), cependant les deux autres concentrations en sel et en sucre ainsi que le H₂O présentent des efficacités moindres le pourcentage atteint 20%.

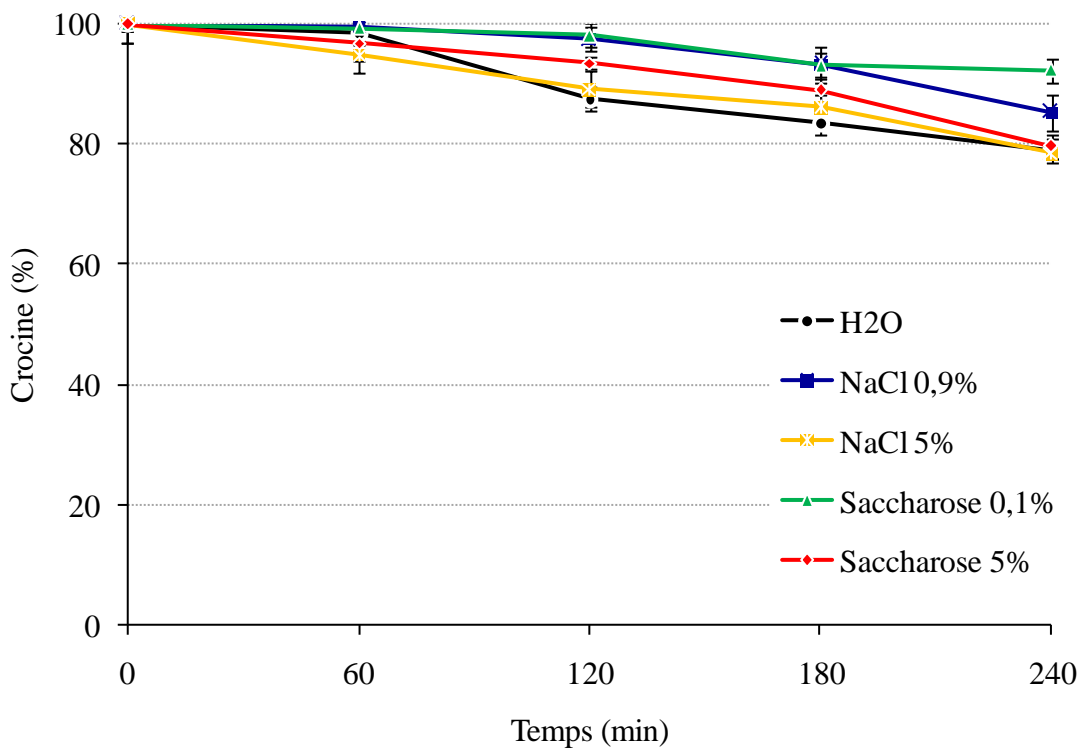


Figure 19 : Cinétique de dégradation de la crocine sous la température de 100°C, effet de sucre (Saccharose) et de sel (NaCl).

2.2. Cinétique de dégradation de la crocine à 125°C

Pour l'étude de la cinétique de dégradation de la crocine à une température de 100°C pendant 4h, les résultats sont montrés dans la figure 20. D'après, les résultats obtenus indiquent que la crocine est mieux conservée en présence NaCl 0,9%, Saccharose 0,1% et H₂O au bout de chauffage, Les pourcentages de la crocine restantes est de 21.49% (NaCl 0,9 %), 41.37% (Saccharose 0,1%) et 31.23% (H₂O), alors qu'en présence de NaCl 5% et saccharose 5%, les pourcentages atteints 14,68 %, 20,95% respectivement au bout de traitement. L'analyse statistique des données de l'effet de chauffage à 100°C montre que le NaCl 0,9% et saccharose 0,1% confère une stabilité meilleure à la crocine, mais l'utilisation d'une concentration plus élevée de 5% n'a aucun effet sur la conservation de la crocine.

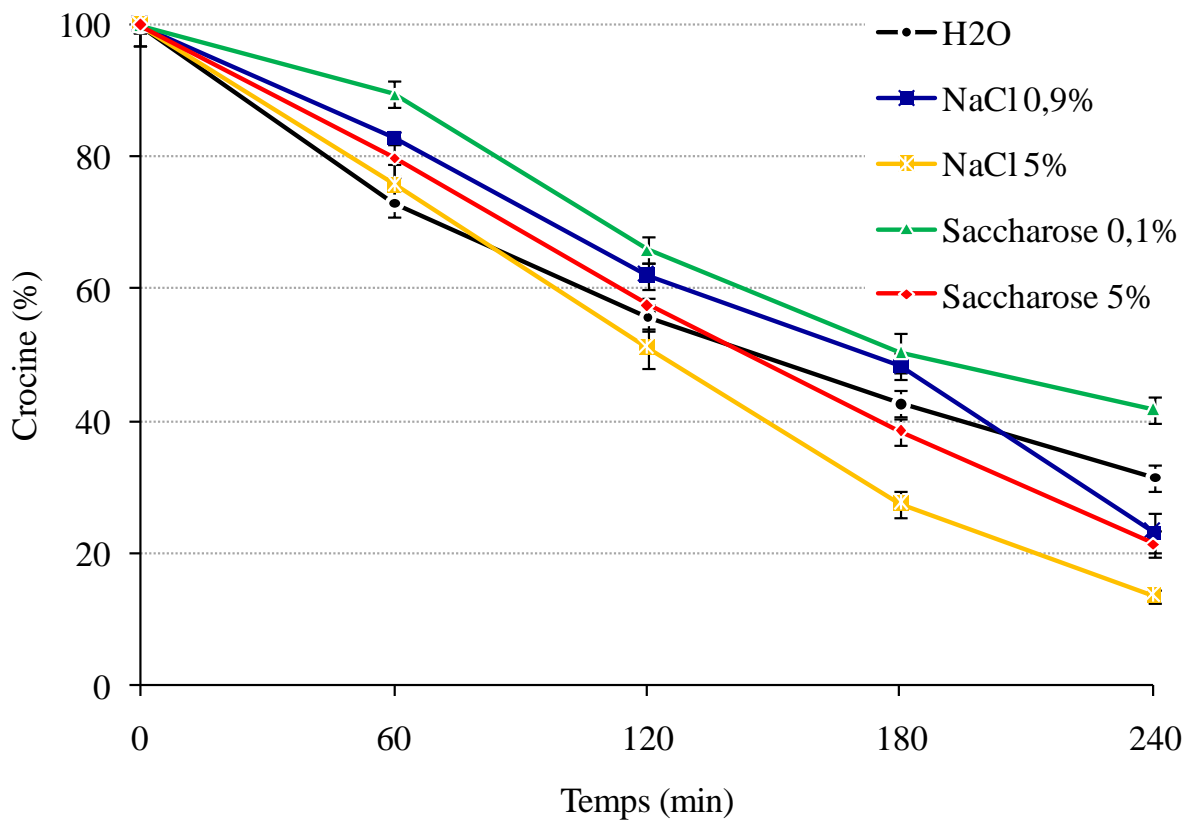


Figure 20 : Cinétique de dégradation de la crocine sous la température de 125°C, effet de sucre (Saccharose) et de sel (NaCl).

2.3. Cinétique de dégradation de la crocine à 150°C

Figure 21 illustre l'effet de la présence du saccharose et du NaCl sur la dégradation de la crocine à 150°C. L'utilisation d'une telle température se manifeste par une dégradation très accélérée de la crocine de manière continue durant la période du chauffage (4 heures). Une réduction du taux de crocine dépassant les 50% est constatée durant les deux premières heures pour atteindre les valeurs entre 10 et 20% en fin du chauffage. Les données statistiques révèlent que le saccharose à 0,1% et NaCl 0,9% sont les milieux où la crocine se dégrade le moins, suivie de l'eau distillée, cependant le NaCl 5% et saccharose 5% ont induit la dégradation la plus considérable.

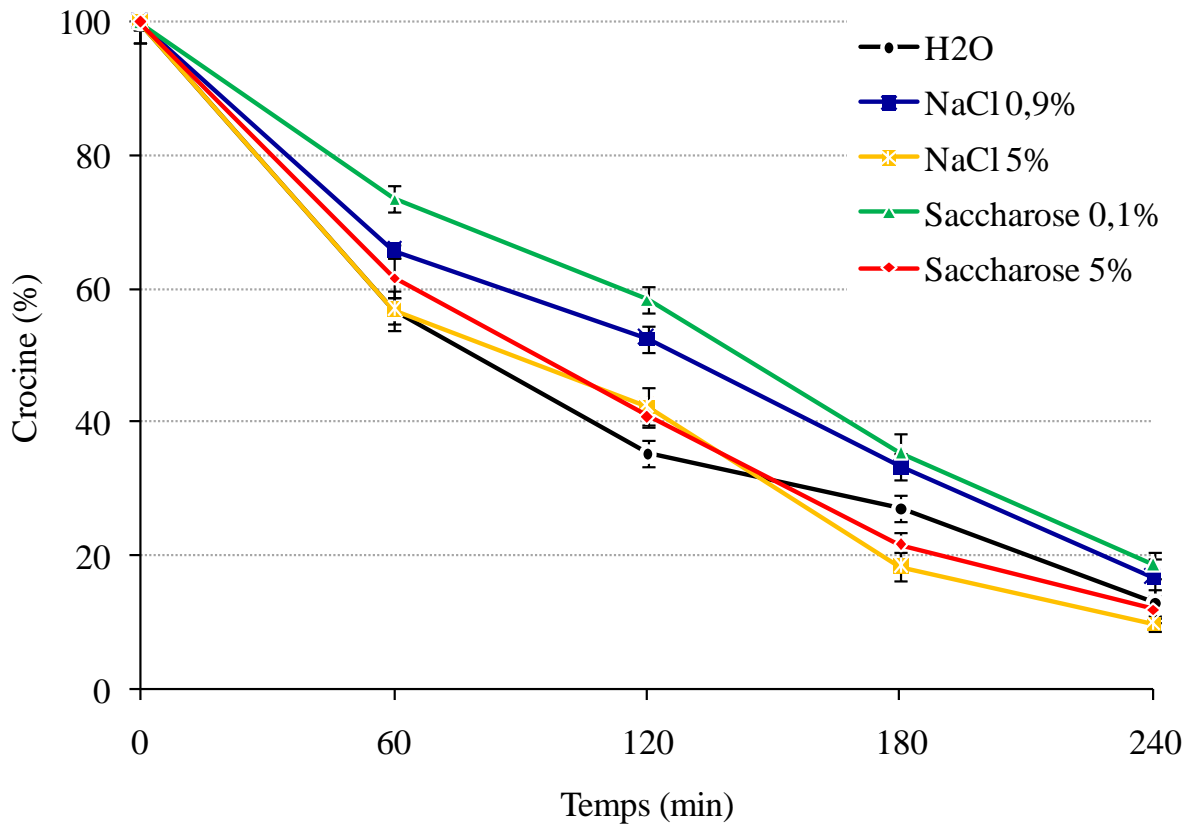


Figure 21 : Cinétique de dégradation de la crocine sous la température de 150°C, effet de sucre (Saccharose) et de sel (NaCl).

D'après les différents résultats de la cinétique de dégradation de la crocine en utilisant les températures de 100, 125 et 150°C, il est ressort que l'élévation de la température au-delà de 100°C induit une accélération de la dégradation de la crocine. L'utilisation de grandes concentrations en sel et en sucre induit la réduction du taux de crocine, par contre de petite concentration en NaCl et saccharose favorise sa conservation.

3. Discussion des Résultats

Les crocines sont les substances responsables du pouvoir colorant du safran et sont très solubles dans les préparations aqueuses. Le safran étudié indique un pouvoir colorant de $210,54 \pm 7,68$ et selon la norme [ISO 3236-2 \(2010\)](#) est se classe dans la première catégorie. En effet, la norme fixe les seuils pour les trois catégories à 120 (Catégorie III), 170 (Catégorie II) et 200 (Catégorie I). Cela indique que l'échantillon du safran qui provient du Constantine est de très bonne qualité.

De nombreuses études ont utilisé la perte de pouvoir colorant pour évaluer les changements subis lorsque l'extrait de safran est soumis à différentes conditions de stockage (Alonso *et al.*, 1993 ; Tsimidou et Tsatsaron, 1993 ; Orfanou et Tsimidou, 1995). Ils ont montré que la perte de pouvoir colorant suit une cinétique de dégradation de premier ordre et plusieurs facteurs influencent la stabilité des crocines dont la lumière, la température, pH et la présence d'additifs alimentaires tels que l'acide ascorbique et EDTA. La perte et la dégradation de la crocine peuvent être expliquées par la structure insaturée de sa structure chimique qui subit l'isomérisation (Carmona *et al.*, 2006) et les réactions d'oxydation. Cette dernière étant la cause principale de la perte de pouvoir colorant. Hosseinzadeh *et al.* (2009) ont utilisé des solutions pour évaluer l'activité antioxydante des extraits éthanoliques et aqueux de safran ainsi que la crocine. Ils ont induit des peroxydations lipidiques au niveau de la membrane érythrocytaire et microsomale des cellules du foie de rat le couple Fe^{2+} /ascorbate. Ils ont conclu que la crocine a un rôle important dans les propriétés antioxydantes du safran. D'autres études rapportent que la crocine dans un milieu aqueux n'agit pas nécessairement comme antioxydants et il a été démontré que les caroténoïdes pouvaient augmenter le rendement total en radicaux libres en fonction de l'oxydation potentielle des caroténoïdes et la nature des radicaux (Polyakov *et al.* 2001). Selon Alonso *et al.* (1993) la crocine peut-être aussi transformée en crocétine incolore dans un milieu aqueux, générant de l'oxygène sous forme singulet, ils initient le processus d'auto-oxydation. Cette dégradation est expliquée par la fonction protectrice des caroténoïdes dans les cellules. Donc lors de la conservation des extraits aqueux de safran, il est nécessaire de prendre en considération quelques paramètres afin d'atteindre la stabilité de la crocine à savoir la température, la durée de conservation, types de conservateur utilisé.

3.1. Effet de la température de conservation sur la stabilité de la crocine

Généralement, la température de conservation est un paramètre important à optimiser afin de minimiser la dégradation de la crocine. Les résultats obtenus montrent également que la température influence significativement le taux de dégradation de la crocine en milieu aqueux, plus la température augmente plus le taux de la dégradation de la crocine augmente. Ces résultats s'accordent avec ceux rapportés par Sanchez *et al.* (2008) qui ont suivi la cinétique de dégradation de la crocine dans deux types d'extrait de safran, un extrait filtré et l'autre non filtré, conservé à des températures différentes 20, 30, 35, 40, 50, 60 et 70 ° C pendant 91 jours jusqu'à la dégradation totale de la crocine ont été atteintes. Ils ont démontré que les réactions

de dégradation des crocines étaient les mêmes dans les deux extraits de safran bien que cela ait été affecté par des facteurs externes tels que la température, plus la température augmente plus le taux de la dégradation de la crocine augmente.

Tsimidou et Tsatsaroni (1993) ont étudié l'effet de la température sur la stabilité des pigments de safran dans les extraits aqueux, ils ont utilisé des solutions traitées à quatre températures (4, 25, 40 et 62°C), le pH est fixé à 7 et le stockage est réalisé à l'obscurité en présence d'oxygène. La perte de pouvoir colorant des extraits a été suivie par la mesure de l'absorbance (440 nm) des solutions à divers intervalles de temps. Les auteurs ont conclu que la température influence significativement sur le taux de dégradation de la crocine, en effet, le taux de dégradation de la crocine augmente avec l'augmentation de la température. Par exemple l'incubation à 4°C des extraits aqueux du safran réduit le taux de dégradation de la crocine plus de 3, 8 et 10 fois par rapport à sa dégradation à 25, 40 et 62°C, respectivement. Une autre étude réalisée par Tsimidou et Biliaderis (1997) confirme la perte des caroténoïdes de safran sous les différentes températures (25, 40 et 60°C) de stockage. Ces études démontrent que le taux de dégradation de la crocine dans un milieu aqueux dépend fortement de la température.

3.2. Effet de la présence des conservateurs sur la stabilité de la crocine

Les résultats obtenus dans notre étude ont montré que le taux de dégradation des caroténoïdes de safran est affecté par la nature des conservateurs et la concentration de sel et sucre présent dans les extraits aqueux. En effet, la présence de l'acide ascorbique et EDTA montre que le taux de dégradation de la crocine est moins important par rapport à la présence d'autres conservateurs testés. De plus, plus la concentration de sel ou de sucre augmente plus le taux de la crocine diminue.

Des réponses cinétiques similaires ont également été rapportées par Orfanou et Tsimidou (1995) qui ont montré que la concentration de l'EDTA et l'acide ascorbique influence sur la rétention de la couleur de l'extrait aqueux du safran à 40°C (pH 5) et cette stabilité de la crocine est plus intéressante lorsque l'acide ascorbique et EDTA sont combinés. Les mêmes auteurs ont conclu aussi que l'ajout de d'autres conservateurs tels que l'acide benzoïque, le benzoate de sodium, l'acide phydroxybenzoïque et le sorbate de potassium aux extraits aqueux de safran affecte le taux de la crocine et manifeste un effet négatif sur la stabilité de la crocine.

La stabilité de la crocine est plus importante en présence de l'acide ascorbique et EDTA. L'acide ascorbique joue un rôle antioxydant hydrosoluble avec certains substrats comme

radicaux libre et d'espèces dérivées de l'oxygène nocives tel que le radical hydroxyle et l'oxygène singlet (Nimse et Pal, 2015). Le mécanisme d'oxydation de l'acide ascorbique en acide déhydroascorbique est détaillé sur la Figure 22. Au cours de cette réaction un intermédiaire mono-oxydé instable est formé qu'est le radical ascorbyle.

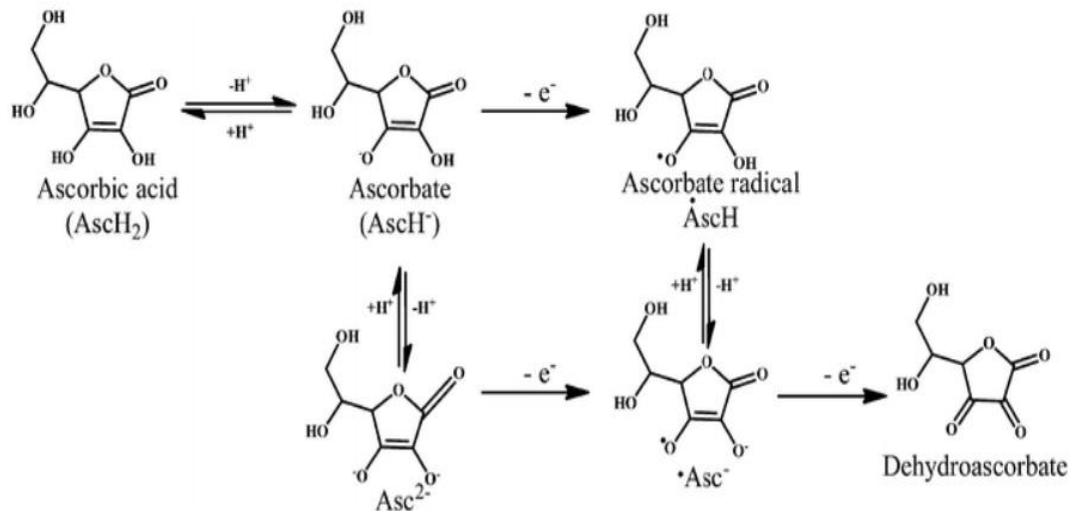
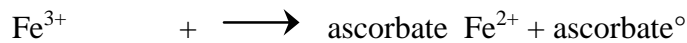


Figure 22 : Mécanisme de l'oxydation de l'acide ascorbique (Nimse et Pal, 2015).

L'acide ascorbique est un très bon réducteur, il peut également réduire les ions fer et cuivre :



L'EDTA est utilisé dans les détergents, le traitement des eaux, l'industrie de pâte et papier et comme conservatif dans les produits alimentaires (Oviedo et Rodriguez, 2003), étant un puissant chélateur, l'EDTA permet de former des complexes stables avec des métaux ce qui favorise la dissolution des métaux. La géométrie de ces complexes est généralement de forme octaédrique (Figure 23).

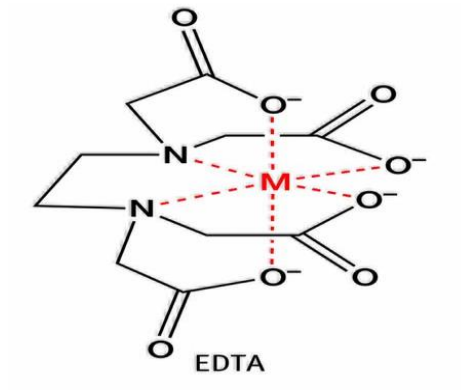


Figure 23 : Structure d'un complexe EDTA avec un métal (Anonyme 04).

Conclusion

Conclusion

Au cours de ce travail, le but a porté sur l'étude de la cinétique de dégradation de la crocine, qui déclenché par des paramètres, traitement thermique, temps de chauffage et la nature des conservateurs.

L'épice utilisée durant notre investigation est récupérée dans la ferme d'Iben Badis de la wilaya de Constantine, dans le but de suivi la cinétique de dégradation de la crocine dans un milieu aqueux, le pouvoir colorant de safran atteint $210,54 \pm 7.68$, cela confirme que le safran utilisé est de très bonne qualité de catégorie I, selon la norme [ISO-3236-2 \(2010\)](#).

Les résultats de la stabilité de la crocine dans un milieu aqueux ont indiqués que la température a un effet important sur la conservation de la crocine. La plus grande perte des pigments de safran (crocine) peut se produit à des températures plus élevées avec un temps de chauffage plus long.

Pour savoir l'influence des différents conservateurs sur la stabilité de la crocine dans un milieu aqueux à des hautes températures. L'analyse statistique a montré que l'acide ascorbique et EDTA sont les conservateurs les plus adéquats pour éviter la détérioration de la crocine. Le taux de dégradation de la crocine en présence de l'acide ascorbique arrive à 7,5% à une température 100°C après 2 heures de traitement et atteint respectivement 38.4% et 46,19% à 125°C et 150°C.

Enfin, les résultats obtenus montrent d'une part que la crocine peuvent être facilement dégradée à des températures élevées et d'autre part que la conservation pouvait être améliorée par utilisation des certains conservateurs.

En perspectives pour cette étude, il serait souhaitable de :

Tester une gamme plus large de conservateurs, utilisés en industrie agro-alimentaire ainsi d'effectuer des combinaisons, afin de chercher les meilleurs de conservations de la crocine.

Utiliser des méthodes de pointe (HPLC, IR et RMN) afin de suivre le devenir de la crocine au cours des différents traitements.

Etudier d'autres paramètres qui peuvent influencer la stabilité de la crocine tels que le pH et la lumière.

Suivre la stabilité de la crocine incorporée dans des matrices alimentaires.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abdullaev F.I. (2002).** Cancer chemopreventive and tumoricidal properties of saffron (*Crocus sativus* L.). *Experimental Biology and Medicine* 227(1), 20-25.
- Akhondzadeh S., Fallah-Pour H., Afkham K., Jamshidi A-H., & Khalighi-Cigaroudi F. (2004).** Comparison of *Crocus sativus* L. and imipramine in the treatment of mild to moderate depression: A pilot double-blind randomized trial. *BMC Complementary Alternative Medicine* 4(1),12.
- Alonso G. L., Sánchez M. A., Salinas M. R., & Esteban-Infantes F. J. (1993).** Cinética de la pérdida de poder colorante en extractos acuosos de azafrán a distintas temperaturas. In IX Congreso Nacional de Química, Spain.
- Aschoff S. (1818).** Beiträge sur kenntnis des safrans. *Berl. Jb. Pharm.* 19, 142–157.
- Atyane L.H., Molin J., Serghini M.A., Dupuy N. & Maimouni L. EL. (2017)** Influence of drying process on safranal content in the Taliouine Saffron (Morocco): quantification by gas chromatography. *J. Mater. Environ. Sci.*, 8 (S), 4597-4603
- Bagur M.J., Alonso Salinas G., Jiménez-Monreal A., Chaouqi S., Llorens S., Martínez-Tomé M. & Alonso G. (2018)** Saffron: An old medicinal plant and a potential novel functional food. *Molecules*, 23(1),30.
- Bathaie S., Farajzade A. & Hoshyar R. (2014).** 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. *Biotechnic & Histochemistry*, 89(6), 401–411.
- Bertoncelj J., Dobersek U., Jamnik M. & Golob T.J. (2007).** Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. *Food Chemistry*, 105(2), 822–828.
- Bhandari (2015).** *Crocus sativus* L. (saffron) for cancer chemoprevention: A mini review. *Journal of Traditional Complementary Medicine* 5: 81-87.
- Bhargava V. (2011).** Medicinal uses and pharmacological properties of *Crocus sativus* Linn (Saffron). *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(3), 22-26.
- Bolhassani A., Khavari A. & Bathaie S.Z. (2014).** Saffron and natural carotenoids: Biochemical activities and anti-tumor effects. *Biochimica et Biophysica. Acta BBA Reviews on Cancer*, 1845, 20–30.

- Buchecker R. & Eugster CH. (1973).** Absolute configuration of picrocrocin. *Helvetica Chimica Acta* 56 (3): 1121-1124.
- Cannon J. & Cannon M. (2003).** In *Dye plants and dyeing*, Timer Press Inc., USA.
- Carmona M., Martínez J., Zalacain A., Rodríguez-Méndez M.L., de Saja J.A. & Alonso G.L. (2006).** Analysis of saffron volatile fraction by TD-GC-MS and e-nose. *European Food Research and Technology*. 223, 96–101.
- Carmona M., Zalacain A., Salinas M. R. & Alonso G. L. (2006).** Generation of Saffron Volatiles by Thermal Carotenoid Degradation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(18), 6825–6834.
- Carmona M., Zalacain A., Sánchez A.M., Novella J.L. & Alonso G.L. (2006).** Crocetin Esters, Picrocrocin and Its Related Compounds Present in *Crocus sativus* Stigmas and *Gardenia jasminoides* Fruits. Tentative Identification of Seven New Compounds by LC-ESI-MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 973–979.
- Chevalier A. (1926).** La culture du Safran (Suite et fin). *Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée*, 6(60), 490-501.
- Corradi C. & Micheli G. (1979).** Determinazione spettrofotometrica del potere colorante amaricante ed odoroso dello zafferano. *Bolletino Chimico Farmaceutico*, 118, 553-562.
- Côté F., Cormier F., Dufresne C. & Willemot C. (2000).** Properties of a glucosyltransferase involved in crocin synthesis. *Plant Science*, 153 (1) : 55-63.
- Chrysanthou A., Pouliou E., Kyriakoudi A. & Tsimidou M. Z. (2015).** Sensory Threshold Studies of Picrocrocin, the Major Bitter Compound of Saffron. *Journal of Food Science*, 81(1), S189–S198.
- Del Campo C.P., Carmona M., Maggi L., Kanakis C.D., Anastasaki E.G., Tarantilis P.A., Polissiou M.G. & Alonso, G.L. (2010).** Picrocrocin content and quality categories in different (345) worldwide samples of saffron (*Crocus sativus* L). *Journal of agricultural and food chemistry*, 58, 1305–1312.
- Deo DB. (2003).** La culture du safran - épice la plus chère au monde. *Crop & Food Recherche* 20. pp 1- 4.
- Dharmananda S. (2005).** *Saffron: An Anti-Depressant Herb*, Institute for Traditional Medicine.
- Dupont G. (2007).** *Abrégé de botanique systématique moléculaire*. 14e édition. Masson.108.

- Dupont J. (2001).** Dimensions culturelles et culturelles du safran en France. *Empan*, 41 : 34-38.
- Escribano J., Alonso GL., Coca-Prados M. & Fernandez JA. (1996).** Crocin, safranal and picrocrocin from saffron (*Crocus sativus* L.) inhibit the growth of human cancer cells in vitro. *Cancer Letters* 100 : 23–30.
- Essa M. M., Vijayan R. K., Castellano-Gonzalez G., Memon M. A., Braidy N. & Guillemin G. J. (2012).** Erratum to: Neuroprotective Effect of Natural Products Against Alzheimer’s Disease. *Neurochemical Research*, 37(10), 2293–2293.
- Favre E. (2008).** Le safran - l'anti kilo l'anti déprime. Terre d'hommes Ed.177 p.
- Gregory M. J., Menary R. C. & Davies N. W. (2005).** Effect of Drying Temperature and Air Flow on the Production and Retention of Secondary Metabolites in Saffron. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(15), 5969–5975.
- Grilli C.M., Di Somma D.& Lauretti P. (2001).** Comparative study on pollen and pistil of *Crocus sativus* L. (Iridaceae) and its allied species. *Ann. Bot.* 2001, 1, 93–103.
- Gutheil WG., Reed G., Ray A., Anant S.& Dhar A. (2012).** Crocetin: an agent derived from saffron for prevention and therapy for cancer. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 13(1):173-199.
- Hood S. (1978)** The Arts in Prehistoric Greece, Yale University Press, p. 48-49; Platon, N. (1947) *Kritika Chronika*, 505-506.
- Hosseinzadeh H. & Nassiri-Asl M. (2012).** Avicenna’s (Ibn Sina) the canon of medicine and saffron (*Crocus sativus*): A review. *Phytotherapy. Research*. 27(4), 475–483.
- Hosseinzadeh Hossein., Shamsaie Fahimeh. & MehriSoghra. (2009).** Antioxidant Activity of Aqueous and Ethanolic Extracts of *Crocus sativus*L. Stigma and its Bioactive Constituents, Crocin and Safranal.
- Hosseinzadeh H. & Ghenaati J. (2006).** Evaluation of the antitussive effect of stigma and petals of saffron (*Crocus sativus*) and its components, safranal and crocin in guinea pigs. *Fitoterapia*, 77(6), 446–448.
- Hosseinzadeh H. & Sadeghnia H.R. (2007).** Protective effect of safranal on pentylenetetrazol-induced seizures in the rat: Involvement of GABAergic and opioids systems. *Phytomedicine*. 2007; 14(4): 256-62. E pub 2006 May 16.

- Hosseinzadeh H., Ziaee T. & Sadeghi A. (2008).** The effect of saffron, *Crocus sativus* stigma, extract and its constituents, safranal and crocin on sexual behaviors in normal male rats. *Phytomedicine*, 15(6-7), 491–495.
- ISO 3632-2. (2010).** International Organization for Standardization. Epices safran (*Crocus Sativus* L. Partie 2: Méthodes d'essais. pp. 15.
- Kalalinia F., Ghasim H., Amel Farzad S., Pishavar E., Ramezani M. & Hashemi M. (2018).** Comparison of the effect of crocin and crocetin, two major compounds extracted from saffron, on osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *Life Sciences*, 208, 262–267.
- Karkoula E., Angelis A., Koulakiotis N. S., Gikas E., Halabalaki M., Tsarbopoulos A., & Skaltsounis L. A. (2018).** Rapid isolation and characterization of crocins, picrocrocin and crocetin from saffron using centrifugal partition chromatography and LC-MS. *Journal of Separation*.
- Karrer P. & Salomon H. (1928).** Über die Safranfarbstoffe II. (VI. Mitteilung über Pflanzenfarbstoffe). *Helvetica. Chimica. Acta* 11(1), 513–525.
- Katzer G. (2001),** Saffron (*Crocus sativus* L.), Gernot Katzer's Spice
- Lachaud CM. (2012).** La Bible du safranier. Tout savoir sur le *Crocus sativus* et sur le safran, pp. 258.
- Lage M., Faiz C.& Cantrell C.L. (2007).** Developmental project for introducing sa_ron (*Crocus sativus* L.) as an alternative crop in other Moroccan regions. *ISHS ActaHortic.* 28, 49–52.
- Lechtenberg M., Schepmann D., Niehues M., Hellenbrand N., Wunsch B., & Hensel, A. (2008).** Quality and Functionality of Saffron: Quality Control, Species Assortment and Affinity of Extract and Isolated Saffron Compounds to NMDA and σ_1 (Sigma-1) Receptors. *Planta Medica*, 74(07), 764–772.
- Li N., Fan M., Li Y., Qian H., Zhang H.& Qi, X., Wang, L. (2019).** Stability assessment of crocetin and crocetin derivatives in Gardenia yellow pigment and Gardenia fruit pomace in presence of different cooking methods, *Food Chemistry*,126031.
- Loukil D. (2018).** Vers un label algérien pour l'or rouge. *Quotidien national d'information liberté*. N° 7893, 10/07/2018. ISSN 1111- 4290.
- Manzocco, L., Kravina, G., Calligaris, S., & Nicoli, M. C. (2008).** Shelf life modeling of photosensitive food: the case of colored beverages. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 56(13), 5158-5164.

- Melnyk J.P. Wang S & Marcone M.F. (2010).** Chemical and biological properties of the world's most expensive spice: Saffron. *Food Research International*, 43: 1981-1989.
- Moratalla-López N., Bagur M.J., Lorenzo C, Salinas. & Alonso. (2018).** Bioactivity and Bioavailability of the Major Metabolites of *Crocus sativus* L. Flower. *Molecules* 2019, 24(15), 2827 ; doi :10.3390/molecules24152827
- Mougin I. (1999).** Le safran *Crocus sativus* L. Iridacees. Faculté de médecine et de pharmacie. Besançon.
- Multon J.L (2009).** Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agroalimentaires (4e ed),3.
- Negbi M. (1999)** Saffron cultivation: Past, present and future prospects, in: Negbi M. (Ed.), *Saffron: Crocus sativus* L., Harwood Academic Publishers, Australia, pp. 1–18.
- Nimse S. B.& Pal D. (2015).** Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Advances*, 5(35), 27986–28006.
- Orfanou O.& Tsimidou M. (1995).** Influence of selected additives on the stability of saffron pigments in aqueous extracts. In *Food flavors: Generation, analysis and process influence*; Charalambolous G., Ed.; Elsevier Science: Amsterdam, The Netherlands, pp 881-894.
- Oviedo C. & Rodríguez J. (2003).** EDTA: the chelating agent under environmental scrutiny. *Quimica Nova*, 26(6), 901-905.
- Palomares C. (2015).** Le safran précieuse épice ou précieux médicament. Thèse de doctorat. Faculté de pharmacie. Université de lorraine : 14-105.
- Petros A., Tarantili C., Polissiou M. & Manfait M. (1994).** Separation of picrocrocin, cis-trans-crocins and safranal of saffron using high-performance liquid chromatography with photodiode-array detection. *Journal of Chromatography A*, 664: 55-61.
- Pfander H.& Schurtenberger H. (1982)** Biosynthesis of C20-carotenoids in *Crocus sativus* L. *Phytochemistry* 1982, 21 (5), 1039–1042.
- Pfander H.& Wittwer F. (1975).** Carotenoid composition in saffron. *Helvetica Chimica Acta* 58, 2233–2236.
- Polyakov NE., Leshina TV., Konovalova TA. & Kispert LD. (2001).** Carote-noids comme piègeurs de radicaux libres dans une réaction de fenton : antioxydants ou pro-oxydants. *RadicBiol Med gratuit*. 31 (3): 398 à 404.

- Rahimi M. (2015).** Chemical and Medicinal Properties of Saffron. *Bull. Env. Pharmacol. Life Sciences*, 4, 69-81.
- Razak S.I.A., Anwar Hamzah M.S., Yee F.C., Kadir M.R.A. & Nayan N.H.M. (2017).** A review on medicinal properties of saffron toward major diseases. *Journal of Herbs Spices and Medicinal Plants*, 23, 98–116.
- Rios J.L., Recio M.C., Giner R.M. & Manez S. (1996).** An update review of saffron and its active constituents. Salomi, M.J., Nair, S.C., & Panikkar, K.R. *Inhibitory effects of Phytotherapy Research*, 10, 189–193.
- Roia F. Jr. (1966).** The use of plants in hair and scalp preparations. *Economic Botany*. 20, 17-30.
- Rocchi R., Mascini M., Sergi M., Compagnone D., Mastrocola D. & Pittia P. (2018).** Crocins pattern in saffron detected by UHPLC-MS/MS as marker of quality, process and traceability. *Food Chemistry*, 264, 241-249.
- Rödel W. & Petrzika M. (1991).** Analysis of the volatile components of Saffron. *Journal High Resolution Chromatography.*, 14 (11): 771-774.
- Rubio Moraga A., Fernandez Nohales P., Fernandez Perez J. A. et Gomez-Gomez L. (2004).** Glucosylation of the saffron apocarotenoid crocetin by a glucosyltransferase isolated from *Crocus sativus* stigmas." *Planta*, 219 (6): 955-966.
- San Mames J. J. (2001).** "Vanilla, Saffron Imports".
- Sánchez A. M., Carmona M., Ordoudi S. A., Tsimidou M. Z. & 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 of Agricultural & Food Chemistry*, 56(5).1627-1637.
- Sarfarazi M., Jafari S. M. & Rajabzadeh G. (2015).** Extraction Optimization of Saffron Nutraceuticals Through Response Surface Methodology. *Food Analytical Methods*, 8(9), 2273–2285.
- Shafiee M., Arekhi S., Omranzadeh A. & Sahebkar A. (2018).** Saffron in the treatment of depression, anxiety and other mental disorders: Current evidence and potential mechanisms of action. *Journal of Affective Disorders*, 227, 330–337.
- Speranza G., Dada G., Manitto P., Monti D. & Grammatica P. (1984).** 13-cis-Crocetin: A new crocetinoid of saffron. *Gazzetta Chimica Italiana*. 114, 189–192.

- Strain H. H. (1963).** cis-trans Isomeric Carotenoids, Vitamins and Arylpolyenes. *Journal of the American Chemical Society*, 85(7), 1025–1025.
- Tarantilis P. A., Tsoupras G. & Polissiou M. (1995).** Determination of saffron (*Crocus sativus* L.) components in crude plant extract using high-performance liquid chromatography–UV–visible photodiode-array detection–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 699, 107–118.
- Teusher E., Anton R. & Lobstein A. (2005).** *Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et Huiles essentielles.* Lavoisier Ed. Illkirch. 2005, pp.429-435.
- Bjørk, T. B. (2008).** Syntese av crocin-derivater (Master's thesis, Institutt for kjemi).
- Tsatsaroni E., Liakopoulou-Kyriakides M. & Eleftheriadis I. (1998).** Comparative study of dyeing properties of two yellow natural pigments – effect of enzymes and proteins. *Dyes Pigments* 37: 307–315.
- Tsimidou M. & Tsatsaroni E. (1993).** Stability of saffron pigments in aqueous extracts. *Journal of Food Science*. 58 : 1073–1075.
- Ursat J. (1913).** *Le safran du Gatinais.* Pithiviers, imprimerie Lucien Gautier. France. p. 45.
- Winterstein E., Teleczky J. (1922).** Constituents of the saffron. I. Picrocrocin. *Helv. Chimical. Acta* 5, 376–400.

Webographie

Anonyme 1 : https://fr.wikipedia.org/wiki/Classification_APG_III.

Anonyme 2 : <https://WWW.algerie-eco.com/2017/12/17/ experience – pilote-de- culture-safran-reussie-a-ain-fezza/>

Anonyme 3 : <https://radioalgrie.dz/news/fr/article/20181013/15236.html>

Anonym4:<https://chemaust.raci.org.au/article/septemberoctober-2019/crabby-chemicals.html>.

Résumé

La qualité du safran dépend de la concentration en molécules bioactives de cette épice (picrocrocine, safranal et crocine), mais du traitement thermique et du stockage induisent une importante dégradation de ces composés. Ce travail vise à évaluer la cinétique de dégradation de la crocine, responsable de la couleur du safran, sous l'effet des conservateurs acides (ascorbique, benzoïque, citrique et borique), basiques (EDTA, Nitrate de sodium, acétate de sodium), sucre et NaCl à différentes températures (100, 125 et 150°C) et temps (0, 10, 30, 60, 90 et 120 min). La crocine est suivie par le spectrophotomètre UV-visible à 440 nm. Les résultats ont montré que la dégradation de la crocine est plus élevée lorsque la solution aqueuse de safran est traitée à des températures plus élevées, et l'emploi de l'acide ascorbique et l'EDTA sont les plus adéquats pour la conservation de la crocine.

Mots clés : Safran, crocine, conservateurs, température, temps, cinétique de dégradation.

Abstract

The quality of saffron depends on the concentration of bioactive molecules in this spice (picrocrocin, safranal, and crocin), but heat treatment and storage induce significant degradation of these compounds. This work aims to evaluate the degradation kinetics of crocin, responsible for the color of saffron, under the effect of acidic (ascorbic, benzoic, citric, and boric), basic (EDTA, sodium nitrate, sodium acetate) preservatives, sugar, and NaCl at different temperatures (100, 125 and 150 ° C) and times (0, 10, 30, 60, 90 and 120 min). The crocin is followed by the UV-visible spectrophotometer at 440 nm. The results showed that the degradation of crocin is higher when the aqueous solution of saffron is treated at higher temperatures; as well as the use of ascorbic acid and EDTA is the most suitable for the preservation of crocin.

Key words: Saffron, crocin, preservatives, temperature, time, degradation kinetics.