

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université A. MIRA-BEJAIA  
Faculté de technologie  
Département de Génie des procédés  
Spécialité Génie alimentaire



Mémoire de Fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de

**MASTER**

Thème

*Caractérisations physico-chimiques du safran  
cultivé dans la région de Béjaïa*

Présenter par :

**BOUDRIES Houa & DJAHNINE Sarah**

Devant le jury composé de :

KACHBI Abdelmalek	MCA	Université de Bejaïa	Président
SELLAMI Ferhat	MCB	Université de Bejaïa	Examineur
SENHADJI Ounissa	Professeur	Université de Bejaïa	Encadreur
ABDELFETTAH Dalila	Ingénieure de Recherche	PTAPC de Bejaïa	Co-encadreur

Année universitaire : 2022 / 2023



## **Remerciements**

*Avant tout, nous remercions le bon Dieu de nous avoir donné le courage, la force, la patience et les moyens de réaliser ce travail, et de nous avoir mis entre de bonnes mains.*

*En guise de reconnaissance, nous tenons fort à remercier notre promotrice, Professeur et Directrice de recherche à l'université de Bejaïa, **Mme Ounissa SENHADJI**, ainsi que notre Co-promotrice, **Mme ABDELFETTAH Dalila**, Ingénieur de Recherche au PTAPC de Bejaïa (CRAPC), qui nous ont aidé et guidé durant tout le chemin de la réalisation de ce projet de fin d'études avec leurs apports précieux en matière de savoir-faire scientifique et pour nous avoir intégrée avec beaucoup d'efficacité dans un domaine qui nous a enthousiasmées.*

*Nos vifs remerciements vont à **Mr KACHBI** d'avoir accepté la présidence du jury, nous tenons compte à exprimer nos reconnaissances à **Mr SELLAMI** qui nous a fait l'honneur d'examiner notre travail, leurs regards critiques ne sauront que rehausser le niveau de notre savoir-faire.*

*Un grand merci à l'ensemble du personnel technique du bloc I1 et plus particulièrement **Mme MOKHTARI** et **Mme BENAMOR**, pour leur disponibilité et l'aide efficace qu'elles nous ont apportées*

*Nous tenons aussi à remercier le personnel du PTAPC Bejaïa, où nous avons réalisé des analyses de spectroscopie, notamment **Mme MEBARKI**.*

## ***Dédicaces***

***Après un remerciement sincère au Dieu Allah.***

***Avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie, que je dédie ce travail à mes chers parents qui ont sacrifiés leurs vies pour mon bonheur, qui ont été toujours à mes côtés, dans la joie comme la tristesse***

***À mes très chères sœurs Aida et Louiza***

***A ma meilleure amie Sarah***

***A toutes la famille BOUDRIES et KHENNOUSSI.***

***Houa***

## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail en signe de reconnaissances et de respect :*

*- A mes très chers parents*

*Affables, honorables, aimables vous êtes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier*

*Pour moi.*

*- A mes frères et sœurs Melissa, Lounis, Mélina, Anis, Mayline*

*Et Racim*

*- A mes grands-parents maternels et paternelle*

*- A tout la famille DJAHNINE et DEBBAH*

*- A ma binôme Houa*

*Sarah*

## *Liste des abréviations*

**AK** : Akbou.

**BM** : Beni maouche.

**EAG** : Equivalent D'acide Gallique.

**EQ** : Equivalent Quercétine

**IR** : Infra-Rouge.

**ISO** : Organisation internationale de normalisation.

**IUPAC** : Union internationale de chimie pure et appliquée

**KBr** : bromure de potassium.

**pH** : potentiel hydrogène.

**TA** : Tazmalt

**TI** : Timezrit.

**tr/min** : tours/ minute.

**UV** : ultra-violet.

## *Listes des figures*

### *Chapitre I*

<b>Figure I.1:</b> Cueilleuses de safran ; ile de Santorin.....	2
<b>Figure I.2 :</b> Principales nations productrices de safran.....	3
<b>Figure I.3:</b> Caractéristiques morphologiques de la plante du safran.....	4
<b>Figure I.4 :</b> Cycle de développement de <i>C. sativus</i> L.....	6
<b>Figure I.5 :</b> Étapes de la culture de safran : plantation et floraison, récolte de la fleur, émondage et séchage des stigmates.....	7
<b>Figure I.6:</b> Types du safran.....	8
<b>Figure I.7 :</b> Structures chimique des quatre métabolites secondaires du Safran à activité biologique.....	10
<b>Figure I.8:</b> Structure chimique de la zéaxanthine.....	10
<b>Figure I.9 :</b> biosynthèse du safranal et de la crocine à partir du clivage oxydatif de la zéaxanthine.....	11
<b>Figure I.10:</b> Structure chimique de lacrocétine.....	11
<b>Figure I.11 :</b> Structure chimique de la crocine 1.....	12
<b>Figure I.12 :</b> Structure chimique de la picrocrocine.....	13
<b>Figure I.13:</b> Structure chimique du safranal.....	13
<b>Figure I.14 :</b> Structure de groupement phénol.....	14
<b>Figure I.15 :</b> Structure chimique d'acide hydroxybenzoïque.....	14
<b>Figure I.16 :</b> Structure chimique d'acide gallique.....	15
<b>Figure I.17 :</b> Structure chimique d'acide hydroxycinnamique.....	15
<b>Figure I.18 :</b> Structure chimique de base des flavonoïdes.....	16
<b>Figure I.19 :</b> Structure chimique des flavones.....	16
<b>Figure I.20 :</b> Structure chimique des flavanone.....	17
<b>Figure I.21:</b> Structures chimique des flavonols.....	17
<b>Figure I.22 :</b> Structure chimique de la quercétines.....	17
<b>Figure I.23 :</b> Evolution de la norme ISO 3632.....	19

<b>Figure I.24:</b> Schéma du principe de fonctionnement d'un spectrophotomètre IR.....	25
<b>Figure I.25 :</b> Principe de la spectrophotométrie d'absorption moléculaire .....	27
<b>Figure I.26 :</b> Schéma de principe d'un spectrophotomètre UV-Visible.....	28
<b>Figure I.27 :</b> Cuve .....	28
<b>Figure I.28 :</b> Monochromateur .....	29
<b>Figure I.29 :</b> Schéma d'un appareil de chromatographie liquide à haute Performance.....	30
<b>Figure I.30 :</b> Appareillage HPLC.....	31
<b>Figure I.31 :</b> Schéma simplifié de la chromatographie en phase gazeuse .....	32

## *Chapitre II*

<b>Figure II.1 :</b> Carte de localisation des échantillons étudiée.....	33
<b>Figure II.2 :</b> Spectre d'absorption UV- Vis caractéristique d'un extrait aqueux de safran.....	35
<b>Figure II.3 :</b> Etapes de préparation de l'extrait pour l'analyse UV-Visible.....	39
<b>Figure II. 4 :</b> Etapes de préparation de l'échantillon pour l'analyse FITR.....	40
<b>Figure II. 5 :</b> Etapes de dosage des polyphénols totaux.....	42
<b>Figure II. 6 :</b> Etapes du dosage des flavonoïdes totaux.....	44

## *Chapitre III*

<b>Figure III.1 :</b> Photographies des échantillons utilisés pour l'analyse sensorielle.....	47
<b>Figure III. 2:</b> Résultats de l'analyse du taux d'humidité et matière volatile des échantillons de safran.....	48
<b>Figure III.3 :</b> Spectre UV-Visible des échantillons du safran.....	49
<b>Figure III. 4 :</b> Spectres de transmission FTIR des échantillons analysés.....	51
<b>Figure III.5 :</b> Spectres IR des échantillons du safran.....	52
<b>Figure III.6 :</b> Courbe d'étalonnage d'acide gallique.....	53
<b>Figure III.7:</b> Teneur des polyphénols totaux (mg Eq AG/g su safran).....	53
<b>Figure III. 8:</b> Courbe d'étalonnage de la quercétine.....	56
<b>Figure III.9:</b> Teneur en flavonoïdes totaux (mg EQ/ g du safran).....	56



## *Listes des tableaux*

### **Chapitre I**

<b>Tableau I.1</b> : Classification du safran en fonction des conditions physique établie dans la Spécification Technique ISO 3632-1.....	20
<b>Tableau I.2</b> : Classification du safran en fonction des conditions physiques et chimiques établies dans la Spécification Technique ISO 3632-.....	20

### **Chapitre II**

<b>Tableau II. 1</b> : Caractéristiques de l'eau utilisée.....	37
<b>Tableau II. 2</b> : Caractéristiques des réactifs utilisée .....	37
<b>Tableau II.3</b> : Concentration des étalons de l'acide gallique.....	43
<b>Tableau II.4</b> : Concentration des étalons de la quercétine.....	45

### **Chapitre III**

<b>Tableau III.1:</b> Analyse sensorielle des échantillons du safran.....	48
<b>Tableau III.2:</b> Bandes caractéristique présente dans les spectre IR des échantillons analysé.	52



*Sommaire*

***Remerciements***

***Dédicaces***

***Liste des abréviations***

***Liste des figures***

***Liste des tableaux***

Introduction générale.....1

***Chapitre I : Synthèses bibliographique***

**I.1** Présentation du *Crocus Sativus* L.....2

**I.1.1.** Historique .....2

**I.1.2.** Origine .....2

**I.1.3.** Production mondiale .....3

**I.1.4.** La culture du safran en Algérie .....3

**I.1.5.** Etude botanique .....4

**I.1.5.1.** Description .....4

**I.1.6.** Classification .....5

**I.1.7.** Culture de safran .....5

**I.1.7.1** Cycle biologique.....5

**I.1.7.2** Exigences écologique et édaphiques .....6

**I.1.8.** Procédés d'obtention de safran .....6

**I.1.9.** Application du safran.....8

**I.1.9.1.** Usages médicaux .....8

**I.1.9.2.** Usages tinctoriaux.....9

**I.1.9.3.** Usages cosmétique.....9

**I.1.9.4.** Usage culinaire.....9

**I.1.10.** Etude phytochimique du safran .....9

**I.1.10.1.** Principaux composants du safran.....10

**I.1.10.2.** Autres composants du safran : Polyphénols.....14

**I.1.10.2.1.** Classification .....14

**I.1.11.** Falsifications .....18

**I.1.12.** Qualité du safran.....18

**I.1.13.** Techniques basées sur l'ISO 3632 .....18

**I.1.14.** Bibliographie sur le safran en Algérie.....21

<b>I.2. Technique d'analyse.....</b>	<b>24</b>
<b>I.2.1. La spectroscopie Infra-Rouge.....</b>	<b>24</b>
<b>I.2.1.1. Définition.....</b>	<b>24</b>
<b>I.2.1.2 Principe.....</b>	<b>25</b>
<b>I.2.1.3 Application de la spectroscopie infrarouge .....</b>	<b>26</b>
<b>I.2.2. La Spectrométrie d'absorption moléculaire UV-visible.....</b>	<b>26</b>
<b>I.2.2.1. Définition.....</b>	<b>26</b>
<b>I.2.2.2. Principe.....</b>	<b>27</b>
<b>I.2.2.3. Appareillage.....</b>	<b>27</b>
<b>I.2.2.4. Application de la spectroscopie UV-Visible.....</b>	<b>29</b>
<b>I.2.3. La chromatographie en phase liquide HPLC .....</b>	<b>30</b>
<b>I.2.4.1. Principe.....</b>	<b>31</b>
<b>I.2.4. Chromatographie en phase gazeuse.....</b>	<b>31</b>

## ***Chapitre II : Matériels et méthodes***

<b>II.1. Taux d'humidité et composantes volatiles du safran.....</b>	<b>33</b>
<b>II.2. Spectrophotométrie UV-Visible.....</b>	<b>35</b>
<b>II.3. Matériels utilisés.....</b>	<b>35</b>
<b>II.4. Produits utilisés .....</b>	<b>36</b>
<b>II.5. Réactifs utilisés.....</b>	<b>37</b>
<b>II.6. Appareillage et logiciels utilisés .....</b>	<b>37</b>
<b>II.7. Procédure expérimentale .....</b>	<b>38</b>
<b>II.7.1. Pour le taux d'humidité .....</b>	<b>38</b>
<b>II.7.2. Analyse par spectrophotométrie UV-visible du Safran .....</b>	<b>38</b>
<b>II.7.3. Analyse Infra-rouge du Safran .....</b>	<b>39</b>
<b>II.7.4. Préparations des solutions des réactifs pour les dosages polyphénols totaux et flavonoïdes .....</b>	<b>40</b>
<b>II.7.5. Dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes.....</b>	<b>41</b>
<b>II.7.5.1. Dosages des polyphénols .....</b>	<b>41</b>
<b>II.7.5.2. Dosage des flavonoïdes.....</b>	<b>44</b>

## ***Chapitre III : Résultats et discussions***

<b>III.1.</b> Analyse sensorielle du safran (avant le séchage) .....	47
<b>III.2.</b> Evaluation des résultats du taux d'humidité .....	48
<b>III.3.</b> Analyse par spectrophotométrie ultra-violet-visible .....	49
<b>III.4.</b> Analyse par spectroscopie Infra-rouge .....	51
<b>III.5.</b> Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux .....	53
<b>III.5.1.</b> Dosage des polyphénols totaux.....	53
<b>III.5.2.</b> Dosage des flavonoïdes totaux.....	56
Conclusion Générale.....	58
Références bibliographiques.	



# ***Introduction***

### Introduction générale

Le safran est une épice précieuse et couteuse [1], d'où son surnom d'or rouge, utilisée depuis l'Antiquité pour ses propriétés médicinales, culinaires, cosmétiques et pour sa couleur attractive et son odeur caractéristique [2], De nos jours, il est encore très employé dans les cuisines arabe, européenne, indienne et d'Asie centrale [3], et rentre dans les préparations de boulangerie et de confiserie ainsi que dans les boissons.

Le safran est principalement cultivé en Iran, en Inde, en Grèce et en Espagne, mais il est également cultivé dans d'autres régions du monde, y compris en Algérie. Bien que la production du safran en Algérie soit relativement modeste, sa culture est une tradition ancienne qui remonte à plusieurs siècles. Elle a été occultée et a disparu depuis des décennies, la reprise de cette culture se fait dans les années 2009 [4].

Les stigmates du *Crocus Sativus L*, la plante à partir de laquelle le safran est extrait, contiennent de nombreux composants chimiques qui lui confèrent ses propriétés uniques.

La qualité du safran est influencée par plusieurs facteurs, tels que les conditions climatiques, de culture, des méthodes de récolte et de traitement, ainsi que le conditionnement et le stockage. La cherté de cette épice a fait qu'elle soit sujette à des falsifications. Pour cette raison, la caractérisation physico-chimique du safran est essentielle pour garantir sa qualité et son authenticité. C'est pour cette raison que l'Organisation internationale de normalisation (ISO) a dédiée toute une norme, la spécification technique ISO/TS 3632, pour la caractérisation physico-chimique du safran commercialisé. Elle décrit des protocoles précis pour la vérification de certains paramètres considérés comme déterminants dans la qualité du safran.

Dans ce contexte, ce travail est consacré à la caractérisation de safrans cultivés dans différentes régions de la wilaya de Béjaia. Il est constitué de trois chapitres :

- ✓ Le premier chapitre comprend deux parties : généralités sur le safran et techniques d'analyse ;
- ✓ Le deuxième chapitre illustre l'ensemble du matériel et les procédures expérimentales suivies ;
- ✓ Le troisième chapitre présente les résultats expérimentaux et leur interprétation ;
- ✓ Et on termine le travail par une conclusion regroupant l'essentiel de ses résultats.



***Chapitre I***  
*Synthèses bibliographiques*



## I.1 Présentation du *Crocus Sativus L*

### I.1.1. Historique

Le safran est une épice obtenue à partir de la fleur de crocus (*Crocus sativus L*), qui remonte à l'Antiquité. On peut retracer l'apparition du safran il y a plus de 5000 ans, dans les hautes vallées du Cachemire et les plateaux de Perse. Les Égyptiens et les Hébreux l'utilisaient pour aromatiser et colorer les aliments lors des fêtes religieuses ; il était également utilisé par les médecins de Pharaon pour tous les maux d'estomac. Le safran fut ensuite transmis aux Grecs et aux Romains, qui l'utilisèrent à diverses fins : arts culinaires, parfumerie et teinturerie. Il en fut de même pour les Arabes qui l'introduisirent en Afrique du Nord puis en Espagne au IXe siècle.

L'acclimatation du safran en France remonte au XIIIe siècle, principalement associée au retour des croisades et à l'augmentation des échanges avec l'Orient. L'engouement s'étendit même au sud de l'Angleterre au XVe siècle. La France reconnaît alors le safran comme un patrimoine ancien et acquiert une sorte de légitimité culturelle. Au cours du XIXe siècle, les mutations économiques auraient provoqué la disparition progressive de la culture française du safran. La découverte des colorants artificiels, les changements d'usage alimentaire et l'industrialisation ont entraîné un déclin du safran en Europe et en France [5].



Figure I.1 : Cueilleuses de safran ; ile de Santorin [10].

### I.1.2. Origine

Cette plante est originaire du bassin méditerranéen oriental. La forme sauvage correspond probablement à une espèce originaire de Grèce.

Les principales régions productrices sont : l'Iran (Khorasan), la Grèce (Macédoine), l'Espagne (Albacete, Alicante, La Mancha, Murcia), l'Inde (montagnes du Cachemire),

La Turquie (région de Safranbolu), le Maroc (Taroudant), le Pakistan (Balouchistan), Chine, Japon, USA (Pennsylvanie).

En Allemagne, seuls Albesheim et landan ont subi un petit nombre d'essais de culture [6].

### I.1.3. Production mondiale

L'Iran, l'Inde, la Grèce, le Maroc et l'Espagne sont les principaux producteurs de safran. La production annuelle moyenne de 2004 à 2008 était de 180 tonnes, 9 tonnes, 5,5 tonnes, 3 tonnes et 1 tonne, représentant respectivement 90,1 %, 4,5 %, 2,8 %, 1,5 % et 0,5 % de la production totale. Malgré l'importance du safran iranien sur le marché mondial, l'Espagne reste le pays le plus associé à cette épice, car l'Espagne contrôle actuellement le marché mondial du safran, en particulier les États-Unis qui sont considérés comme le principal marché de l'Espagne [7].

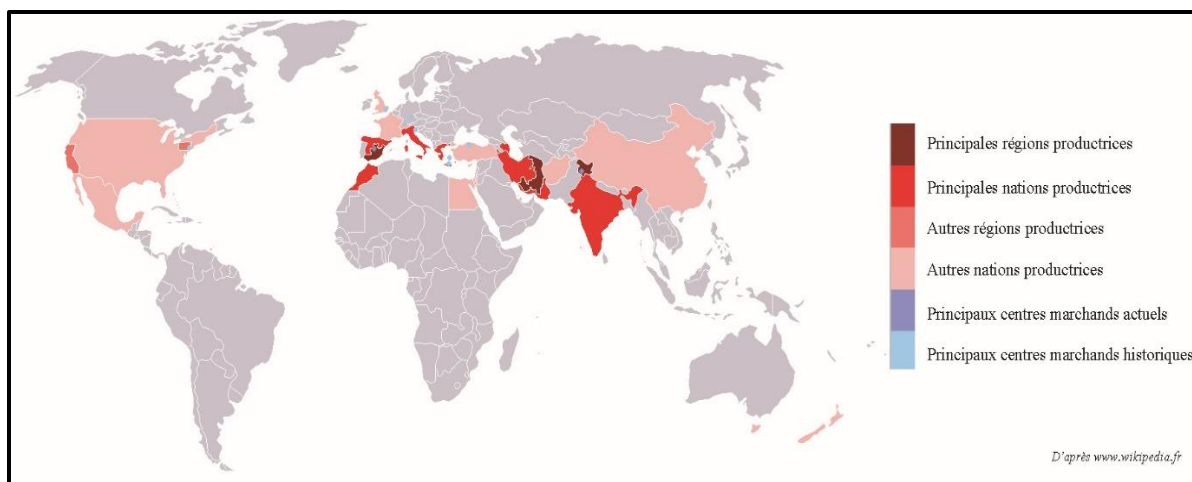


Figure I.2 : Principales nations productrices de safran [10].

### I.1.4. La culture du safran en Algérie

Le géographe espagnol Abou Obeyda Al Bikri (1040-1094) a déclaré dans son rihla (voyage) que l'Algérie a dû connaître cette culture très tôt, ayant vu la culture de l'Or rouge. De plus, il existe déjà dans des endroits proches de l'Andalousie, comme Tlemcen et peut-être Bejaia [8].

Durant l'époque coloniale des essais de culture du safran algérien ont été effectués par le sergent administrateur de Milah, RIVIÈRE Ch. ancien directeur du jardin du Hamma et TRABUT, chef de service botanique d'Algérie par des cultures familiales [9].

Le safran en Algérie a été occulté et a disparu depuis des décennies suite à l'apparition de nouvelles cultures et d'autres occupations du peuple après l'indépendance. D'après Tozanli,

2018, la reprise de cette culture, se fait dans les années 2009 comme un essai par un nombre d'agriculteurs de Tlemcen, Tiaret, Constantine et Khenchela. Cette culture a été étendue dans presque toutes les régions du pays, et elle est encouragée par la création des associations nationales pour développer cette dernière [4].

### I.1.5. Etude botanique

#### I.1.5.1. Description

*Crocus sativus* est une plante herbacée vivace monocotylédone qui fleurit en automne et ne pousse pas à l'état sauvage. C'est une plante rustique de par sa morphologie et sa physiologie. Le pollen de safran est stérile et les fleurs de crocus ne produisent pas de graines viables. Il peut atteindre une hauteur de 10 à 25 cm. Ses fleurs lilas sont constituées de 6 pétales, 3 étamines jaunes et un pistil, divisés en 3 longs stigmates, de 3 à 4 cm de long, rouge vif, luisants et doux. Lorsque les fleurs sont épanouies, le stigmate est brillant, la base est fine, l'extrémité est large, et il est très parfumé. Après séchage, il forme un safran commercial. Chaque bourgeon a de 5 à 11 feuilles et se développera avec ou après la floraison. Le safran pousse à partir de ses bulbes. Le bulbe, mesure de 3 à 5 cm de diamètre c'est un organe souterrain qui accumule et stocke les substances nécessaires à la floraison et à la germination[5].

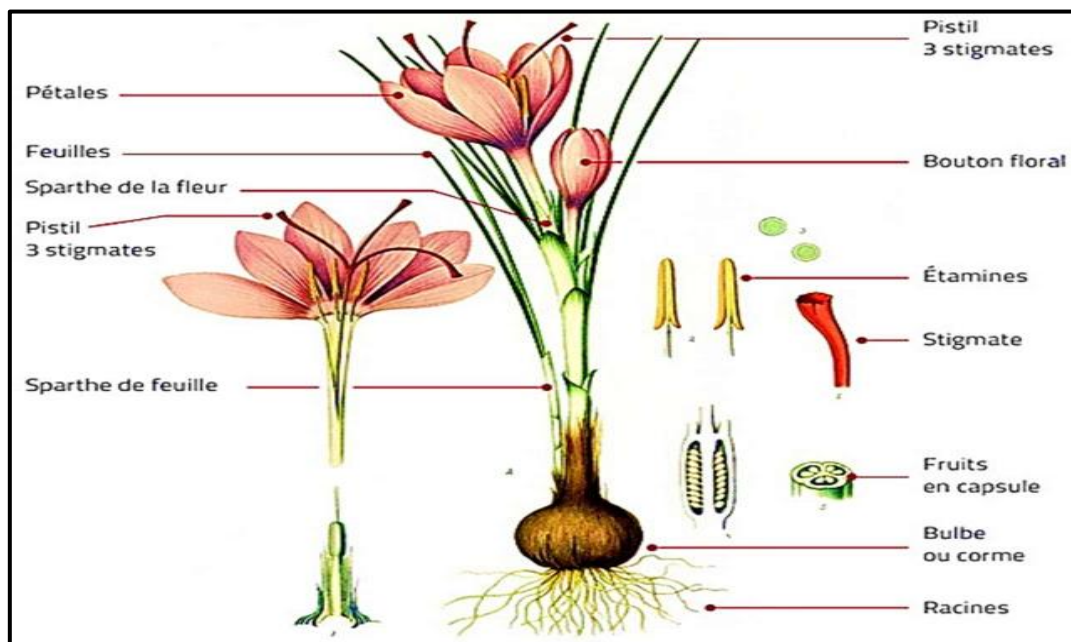


Figure I.3 : Caractéristiques morphologiques de la plante du safran [22].

### I.1.6. Classification

Selon la classification botanique de Cronquist de 1981, qui est basée sur des critères anatomiques, morphologiques et chimiques dans le but de différencier les angiospermes,

*Crocus sativus L.* appartient à :

- Règne : végétal
- Embranchement : Spermatophyte
- Sous-embranchement : Angiospermes (Magnoliophyta)
- Classe : Monocotylédones (Liliopsida)
- Sous-classe : Liliidae
- Ordre : Liliales
- Famille : Iridaceae
- Sous-famille : Crocoïdeae
- Genre : *Crocus*
- Espèce : *C. sativus L* [10].

### I.1.7. Culture de safran

#### I.1.7.1 Cycle biologique

Dans le cycle du safran, on différencie deux étapes tout au long de l'année : une phase d'activité et une phase de dormance.

➤ La phase active dure d'août ou septembre à avril ou mai, période pendant laquelle la plante reprend son activité métabolique et l'enracinement, le bourgeonnement, la floraison et le feuillage. Au stade de la phyllose, on distingue le stade reproducteur ou division du bulbe généralement ce stade se produit en mars, qui est une période critique pour le développement de la plante [6].

➤ La phase de dormance : en avril, les nouveaux bulbes sont complètement formés, la période de haute température arrive et les feuilles se dessèchent [6].

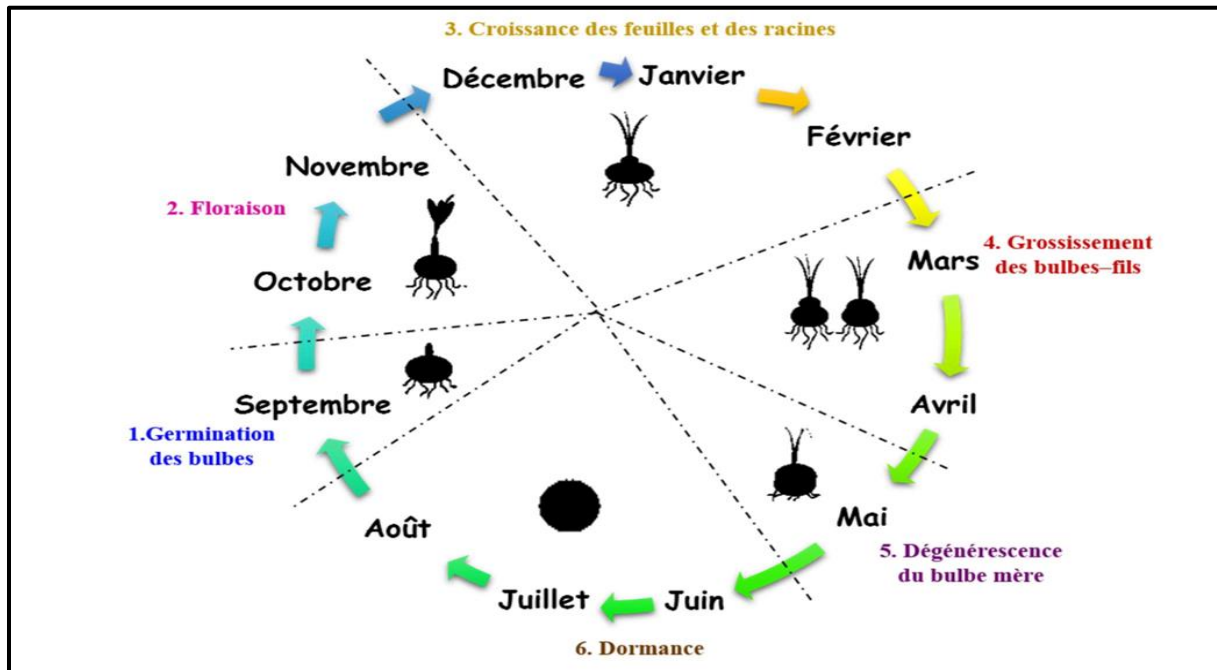


Figure I.4 : Cycle de développement de *C. sativus* L [7].

### I.1.7.2 Exigences écologique et édaphiques

#### a. Exigences écologiques :

- **Température** : le safran est une plante rustique pouvant supporter des températures de  $-15^{\circ}\text{C}$  en hiver et  $+40^{\circ}\text{C}$  en été [11].
- **Altitude** : le safran est une plante d'altitude, la littérature indique généralement une altitude idéale comprise entre 600 et 1200 m [11].

#### b. Exigences édaphiques :

- **Le sol** : Le safran a besoin d'un sol profond bien riche en matière organique. Il tolère cependant des sols jusqu'à 20 % de calcaire.
  - ✓ Les textures argilo-calcaires, argilo – sableuse sont bien adaptées.
  - ✓ Les sols trop sableux sont à éviter.
  - ✓ Les sols les plus fertiles facilitent la croissance végétative au détriment de la floraison [6].
- **L'eau** : Les besoins en eau sont de l'ordre de 650 mm [6].

### I.1.8. Procédés d'obtention de safran

Pour obtenir le safran, différentes étapes sont nécessaires : la récolte, l'émondage et le séchage, la conservation.

- **La récolte** : Elle a lieu en octobre et elle dure de 3 à 6 semaines. L'ensemble de la fleur est récolté manuellement en coupant la fleur à la base de sa corolle avant son ouverture, tôt le matin avant l'arrivée des chaleurs du jour, afin d'éviter la fanaison des stigmates qui survient quelques heures après l'ouverture de la fleur, une fois celle-ci exposée aux rayons solaires.
- **L'émondage** : cette opération consistant à séparer le pistil de la fleur en vue du séchage, seule la partie rouge du pistil étant prélevée. Ceci est réalisé le jour même, juste après la récolte. Les précautions prises lors de la récupération des stigmates conditionnent la qualité du produit [5].
- **Le séchage** : est une opération délicate qui détermine la qualité organoleptique et la durée de conservation du safran. Sécher dans un environnement propre et couvert (pas de poussière, pas de volatilisation de la safranal) [6].



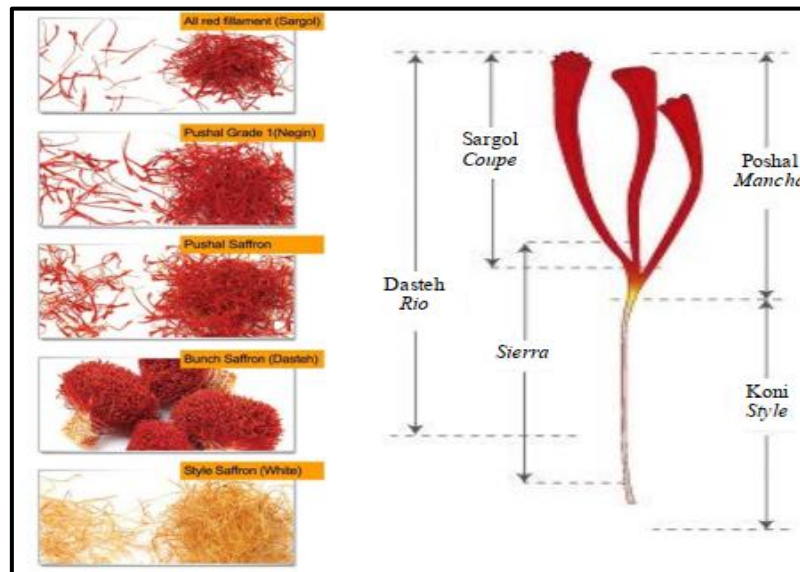
**Figure I.5** : Étapes de la culture de safran : plantation et floraison, récolte de la fleur, émondage et séchage des stigmates [5].

#### ❖ Type de safran selon la coupe des stigmates

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

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

- **Safran de type Dasteh (Iran) ou Rio (Espagne) :** Tout le pistil de la fleur, stigmates et style, proposé en petits bouquets.
- **Safran de type Sierra (Espagne) :** On garde le style et une petite partie des stigmates. Les caractéristiques sont bien moindres, couleur dominante jaunâtre [12]. Les variétés espagnoles présentent généralement une couleur, un arôme et un parfum plus doux. Les variétés italiennes sont plus puissantes, alors que les variétés les plus intenses sont originaires d'Iran ou d'Inde.



**Figure I.6 :** Types du safran.

## I.1.9. Application du safran

### I.1.9.1. Usages médicaux

Plusieurs études ont montré de multiples propriétés thérapeutiques du *C. sativus L* il a montré une réduction de la pression sanguine d'une manière dépendante de la dose. En plus, le safran est connu pour ses activités anticonvulsivants, l'activité antitussive, l'effet sur le comportement sexuel, les effets anti génotoxique et cytotoxiques, les effets antimutagène et cytotoxiques. Suggèrent que le safran lui-même, ainsi que ses composants caroténoïdes, pourraient être utilisés comme agents potentiels de chimioprévention du cancer, comme anxiolytique et pourraient agir sur le comportement d'apprentissage et de potentialisation à long terme [7].

**I.1.9.2. Usages tinctoriaux**

Le safran possède un fort pouvoir colorant grâce à son pigment  $\alpha$ -crocine, un caroténoïde hydrosoluble.

En effet, un échantillon de filaments de safran peut colorer 100 000 fois son volume d'eau, et aucun colorant synthétique n'a pu imiter la couleur du safran. Anciennement utilisé comme teinture pour les vêtements, le cuir et les cheveux [7].

**I.1.9.3. Usages cosmétique**

L'huile essentielle de safran possède des propriétés restructurantes basées sur l'action antioxydante et est fortement recommandée pour le soin des peaux stressées ou abîmées. Principalement utilisé comme parfum, le safran est un composé aromatique agréable produit lorsqu'il est séché, probablement par dissociation enzymatique ou thermique de la crocine, un composé amer [7].

**I.1.9.4. Usage culinaire**

Certaines cuisines ont utilisé le safran comme condiment dans les plats et les desserts. Il est particulièrement apprécié pour sa couleur et son arôme. La cuisine marocaine ne fait pas exception, avec une grande variété de plats préparés avec du safran [7].

**I.1.10. Etude phytochimique du safran [10]**

L'utilisation du terme "safran", nous faisons référence aux stigmates séchés de la fleur, qui traditionnellement utilisée depuis des siècles dans la médecine botanique. D'autres parties de la plante, comme le bulbe ou les pétales, possèdent également des propriétés intéressantes d'un point de vue médicinal. Ces parties actives sont actuellement à l'étude mais ne seront pas abordées dans notre présentation.

L'analyse chimique du stigmate de *Crocus sativus L* a révélé la présence de plus de cent cinquante éléments, grossièrement composés comme suit :

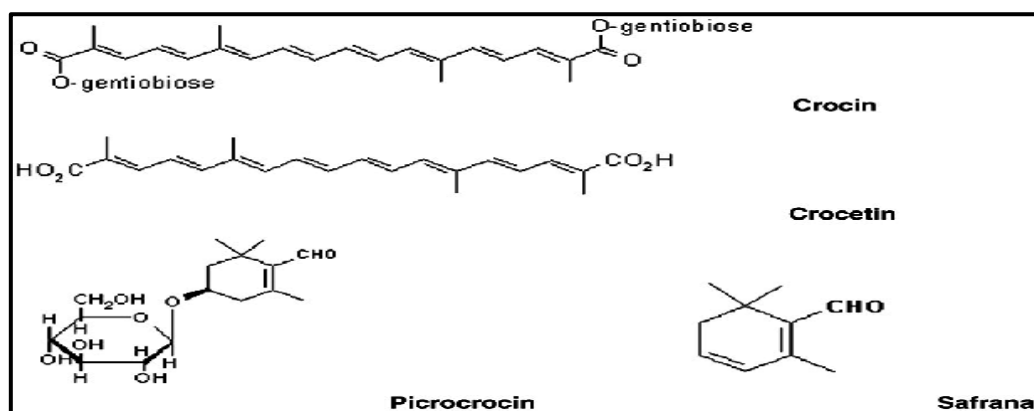
- 10% d'eau,
- 12% de protéines et d'acides aminés,
- 5% de matières grasses,
- 5% de minéraux (Mn, Mg, P, Cu, Ca, Zn, Fe, etc.),
- 5% de fibrilles,
- 63% de sucres, dont amidons, sucres réducteurs, pentosanes, gommés, pectines et dextrines,
- Des traces de vitamine B2 (riboflavine) et de vitamine B1 (thiamine).



### I.1.10.1. Principaux composants du safran

Diverses études analytiques ont été conduites pour caractériser un grand nombre de composés biologiquement actifs trouvés dans le safran. Les quatre principaux composés biologiquement actifs sont :

- La crocine et la crocétine qui sont deux pigments caroténoïdes responsables de la couleur jaune-orangée de l'épice.
- La picrocrocine, apportant au safran sa saveur et son goût amer.
- Le safranal, un composé volatil responsable de l'arôme et de l'odeur si spécifique au safran.

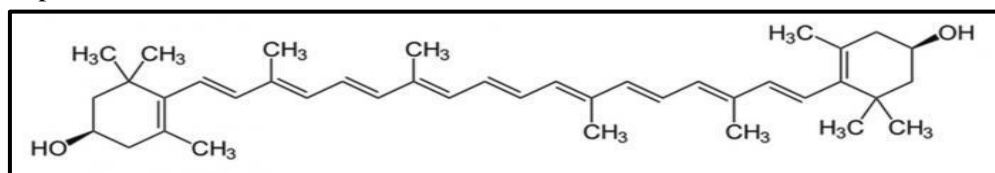


**Figure I.7 :** Structures chimique des quatre métabolites secondaires du Safran à activité biologique.[10]

#### a. Les caroténoïdes

Il convient de rappeler que les caroténoïdes sont des pigments naturels jaunes et oranges provenant de plantes. Leur synthèse a lieu dans les organites subcellulaires des plantes (plastides) par des réactions enzymatiques. Ce sont des composés de polyisoprène et leur caractéristique structurale est la présence de doubles liaisons conjuguées, ce qui affectera ses propriétés physiques, chimiques et biophysiques.

Des caroténoïdes lipophiles et hydrophiles ont été identifiés dans le safran. Des caroténoïdes lipophiles tels que l' $\alpha$ -carotène, le  $\beta$ -carotène, le lycopène et la zéaxanthine ont été signalés en quantités infimes. Ils auront encore leur Compte tenu de l'importance de ses propriétés antioxydantes. Les principaux caroténoïdes présents dans le safran, tels que la crocétine et la crocine, proviennent en fait du métabolisme de la zéaxanthine



**Figure I.8 :** structure chimique de la zéaxanthine

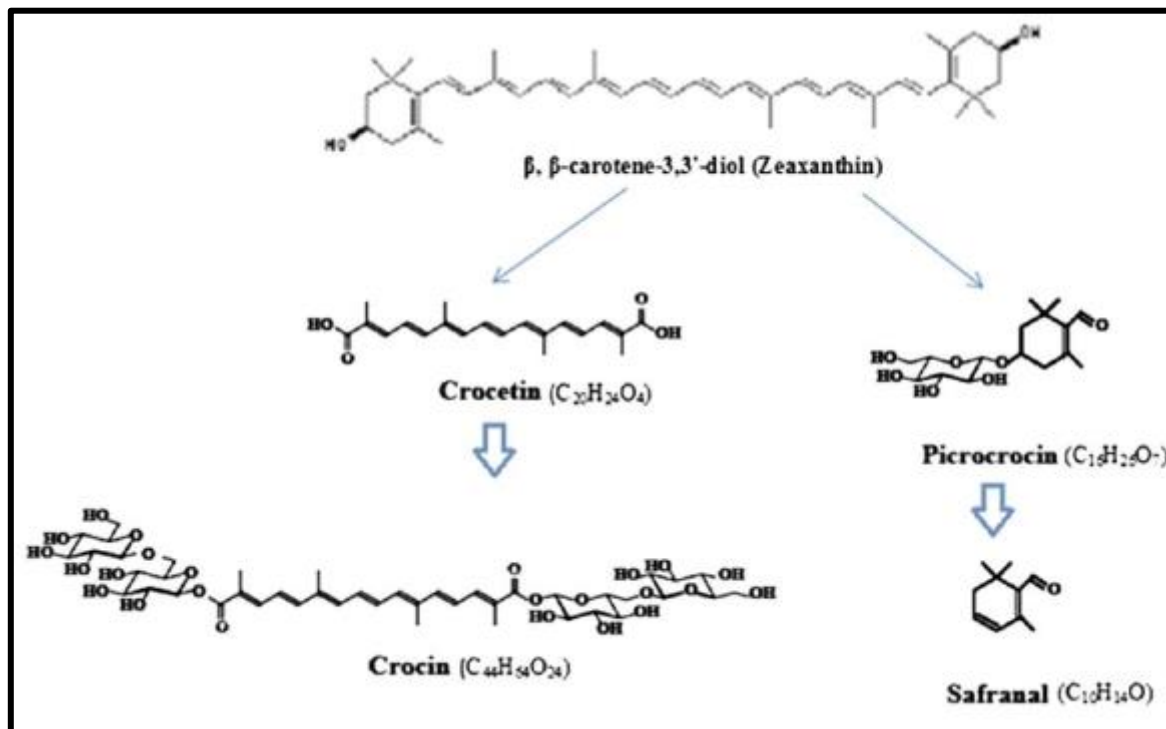


Figure I.9 : biosynthèse du safranal et de la crocine à partir du clivage oxydatif de la zéaxanthine

#### • La crocétine

- Formule brute :  $C_{20}H_{24}O_4$

- Nom IUPAC : Acide (2E,4E,6E,8E,10E,12E,14E) -2,6,11,15-Tetraméthyl-2,4,6,8,10,12,14-hexadecaheptaènedioïque

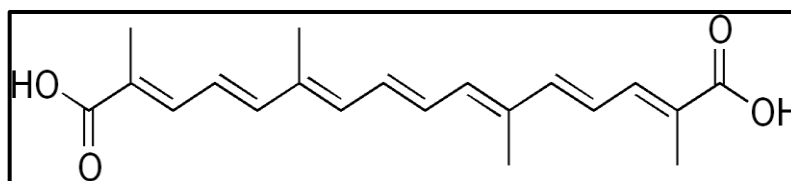


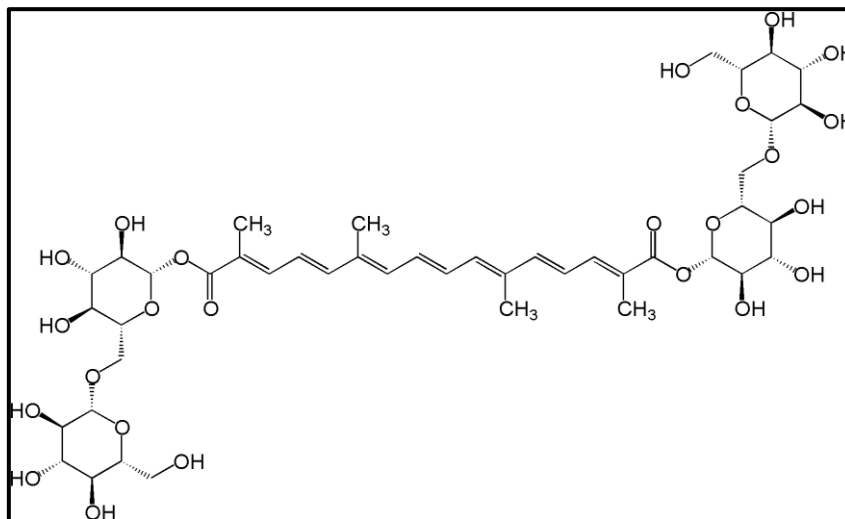
Figure I.10 : Structure chimique de la crocétine

L'estérification avec des sucres de la crocétine qui est un carotinoïde liposoluble, produits des dérivés appelées crocines. Ces dernières font partie des rares caroténoïdes hydrosolubles. Selon la variété, la culture et les conditions de croissance, ils représentent environ 6% à 16% de la matière sèche totale du safran.

- **La crocine 1 ou  $\alpha$ -crocine**

- Formule brute :  $C_{44}H_{64}O_{24}$

- Nom IUPAC : 8,8'-diapocarotene-8,8'-dioic acid bis (6-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl Dglucopyranosyl ester)



**Figure I.11** : Structure chimique de la crocine 1

La crocine 1 ou  $\alpha$ -crocine est un diester formé à partir de crocétine ; dont chaque acide dicarboxylique d'extrémité est relié à un disaccharide gentiobiose (formé de 2 molécules de glucose). Il a une solubilité élevée en raison de la fraction sucre. En effet, il se dissout rapidement dans l'eau pour former une solution orangée, ce qui explique son utilisation comme colorant naturel dans l'industrie alimentaire.

Le stigmathe du crocus contient également d'autres variétés de crocine, on peut citer la dicrocine et la tricrocine, elles sont toutes obtenues par estérification de la crocine.

**b. La picrocrocine**

- Formule brute :  $C_{16}H_{26}O_7$

- Nom IUPAC : 4-( $\beta$ -D-glucopyranosyloxy) -2,6,6-triméthyl-1-cyclohexène-1-carboxaldéhyde.

En masse, la picrocrocine est le deuxième composé le plus important, comprenant 1% à 13% de la matière sèche du safran. Il s'agit en fait d'un monoterpène glycosylé qui résulte de la dégradation du caroténoïde zéaxanthine, et c'est un précurseur de la production du safranal.

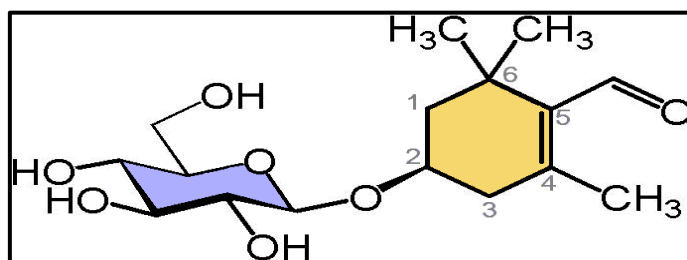


Figure I.12 : structure chimique de la picrocrocine

### c. Huile essentielle : safranal [4]

- Formule brute : C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>O

- Nom selon la nomenclature IUPAC : 2,6,6-Triméthyl-1,3-cyclohexadiène-1-carboxaldéhyde

Le safran contient 0,4 à 1,3 % d'huile essentielle. Le safranal, un aldéhyde aromatique, a été rapporté comme le principal composant biologiquement actif de cette huile essentielle. En effet, il représente 82,82 % des composants volatils.

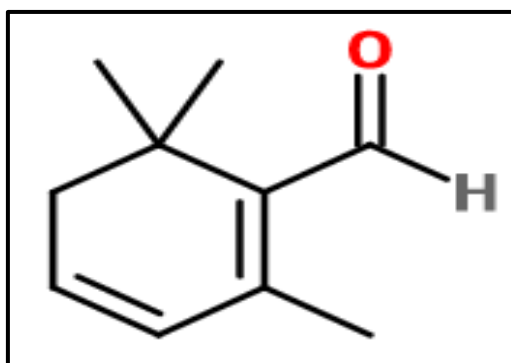


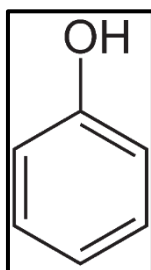
Figure I.13 : Structure chimique du safranal

Les conditions de séchage et de stockage de l'épice sont des facteurs primordiaux puisqu'ils déterminent la concentration en safranal dans le produit fini. C'est au moment de la déshydratation que s'effectue la formation du safranal à partir de la picrocrocine via une réaction d'hydrolyse consistant en une libération d'une molécule de D-glucose et de safranal. Par conséquent, l'arôme typique du safran ne peut être apprécié que sur des stigmates séchés, car les stigmates frais n'ont pas d'odeur.

### I.1.10.2. Autres composants du safran : Polyphénols

Les composés phénoliques sont des substances naturellement présentes dans les plantes, dont on pense que beaucoup ont des rôles physiologiques tels que des agents antibactériens, antiviraux, anticancéreux et des piègeurs de la plupart des types de molécules oxydatives.[13]

Les polyphénols constituent l'un des groupes de substances les plus nombreux et les plus répandus du règne végétal, avec plus de 8000 structures phénoliques actuellement connues. Ils sont des produits du métabolisme secondaire des plantes et sont omniprésents dans tous les organes végétaux [14]. Ce sont des composés qui contiennent un groupement phénol (anneau aromatique avec un groupement hydroxyle). Ils peuvent avoir différents substituants [15].



**Figure I.14 :** Structure chimique de groupement phénol

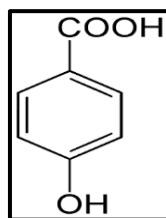
#### I.1.10.2.1. Classification

Les polyphénols possèdent plusieurs groupement phénoliques, tels que les acides phénoliques de type benzoïque ou cinnamique, les tannins hydrolysables (gallo et ellagitannins), les stilbènes et les flavonoïdes, les coumarines et les lignanes.

1. **Les acides phénoliques :** cette classe est divisée en deux sous classe :

- **Les acides hydroxybenzoïques**

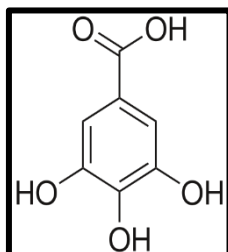
Incluent plusieurs molécules et les plus fréquentes sont : l'acide gallique, l'acide vanillique, l'acide syringique et p-hydroxybenzoïques. Ces composant ont une structure de C6-C3 en commun.



**Figure I.15 :** Structure chimique d'acides hydroxybenzoïques

- **L'acide gallique (C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>5</sub>)**

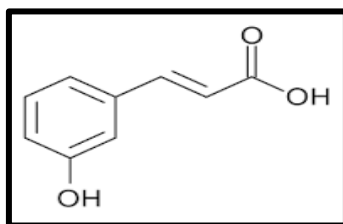
Est un polyphénol appartenant à la famille des acides phénoliques, C'est l'acides 3,4,5-trihydroxy-benzoïque est un membre de classe des acides hydroxybenzoïque, sa masse molaire :170,119g/mol et sa structure chimique.



**Figure I.16** : Structure chimique d'acide gallique.[16]

- **Les acides hydroxycinnamique**

Ces molécules possèdent un cycle aromatique avec 3 carbones en plus C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub> ; par exemple : L'acides caféique, l'acide férulique, p-coumarique, et l'acides sinapique [17].



**Figure I.17** : Structure chimique d'acide hydroxycinnamique

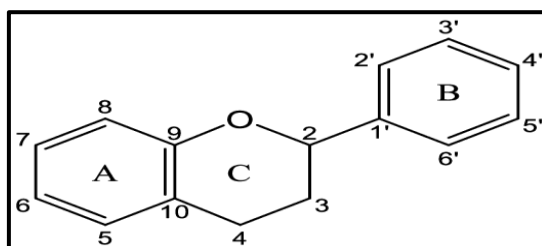
## 2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont presque omniprésents dans les aliments végétaux (légumes, céréales, légumineuses, fruits, noix, etc.) et les boissons (vin, cidre, bière, thé, cacao, etc.). La présence de flavonoïdes dans les aliments végétaux est largement influencée par des facteurs génétiques et les conditions environnementales [14].

Ils sont connus pour leur puissant pouvoir anti-oxydant in vitro mais également leurs nombreuses autres propriétés biologiques : vasculo-protectrice, anti-inflammatoire, antibactérienne [18].

Leur fonction principale semble être la coloration des plantes (au-delà de la chlorophylle, des caroténoïdes et des bétalaïnes), ce qui explique leur intérêt commercial dans l'industrie alimentaire.

Les flavonoïdes possèdent un squelette de base à quinze atomes de carbone constitué de deux cycles en C6 (A et B) reliés par une chaîne en C3 [15].



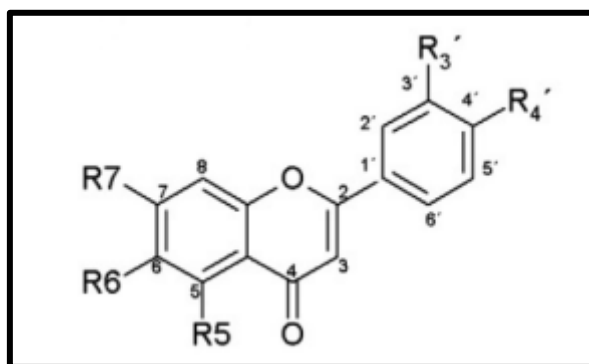
**Figure I.18** : Structure chimique de base des flavonoïdes

#### a. Classification

Les composés les plus courants trouvés dans la nature sont les flavonols, Flavonoïdes, flavan-3-ols, isoflavones, flavanones, flavanols, Anthocyanes et Proanthocyanidines [14].

#### • Les flavones :

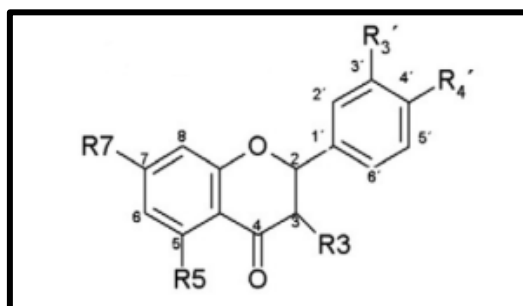
Comme tous les flavonoïdes, les flavones ont une structure C6-C3-C6, avec un hétérocycle portant un groupe carbonyle et une insaturation se produisant en C3. Les flavanones ont une structure similaire aux flavones, mais pas au niveau de l'anneau du héros.



**Figure I.19** : Structure chimique des flavones [18].

- **Les flavanones :**

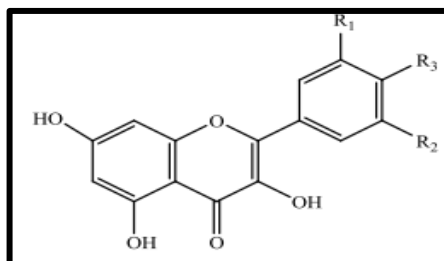
Les flavanones sont les flavonoïdes responsables de la saveur amère de certains pamplemousses, des citrons, des oranges [11].



**Figure I.20 :** Structure chimique des flavanone [17]

- **Les flavonols :**

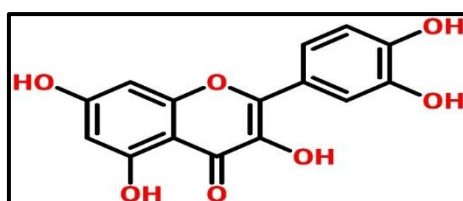
Sont les plus largement répandus. Ils sont incolores, et caractérisés par la présence d'un groupement carbonyle en position 4 et d'un groupement hydroxyle en position 3. Les flavonols qui possèdent en plus des hydroxydes en 6 ou 8 colorent certaines fleurs en jaune primevère [19].



**Figure I.21 :** Structure chimique des flavonols [18].

- **La quercétine**

La quercétine est un polyphénol appartenant à la famille des flavonoles, de formule chimique  $C_{15}H_{10}O_7$ , sa masse molaire est 302,24 g/mol.



**Figure I.22 :** Structure chimique de la quercétine [16].



### **I.1.11. Falsifications**

La production limitée et les prix extrêmement élevés du safran expliquent pourquoi il est fréquemment contrefait et frelaté, souvent de manière subtile et insoupçonnée, ce qui perdure à ce jour, notamment pour les catégories les moins chères, malgré les tentatives de contrôle de la qualité et de standardisation. Ces falsifications ont été mentionnées pour la première fois dans l'Europe médiévale, lorsque leurs coupables étaient Exécuter selon le code Safranschou.

Pour protéger l'authenticité du safran, le code Safranschou a été proposé et appliqué. Il s'agit d'un code qui contient des normes spécifiques pour le safran, mais contient également des sanctions en cas de falsification.

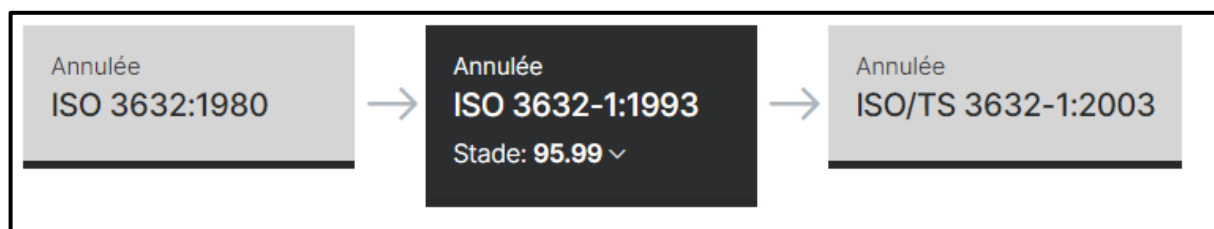
Le safran est trompé de différentes manières, la manière la plus courante de frauder les stigmates est par leur forme ou leur couleur à la place de produits souvent identifiables à l'œil nu. La falsification du safran peut se faire en ajoutant d'autres parties de sa fleur, telles que des pétales hachés, des étamines, des morceaux de pétales jaunes ajoutés. Il peut également inclure la vente de différentes catégories de mélanges de safran [20].

### **I.1.12. Qualité du safran**

La qualité du safran est chimiquement définie par le pouvoir colorant de ses pigments, l'amertume de la crocine et l'intensité de son arôme dû à la composition de ses huiles volatiles. La norme est basée sur des mesures spectrophotométriques à trois longueurs d'onde de lecture différentes, à savoir 440, 330 et 257 nanomètres, correspondant respectivement à l'absorbance maximale de la crocine, du safranal et de la picrocrocine. Des tests rapides, peu coûteux et faciles à réaliser (ne nécessite qu'un spectrophotomètre pour une mesure précise), mais présente inconvénient majeur : il est difficile de distinguer le safran véritable de celui falsifié par l'ajout de substances ayant des spectres d'absorption de forme similaire aux pigments naturels de safran [22].

### **I.1.13. Techniques basées sur l'ISO 3632**

L'ISO (Organisation Internationale de Normalisation) a en vigueur la spécification technique ISO/TS 3632 2003 (parties 1 et 2, respectivement relatives aux spécifications et méthodes d'essai du safran). La norme ISO du safran a été modifiée trois fois (1980, 1993 et 2003) depuis sa création en 1975.



**Figure I.23** : Evolution de la norme ISO 3632

Le texte de la norme a été amélioré depuis la première édition et adapté au commerce international des épices. L'édition de 1980 a établi trois catégories commerciales avec des tolérances pour les niveaux de résidus floraux entre 7% et 20%. Quant aux conditions chimiques, l'humidité maximale est de 14% pour les filaments de safran et de 8% pour la poudre de safran. Il fixe également des valeurs minimales pour la teneur totale en cendres, Elle établissait aussi des valeurs minima pour la teneur en cendres totales, extrait soluble en eau froide et teneur en nitrogène. Enfin, des valeurs minimales pour le pouvoir colorant sont incluses, qui sont mesurées par l'absorbance à 440 nm d'une solution aqueuse de safran. La solution aqueuse est le surnageant obtenu avant filtration lors du dosage des extraits solubles dans l'eau froide selon la méthode décrite dans la norme ISO 941 :1980.

L'édition suivante, celle de 1993, a redéfini les catégories commerciales antérieures et a consolidé les paramètres définissant la qualité de l'épice dans le commerce international du safran. Un des principaux paramètres était le pouvoir colorant permettant de mesurer les crocines, la picrocrocine et le safranal. En fait, cette nouvelle édition de la norme établissait quatre différentes catégories de safran (I à IV) classées par pouvoir colorant et picrocrocine. Les valeurs minimales de pouvoir colorant pour chaque catégorie étaient : 190, 150, 110 et 80. Une nouvelle méthode servant à déterminer les crocines, picrocrocine et safranal a été décrite. Cela était possible grâce à la spectrophotométrie ultraviolette visible, laquelle est utilisée actuellement avec quelques modifications. D'autre part, la norme ajustait les teneurs maxima en humidité et les matières volatiles et incluait de nouvelles valeurs pour la cellulose. Les spécifications éliminaient aussi les critères concernant les pourcentages minimales pour l'extrait soluble en eau froide et nitrogène. La version de l'année 2003 rassemble d'importants changements demandés par des entreprises du secteur, surtout en ce qui concerne la détection des frelatages. En ce qui concerne les catégories de qualité du safran sous forme de filaments, coupés ou en poudre, elles ont été ramenées de quatre à trois, différenciées par le pouvoir colorant à 440 nm (190, 150 et 100), de telle façon que la catégorie IV de la norme précédente

a été éliminée étant donné qu'un produit avec moins de 80 unités de couleur ne doit pas être considéré comme du safran. Avec la nouvelle norme, le critère « contenu maximum en cendres insolubles » pour les trois catégories a été unifié et les spécifications relatives à l'azote et à la cellulose brute ont été éliminées. Les références au pouvoir amer de la picrocrocine ont aussi été éliminées de la norme [21].

**Tableau I.1** : Classification du safran en fonction des conditions physique établie dans la Spécification Technique ISO 3632-1

Caractéristiques	Catégories		
	I	II	III
Restes floraux (fraction massive), % max..	0,5	3	5
Matières étrangères (fraction massive), % max..	0,1	0,5	1,0

**Tableau I.2** : Classification du safran en fonction des conditions physique et chimique établies dans la Spécification Technique ISO 3632-1.

Caractéristiques	Catégories Spécifiques		
	I	II	III
Teneur en eau et matières volatiles (fraction massive), % max.			
Safran en filaments	12	12	12
Safran en poudre	10	10	10
Cendres totales (masse) sur sec, % max..	8	8	8
Cendres insolubles dans l'acide (fraction massive), % sur sec, max.	1,0	1,0	1,5
Extrait soluble dans l'eau froide, (fraction massive) sur sec, max..	65	65	65
E <sub>1%</sub> <sub>1cm</sub> 257 nm sur sec, min.(valeur maximum d'absorption de picrocrocine)	70	55	40
E <sub>1%</sub> <sub>1cm</sub> 330 nm sur sec :Min.Max.(valeur maximum d'absorption de safranale)	20 50	20 50	20 50
Pouvoir colorant E <sub>1%</sub> <sub>1cm</sub> 440 sur sec, min.(À cette longueur, l'absorption de crocine est maximale)	190	150	100
Colorants acides artificiels hydrosolubles	Absence	Absence	Absence

### I.1.14. Bibliographie sur le safran en Algérie

Actuellement, la découverte des ressources naturelles du règne végétal est essentielle au développement de nouvelles thérapies. Ils sont considérés comme une source importante de matières premières pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires au développement de futurs médicaments.

En Algérie, la culture du safran est pratiquée depuis des siècles, et elle a fait objet de travaux scientifique, dont on peut citer :

#### a. Contribution à la caractérisation biologique des extraits des racines de *Crocus sativus* issus de la région d'El-Oued

L'objectif principal de ce travail est de promouvoir la plante de *Crocus sativus* L, et la valorisation des racines de cette plante cultivée dans la région d'el-Oued (Hassi khalifa), située au nord-est du Sahara algérien, à travers des analyses qualitatives et quantitatives et des études sur l'activité antioxydante et antimicrobienne

L'extraction a été réalisée à partir des racines de la plante le mélange utilisé est l'éthanol/eau (80/20) par deux méthodes : la macération et sonication, les rendements obtenus sont d'ordre de 17,5 % et 7%, respectivement. Le screening phytochimique a mis en évidence divers métabolites secondaires dans les racines de *Crocus sativus* : tanins, saponosides, terpénoides, alcaloïdes, anthraquinones, flavonoïdes et polyphénols. Les deux méthodes d'extraction ont donné les mêmes résultats.

Le dosage des phénols totaux des deux extraits éthanoliques a révélé des teneurs considérables par macération ( $2,88 \pm 0,2 \text{ mg EAG/g E}$ ) et par ultrasons ( $2,71 \pm 1 \text{ mg EAG/g E}$ ). D'autre part, le dosage des flavonoïdes a montré que les deux méthodes macération et ultrasons présentent des teneurs modérées de l'ordre de  $1,6 \pm 0,2 \text{ mg EQ/g E}$  et  $2,4 \pm 0, \text{ mg EQ/g E}$ , respectivement.

Des études sur l'activité antioxydant des extraits éthanolique correspondant aux espèces étudiées par méthode de réduction ferrique et méthode de piégeage de radicaux DPPH ont montré que tous les extraits possèdent une capacité antioxydant Il est à noter que le pouvoir réducteur des extraits obtenus par macération était inférieur à celui des extraits obtenus par sonication, et que le pouvoir réducteur des deux extraits était inférieur à celui de l'acide ascorbique. En revanche, des études sur la capacité antioxydante de nos extraits en piégeant les radicaux libres DPPH ont montré que leur capacité antioxydante est modérée, y compris les valeurs  $IC_{50}$ ,

notamment pour les extraits infusés.

L'activité antimicrobienne des extraits végétaux sur des microorganismes pathogènes s'est avérée importante, vu que cette plante a révélé une activité remarquable sur les trois souches testées, *S. aureus*, *P. aeruginosa* et *B. subtilis*. Les deux extraits ont révélé aussi des activités antimicrobiennes fortes contre *P. aeruginosa*.

Ces résultats confirment l'intérêt médicinal du safran. En fait, les racines de cette plante possèdent plusieurs propriétés curatives. Toutefois, ces résultats préliminaires restent unilatéraux. Il serait donc judicieux à l'avenir d'approfondir les recherches phytochimiques sur cette plante en tentant d'identifier et de purifier les substances bioactives responsables de l'activité testée.[23]

#### **b. Etude technico-culturelle de safran dans la région de Hamadia, Tiaret :**

La région Hamadia, dans la wilaya de Tiaret, est caractérisée par un climat semi-aride des plus propices à la culture du safran.

Les principaux objectifs de l'étude étaient de comprendre et de suivre les pratiques culturelles de production de safran et d'évaluer le calibre des bulbes, qui a un impact significatif sur le développement végétatif.

Selon la littérature, les études confirment que le calibre de la corne a un impact fondamental sur le rendement la première année de plantation, due à un nombre plus élevé de bourgeons floraux. Tel que spécifié ailleurs dans le monde, les implantations devraient être réalisées dès le départ avec des calibres florifères  $\geq 11$  cm.

Toutefois, les cornes fils nouvellement formés sont de plus petits calibres que le corne mère implanté au départ. Ce qui laisse supposer que, sous nos conditions de terrain, le rendement va diminuer dans le temps puisque les cornes deviennent en plus grande proportion de calibre non florifère (0 à 6,9). La longévité d'une safranière sans avoir recours à de nouvelles cornes de remplacement annuellement n'est pas encore clairement définie pour nos conditions climatiques. Des essais privés sont en cours pour valider la croissance et la longévité des cornes sous abris temporaires ou encore sous serre.[24]

### c. Extraction des composés bioactifs de safran Algérien

Le matériel végétal utilisé dans cette étude était les stigmates de *Crocus Sativus*, qui ont été obtenus auprès de la Ferme Expérimentale de Recherche de la Commune Ibn Badis wilaya de Constantine. Les fleurs de cette plante ont été récoltées en octobre 2018, et les stigmates sont séchés pendant une dizaine de jours pour obtenir du safran séché.

Cette étude s'est concentrée non seulement sur l'évaluation de l'effet de la méthode d'extraction, de la durée, et du niveau d'énergie d'extraction sur la teneur des trois composés caractéristiques du safran (picrocrocine, safranal et crocine), mais également sur la valeur des polyphénols et l'évaluation de leur activité antioxydante, ainsi que l'évaluation de la stabilité de l'acidité et de température sur le contenu en crocine.

Trois méthodes d'extraction ont été utilisées :

- L'extraction assistée par l'ultrason à 100 % ;
- L'extraction assistée par microondes à 500W ;
- La macération avec agitation à 600 rpm.

Le dosage de ces composés a révélé que l'extraction assistée par l'ultrason à 100 % est la méthode la plus adéquate pour la picrocrocine, le safranal et la crocine avec des valeurs respectivement de 114,23 ; 56,42 et 273,38.

Suivi de l'extraction assistée par microondes à 500W et enfin l'extraction par macération avec agitation à une vitesse de 600 rpm.

Il a été démontré que le safran provenant de la wilaya de Constantine est très riche en crocine, picrocrocine et safranal. La teneur des extraits en polyphénols totaux est influencée par la méthode d'extraction. La sonication et la microonde présentent les meilleurs résultats par rapport à la méthode classique avec des valeurs respectives de 119,16 ; 118,91 et 116,66 mg EAG /g MS.

L'évaluation de l'activité antioxydante par la mesure de l'activité anti-radical DPPH a mis en évidence que l'extrait obtenu par l'ultrason présente un pourcentage d'inhibition le plus élevé (60,37 %) par rapport à ceux obtenus par la microonde (48,55%) et la macération par agitation (40,51 %). La crocine, comme tous les pigments naturels ne sont stables que dans leur environnement cellulaire végétal, est soumise à une dégradation considérable une fois isolée.

La congélation (-12 °C) et la réfrigération (4 °C) sont les techniques de conservation les plus appropriées pour augmenter sa stabilité durant la période de stockage.

Le chauffage à haute température même à courte durée dégrade la crocine, et le pH bas affecte significativement la vitesse de dégradation de la crocine. Il est préconisé soit d'incorporer les filaments ou l'infusion de safran en fin de préparation ou de leur faire subir un traitement thermique doux, et de l'utiliser dans une formulation d'aliments d'acidité modérée ou faible.[20]

#### d. Qualité physico-chimique du safran Algérien

La qualité du safran dépend non seulement de sa pureté et de sa couleur, mais également de ses propriétés aromatiques et gustatives. Seules des mesures en laboratoire peuvent déterminer et garantir la classification de la qualité du safran. Des tests ont été effectués pour déterminer les concentrations de safranal (arôme), de crocine (couleur) et de picrococcine (saveur). Les catégories de safran sont regroupées selon la norme ISO 3632. Dans cette étude, spectrophotomètre UV-visible a été utilisé, qui est un appareil utilisé pour mesurer l'absorbance de solutions à différentes longueurs d'onde. Pour ce faire, il fait passer la lumière de longueurs d'onde sélectionnées à travers un récipient contenant la solution à étudier. Les molécules en solution absorbent plus ou moins la lumière, nous définissons donc l'absorbance à cette longueur d'onde, qui permet un balayage radial de l'UV à la lumière visible (200 à 700 nm).

- La saveur amère (exprimé en picrococcine  $E_{1cm}^{1\%}$  à 250 nm sur matière sèche ;
  - Le pouvoir aromatique (exprimé en safranal)  $E_{1cm}^{1\%}$  à 320 nm sur matière sèche ;
  - Le pouvoir colorant (exprimé en crocine)  $E_{1cm}^{1\%}$  à 435 nm sur matière sèche.
- D'après les résultats obtenus, le Safran du Tialet (récolte 2015) est classé en catégorie III selon la norme ISO 3632 : le safran est de bonne qualité.[1]

## I.2. Techniques d'analyse

### I.2.1. La spectroscopie Infra-Rouge

En 1800, l'astronome anglais William Herschel tombe sur le rayonnement infrarouge dans une expérience très simple : il veut mesurer l'évolution de la température d'un objet chauffé par différentes longueurs d'onde du spectre visible. Pour ce faire, il a utilisé des prismes pour décomposer la lumière blanche du soleil et placé un thermomètre dans chaque couleur. Puis il remarqua que s'il tenait le thermomètre là où le rouge avait disparu, la température continuerait à changer. Il vient de découvrir l'existence du rayonnement infrarouge [25].

### I.2.1.1. Définition

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (ou FTIR : Fourier Transforma Infrared Spectroscopy) est basée sur l'absorption du rayonnement infrarouge par le matériau analysé. Il permet l'analyse des fonctions chimiques présentes dans les matériaux en détectant les vibrations caractéristiques des liaisons chimiques. Lorsque la longueur d'onde (énergie) fournie par le faisceau est proche de l'énergie vibratoire de la molécule, celle-ci va absorber le rayonnement et enregistrer une diminution d'intensité réfléchié ou transmise. La gamme infrarouge entre  $4000\text{ cm}^{-1}$  et  $400\text{ cm}^{-1}$  ( $2,5\text{-}25\text{ }\mu\text{m}$ ) correspond à la gamme d'énergie vibratoire des molécules. Toutes les vibrations ne donnent pas lieu à une absorption, cela va dépendre aussi de la géométrie de la molécule et en particulier de sa symétrie. Pour une géométrie donnée, les modes de vibration actifs en infrarouge peuvent être déterminés grâce à la théorie des groupes.

La position de ces bandes d'absorption va dépendre en particulier de la différence d'électronégativité des atomes et de leur masse. Par conséquent, à un matériau de composition chimique et de structure donnée va correspondre un ensemble de bandes d'absorption caractéristiques permettant d'identifier les matériaux [26].

### I.2.1.2 Principe

Pour obtenir des spectres infrarouges, un petit échantillon d'un composé est placé dans un appareil équipé d'une source de rayonnement infrarouge. Le rayonnement émis par le spectrophotomètre est automatiquement balayé sur une plage de fréquences données, puis le pourcentage de transmission du rayonnement est tracé en fonction du nombre d'onde, où le rayonnement absorbé par la molécule est représenté par des bandes (courbes vers le bas) dans le spectre [27].

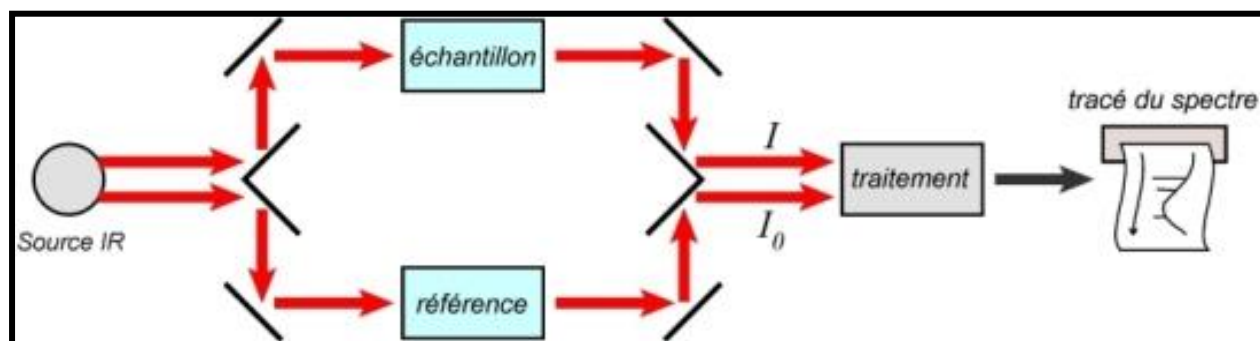


Figure I.24: Schéma du principe de fonctionnement d'un spectrophotomètre IR.



On obtient des spectres qui mesurent la transmission en fonction du nombre d'onde et non l'absorbance (d'où l'allure des spectres inversés) [28] :

$$T = \frac{I}{I_0}$$

Avec :

I : intensité du faisceau transmis (après passage dans l'échantillon).

I<sub>0</sub> : intensité du faisceau incident (faisceau de référence).

$$A = \log_{10} \frac{I_0}{I} = \epsilon l C$$

### I.2.1.3 Application de la spectroscopie infrarouge

- ✓ **Fonctionnelle** : La spectroscopie infrarouge permet de faire l'analyse fonctionnelle d'une molécule c'est-à-dire de décrire précisément l'ensemble des groupes chimiques qui la constitue. Il reste à assembler les morceaux du puzzle quand cela est possible.
- ✓ **Analyse quantitative** : Elle est basée sur la loi de Beer-Lambert :  $A = -\log T = \epsilon l c$ . Des appareils spécialisés pour l'analyse quantitative sont capables de dosages précis et rapides.
- ✓ **Qualitative** : à la vue d'un spectre infrarouge, on peut déterminer la composition d'un matériau par comparaison avec des spectres de référence contenus dans des bibliothèques de spectres.
- ✓ **Structurale** : le spectre infrarouge permet de visualiser des distinctions entre les isomères de position (cis ou trans) ou encore entre des isomères optiques. Pour les minéraux, le spectre peut permettre de retrouver le système cristallin du composé [29].

## I.2.2. La Spectrométrie d'absorption moléculaire UV-visible

### I.2.2.1. Définition

La spectrophotométrie correspond à l'étude des variations de la quantité de lumière dans un spectre ou de son équivalent énergétique résultant de l'interaction d'un rayonnement avec une substance placée sur un faisceau lumineux.

La plage de longueur d'onde ultraviolette est comprise entre 100 nm et 400 nm, et la plage de lumière visible est comprise entre 400 nm et 800 nm.

Les applications analytiques de la spectrophotométrie d'absorption moléculaire UV-visible concernent les molécules en solution ; elles peuvent être qualitatives et /ou quantitatives. Dans les deux cas, elles font appel à la loi de Beer-Lambert qui établit la relation existante entre intensité transmise  $I$  et intensité incidente  $I_0$ .

Le phénomène d'absorption ne peut être évalué que par le rapport entre intensité incidente  $I_0$  et intensité transmise  $I$  du faisceau transmis dans la même direction [30].

L'absorbance ( $A$ ) ou densité optique se définit par :

$$A = \log_{10}\left(\frac{I_0}{I}\right) = \epsilon Cl$$

$I_0$  : intensité du faisceau incident (Lumière incidente).

$I$  : intensité du faisceau émergent (Lumière transmise).

$C$  : concentration de la solution à analyser (mol/L).

$\epsilon$  : coefficient d'absorption molaire (sa valeur dépend de la longueur d'onde) (mol/cm/L).

### I.2.2.2. Principe

Un spectrophotomètre UV-Visible est un appareil utilisé pour mesurer l'absorbance d'une solution à différentes longueurs d'onde du domaine UV-Visible. Pour ce faire, on fait passer un rayonnement d'une longueur d'onde choisie à travers une cuve contenant la solution à étudier.

Les molécules de la solution absorbent plus ou moins la lumière, on définit alors l'absorbance à cette longueur d'onde [31].

Les molécules qui présentent un spectre d'absorption UV-visible sont celles qui absorbent des photons dont l'énergie correspond à des longueurs d'onde se situant dans le domaine 190 nm – 800 nm. Lorsque des molécules absorbent des photons de l'UV-Visible, l'énergie des électrons de valence augmentent. Le phénomène d'absorption dans le domaine UV-Visible est lié aux variations de l'énergie moléculaire de transitions électroniques [32].

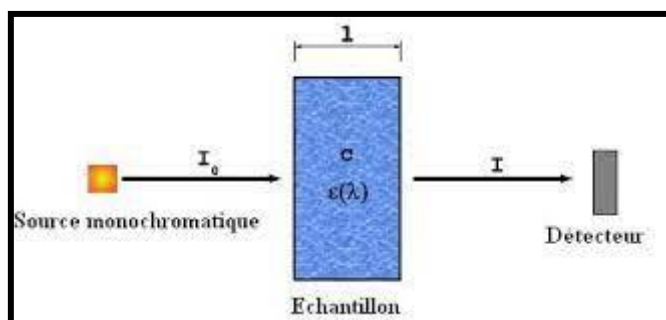


Figure I.25 : Principe de la spectrophotométrie d'absorption moléculaire.

### I.2.2.3. Appareillage

Un spectrophotomètre UV-Visible est constitué schématiquement :

- D'une source lumineuse.
- D'une cellule de mesure.
- D'un sélecteur de longueur d'onde ou monochromateur.
- D'un système de mesure de l'intensité lumineuse ou détecteur.
- D'un dispositif d'affichage et de traitement du signal.

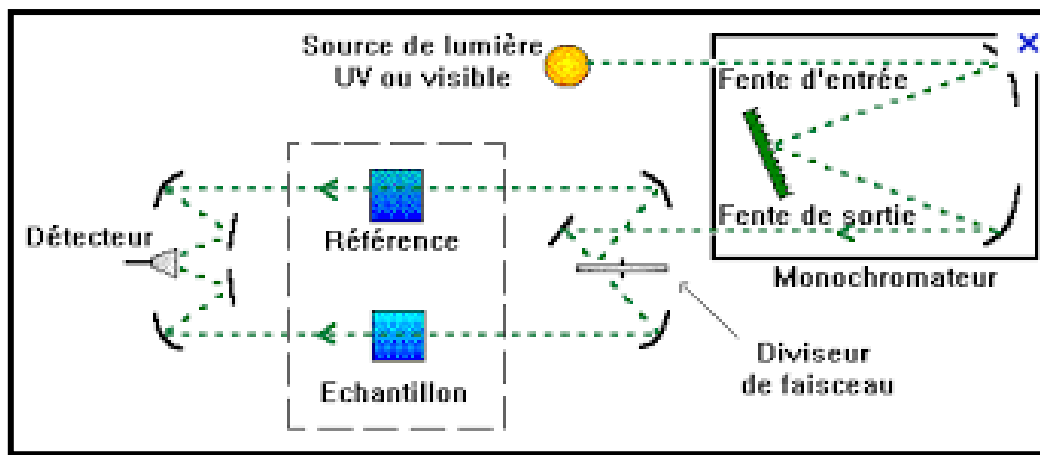


Figure I.26 : Schéma simplifié du Spectrophotomètre UV-Visible [31].

#### ✚ Sources lumineuses :

Elle est constituée par :

- ❖ Soit de deux lampes : l'une à décharge au deutérium utilisée dans le domaine des UV 190 à 400 nm, l'autre à filament de tungstène pour le domaine du visible allant de 350 à 800 nm ;
- ❖ Soit par une seule lampe à décharge au xénon, qui assure l'émission du rayonnement dans les deux domaines [33].

#### ✚ Cuve :

Elle contient soit l'échantillon soit la référence. Elle doit être transparente aux radiations d'étude. Par exemple en UV, les cuves sont quartz, la longueur du trajet optique de la cuve est = 1 à 100 nm (standard 1cm) [33].



Figure I.27 : Cuve.

### ✚ Le monochromateur :

L'élément de base est un prisme, un réseau ou un filtre coloré. Il est composé principalement d'un système dispersif et d'une fente de sortie.

Le monochromateur est utilisé pour extraire du rayonnement émis par la source lumineuse une bande spectrale très étroite dont on peut faire varier la longueur d'onde [33].

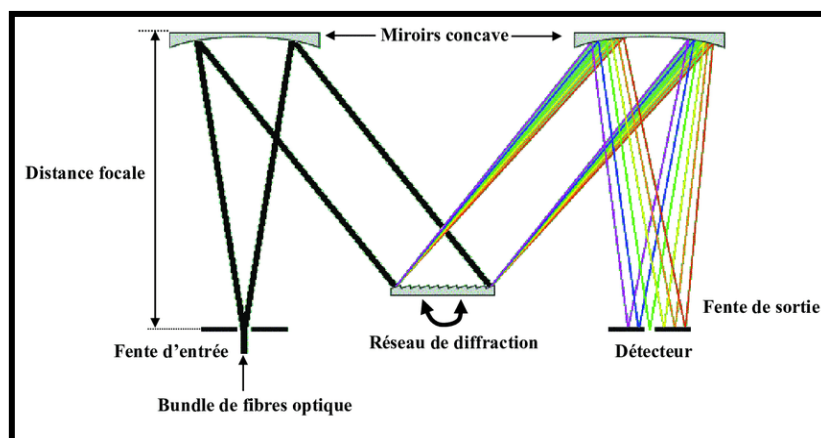


Figure I.28 : Monochromateur.

### ✚ Les détecteurs :

Le détecteur fournit une tension électrique proportionnelle à l'intensité du rayonnement, qui est ensuite convertie en absorbance ou transmittance via une calibration de l'appareil. Parmi les détecteurs on trouve [33] :

- Photodiode (semi-conducteur).
- Barrette de diodes.
- Photomultiplicateur.

#### I.2.2.4. Application de la spectroscopie UV-Visible

##### ➤ Analyse quantitative :

L'analyse quantitative par la spectrométrie UV-visible est très employée (beaucoup plus que l'analyse qualitative) grâce à l'utilisation de la loi de Beer-Lambert [34].

##### Validité de la loi de Beer Lambert :

Cette relation de proportionnalité n'est vraie que dans certaines conditions :

- Lumière monochromatique.
- Concentration pas trop élevée, pour rester dans le domaine de linéarité de la loi.
- Absence de fluorescence et diffusion négligeables (avoir une solution limpide).
- La substance ne doit pas donner lieu à des réactions chimiques sous l'effet du rayonnement incident.
- La substance ne doit pas donner lieu à des associations variables avec le solvant.

Par ailleurs, lorsque plusieurs substances sont présentes en solution, on observe une additivité des phénomènes d'absorption [30].

##### ➤ Analyse qualitative

Les spectres UV fournissent généralement peu de renseignements sur la structure moléculaire des composés comparés aux spectres IR. Néanmoins, on les utilise soit pour une confirmation soit pour une identification grâce aux règles empiriques.

### I.2.3. La chromatographie en phase liquide HPLC

La chromatographie permet de séparer ou de purifier un ou plusieurs constituants d'un mélange afin de les identifier et de les quantifier. La chromatographie liquide permet des analyses qui n'étaient pas possibles auparavant en utilisant des techniques en couche mince ou en phase gazeuse. Initialement, la chromatographie liquide a été réalisée sur des colonnes de verre. Le liquide traverse la phase stationnaire par gravité ou basse pression. Il est alors opéré à une pression plus élevée afin d'augmenter le débit. C'est ce qu'on appelle la chromatographie liquide à haute pression (HPLC). Après optimisation technique, la pression P devient rapidement la performance P (diminution de la granulométrie de la phase stationnaire, régularité de la phase...) [35].

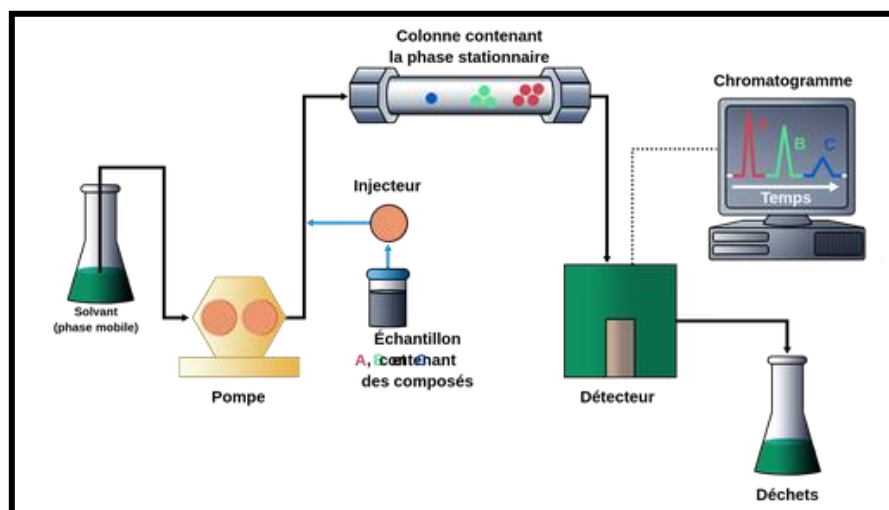


Figure I.29 : Schéma d'un appareil de chromatographie liquide à haute Performance.

### I.2.3.1. Principe :

L'échantillon à analyser est dissous dans un solvant. Véhiculé par la phase mobile liquide (éluant), il est injecté et envoyé dans le système chromatographique.

La phase mobile est pompée à travers le système chromatographique sous haute pression ce qui permet de réduire le temps de l'analyse.

Les constituants de l'échantillon, appelés solutés, interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire contenue dans la colonne chromatographique. En effet, les composés en solution se répartissent alors selon leur affinité entre les phases mobile et stationnaire.

Les différents solutés sont caractérisés par des pics en sortie de colonne à l'aide de détecteurs appropriés. L'ensemble des pics enregistré est appelé un chromatogramme [35].

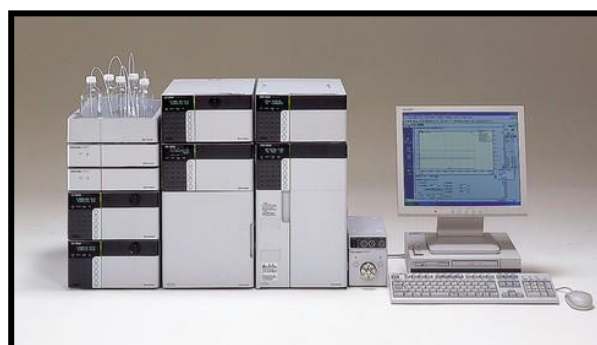
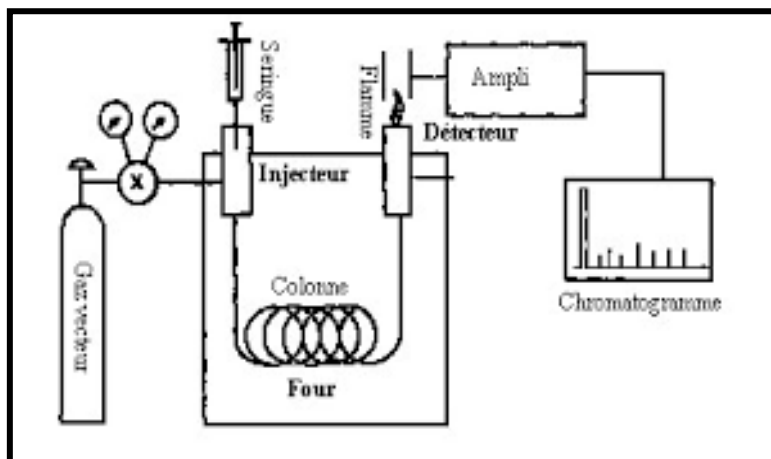


Figure I.30 : Appareillage HPLC.

### I.2.4. Chromatographie en phase gazeuse

La chromatographie en phase gazeuse (GC) est une méthode de séparation basée sur les

mêmes principes généraux que la chromatographie liquide, basée sur la migration différentielle des composants de l'échantillon à analyser à travers des substrats sélectionnés. La particularité du procédé est qu'il fonctionne entièrement sur des produits volatils, ce qui implique de maintenir une température minimale adaptée, et de travailler en circuit étanche aux gaz. La CPG a été planifiée par Martin et Synge en 1941 et s'est développée principalement à partir de 1952 sous l'impulsion de James et Martin. Elle s'est développée rapidement, notamment entre 1960 et 1970, devenant l'une des méthodes de séparation les plus utilisées. En particulier, le développement rapide des colonnes capillaires ces dernières années en a fait la méthode de choix pour trouver des sujets fondamentaux dans les études de contamination par ultra traces [36].



**Figure I.31** : Schéma simplifié de la chromatographie en phase gazeuse.



***Chapitre II***  
***Matériels et méthodes***



## Matériels et méthodes

Nous avons consacré ce chapitre à la description du matériel, des produits chimiques (réactifs), des techniques expérimentales de séparation et les techniques d'analyse utilisés.

### ❖ Localisation géographique de la wilaya de Béjaïa

Béjaïa est une ville côtière située dans le nord-est de l'Algérie, sur la côte méditerranéenne. Elle s'étend sur une superficie de 3223,50 km<sup>2</sup>.

Le matériel étudié a été récolté des différentes communes :

**Timezrit** : elle se situe en haut d'une montagne à une altitude moyenne de 500 m.

**Akbou** : elle se situe à une altitude moyenne de 280 m.

**Beni Maouche** : elle se situe à une altitude moyenne de 1200 m.

**Beni Melikeche (Daïra de Tazmalt)** : elle se situe à une altitude moyenne de 450 m.

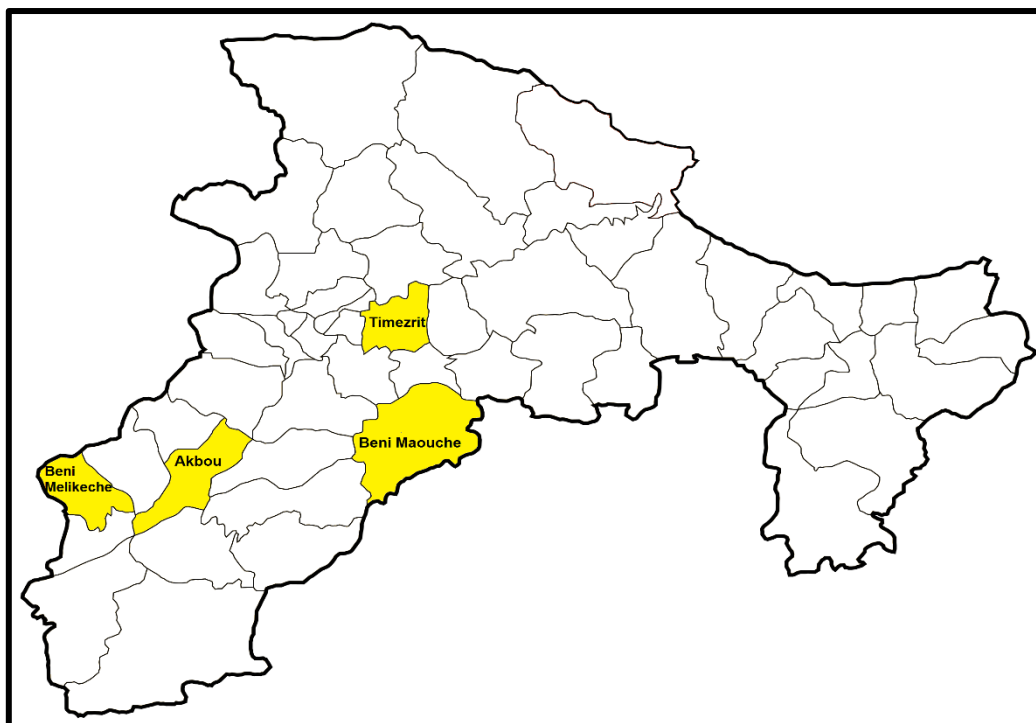


Figure II.1 : Carte de localisation des échantillons étudiée.

### II.1. Taux d'humidité et composantes volatiles du safran :

#### ● Taux d'humidité :

C'est la perte de masse subite par le produit après chauffage à 103°C pendant 16h, elle est exprimée en % masse.

- **Composantes volatiles du Safran :**

Les composants volatiles majeurs comprennent du terpène, de l'alcool, et des terpènes ester. Le safranal est aussi un composant volatil majeur formé à partir de picrocrocine, à la suite d'une interaction entre la chaleur et les enzymes pendant le processus de séchage.

- **Principe de la technique :**

Une méthode spécifique pour déterminer ce paramètre dans le Safran a été adjointe dans la Spécification Technique ISO/TS 3632-2 :2003.

Basé sur la détermination de la perte de poids d'une prise d'essai après séchage à l'étuve à 103°C pendant 16 heures.

Détermination du poids d'une prise d'essai après séchage à l'étuve et toute différence du poids indique la présence d'eau ou de matière volatile.

Les composants volatiles majeurs comprennent du terpène, de l'alcool, et des terpènes ester. Le Safranal est aussi un composant volatil majeur formé à partir de picrocrocine, à la suite d'une interaction entre la chaleur et les enzymes pendant le processus de séchage.

- a. **Protocole :**

- ✓ Peser avec une balance analytique avec une précision  $\pm$  de 0,001g, exactement 0,05g du Safran dans un verre de montre lequel a été bien séché précédemment.
- ✓ Le verre de montre avec l'échantillon est placé dans le four à  $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  pendant 16 heures.

- b. **Expression des résultats :**

La détermination de taux d'humidité en pourcentage et des composantes volatiles se fait avec la formule suivante :

$$W_{mv} = (m_0 - m_1) (100/m_0)$$

Où

**$m_0$**  : Est la masse initiale de l'échantillon en grammes.

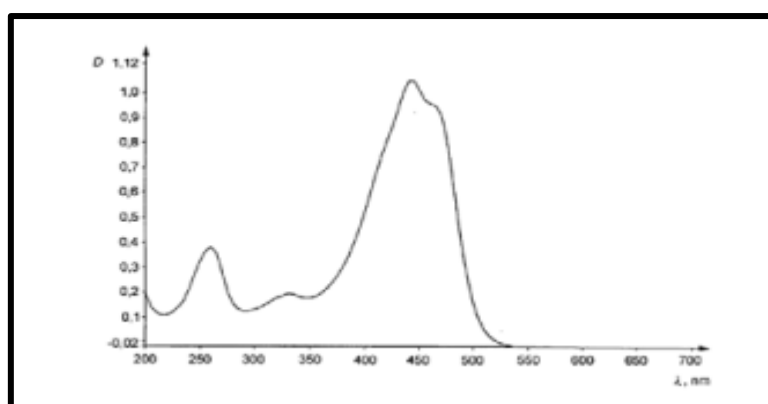
**$m_1$**  : Est la masse de l'échantillon après séchage en grammes.

## II.2. Spectrophotométrie UV-Visible

Cette méthode permet de déterminer les principales caractéristiques du Safran en ce qui concerne la teneur en Picrocrocine, Safranal et Crocine. C'est la méthode décrite dans l'alinéa 14 de la Spécification Technique ISO/TS 3632-2 :2003.

Le domaine de balayage de l'UV-Visible du safran se situe entre 200 et 700 nanomètres.

La figure ci-dessous nous montre le spectre d'absorbance spécifique au safran, avec l'apparition des bandes caractéristique de la picrocrocine, du safranal et de la crocine, situées à 257 nm, 330 nm et 440 nm, respectivement.



**Figure II.2 :** Spectre d'absorption UV- Vis caractéristique d'un extrait aqueux de safran

### ➤ Protocole :

La procédure appliquée est la suivante :

- 500 mg de Safran en poudre sont pesés avec une précision de  $\pm 1$  mg dans une balance analytique ;
- L'échantillon est transféré dans un flacon volumétrique de 1000 ml et on ajoute 900 ml d'eau distillée ;
- Il est agité au moyen d'un agitateur magnétique (à 1000 tr /min) pendant une heure et en absence de lumière ;
- Ensuite de l'eau est ajoutée jusqu'au volume de 1000 ml et l'échantillon est homogénéisé avec agitation ;
- 20 ml de cette solution sont transférés dans un flacon volumétrique de 200 ml, on ajoute de l'eau jusqu'à la marque et la solution est homogénéisée par agitation ;

- La solution est filtrée avec l'emploi de filtre hydrophile du polytetrafluoroéthylène (PTFE) dont le diamètre des pores est de 0,45  $\mu\text{m}$  ;
- Cette solution est placée dans une cuvette en quartz et on registre une variation entre 200 et 700 nm dans l'absorbance de cette dissolution filtrée en utilisant de l'eau comme liquide de référence.

**II.3. Matériels utilisés :**

- Boîtes pétries
- Une étuve
- Une pince
- Dessiccateur
- Spatule
- Balance analytique (OHAUS)
- Mortier
- Filtre seringue
- Seringue
- Pipettes
- Béchers
- Pissette
- Entonnoir
- Micropipette (100 à 1000  $\mu\text{l}$ )
- Fioles de 10ml, 25ml, 50ml, 100ml.
- Cuves en quartz
- Papier aluminium
- Mortier en agathe.
- Moule à pastiller (pastilleuse).
- Presse hydraulique à opération manuelle pour la préparation d'échantillons (Specac).

**II.4. Produits utilisés :**

- Stigmates du Safran (régions de la wilaya de Béjaia : Beni-maouche, Akbou, Beni Melikeche (Daïra de Tazmalt), Timzrit).
- Stigmates du Safran séché ;

- L'eau distillée.
- Bromure de Potassium (KBr).
- Méthanol

**Tableau II.1** : caractéristiques de l'eau utilisée

Eau utilisée	PH	Conductivité ( $\mu\text{s}/\text{cm}$ )
Eau distillée	5.90	1.8

**II.5. Réactifs utilisés :**

L'ensemble des réactifs utilisés lors des expériences sont rassemblés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau II.2** : caractéristiques des réactifs utilisés

Réactifs	Masse molaire (g/mole)	Pureté (%)	Formule chimique
Trichlorure d'aluminium hexa hydraté	241,33	100	$\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
Carbonate de sodium	105,99	99,8	$\text{Na}_2\text{CO}_3$
Reactif de folin-ciocalteu	/	/	$\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ + $\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$
Méthanol	32,04	99	$\text{CH}_4\text{O}$
Acide gallique	188,14	99,5	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5, \text{H}_2\text{O}$
Quercétine	302,24	95	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$

**II.5. Appareillage et logiciels utilisés :**

- Appareil spectrophotométrie UV –visible (Thermo, **EVOLUTION 220**).
- Appareil spectroscopie Infra-rouge (Thermo, **NICOLET iS50 FT-IR**).
- Un PH-mètre.
- Un conductimètre (**INOLAB, pH lever 1**)
- Plaque d'agitation magnétique.

- Excel 2016 pour le traitement des résultats.

## **II.6. Procédure expérimentale :**

### **II.6.1. Pour le taux d'humidité :**

#### ➤ **Protocole :**

- ✓ Dans une boîte pétrie laquelle a été bien séchée précédemment et à l'aide d'une pince, peser 50 mg du safran.
- ✓ La boîte pétrie avec l'échantillon est placée dans l'étuve à 101°C pendant 16 heures ;
- ✓ Après écoulement de la durée fixée, on récupère la boîte pétrie avec l'échantillon, on la met dans un dessiccateur jusqu'à température ambiante, puis on détermine la masse à l'aide d'une balance analytique, et on calcule la perte en masse de l'échantillon.

### **II.6.2. Analyse par spectrophotométrie UV-visible du Safran :**

#### ➤ **Protocole :**

- ✓ 25 mg de stigmates de safran sont pesés dans une balance analytique ;
- ✓ A l'aide d'un mortier, broyé l'échantillon du safran ;
- ✓ Transférer dans une fiole de 50 ml en ajoutant environ 30 ml d'eau distillée;
- ✓ Agiter au moyen d'un agitateur magnétique (à 1000tr/min) pendant une heure et à l'obscurité ;
- ✓ Ajuster le volume jusqu'au trait de jauge puis homogénéiser ;
- ✓ Filtrer la solution à l'aide d'un filtre seringue de porosité 0,45µm ;
- ✓ A l'aide d'une pipette, on prélève 5 ml de la solution filtré qu'on transfère dans une fiole de 50 ml, on ajoute de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge ;
- ✓ L'extrait a été analysé directement avec un spectrophotométrie UV-visible pour obtenir son spectre d'absorbance dans le domaine 200-700 nm.

**NB :** Toutes les étapes analytiques ont été menées à l'abri de la lumière.



**Figure II.3 :** Etapes de préparation de l'extrait pour l'analyse UV-Visible

### II.6.3. Analyse Infra-rouge du Safran :

➤ **Protocole :** (préparations de la pastille)

- ✓ 0,08 g de Bromure de Potassium (KBr) sont pesés dans une balance analytique ;
- ✓ On y ajoute 0,002 g de safran séché ;
- ✓ A l'aide d'un mortier en agathe, broyer l'échantillons avec le KBr pour homogénéiser ;
- ✓ On introduit de la poudre dans le moule à pastiller ;
- ✓ Compresser la poudre pour fabriquer une pastille sous une pression de 6 tonnes à l'aide d'une presse hydraulique ;
- ✓ Analyser la pastille.

**NB :** KBr est transparent aux rayonnements IR.



**Figure II.4 :** Etapes de préparation de l'échantillon pour l'analyse FITR.

#### II.6.4. Préparations des solutions de réactifs pour les dosages de polyphénols totaux et flavonoïdes

Pour réaliser ces dosages, nous avons besoin des solutions suivantes :

- Solution de trichlorure d'aluminium hexa hydraté ( $\text{AlCl}_3, 6\text{H}_2\text{O}$ ) (100 ml à 2% m/v)

Premièrement on calcul la masse de trichlorure d'Aluminium hexa hydraté nécessaire :

$$\begin{array}{rcl}
 M_{(\text{AlCl}_3,6\text{H}_2\text{O})} & \longrightarrow & M_{(\text{AlCl}_3)} \text{ g/ml} \\
 241,33\text{g} & \longrightarrow & 133,33\text{g} \\
 m_{(\text{AlCl}_3,6\text{H}_2\text{O})} & \longrightarrow & 2\text{g}
 \end{array}$$

$$m_{(\text{AlCl}_3,6\text{H}_2\text{O})} = (2 * 241,33) / (133,33) \quad , \text{ on trouve : } \quad m_{(\text{AlCl}_3,6\text{H}_2\text{O})} = 3,62\text{g}$$

- A l'aide d'une balance on pèse 3,62g de trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ), versé dans une fiole jaugée de 100 ml, sous la hotte on ajoute une quantité de méthanol et on agite jusqu'à dissolution totale, puis on remplit jusqu'au trait de jauge.



- Solution standard de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) (100 ml à 7,5% m/v) : On pèse 7,5g de carbonate de sodium à l'aide d'une balance, qu'on introduit dans une fiole de 100 ml, on lui ajoute une quantité d'eau pure et on agite jusqu'à dissolution totale, puis on remplit jusqu'au trait de jauge.
- Solution Folin-ciocalteu (dilué à 1/10) : A l'aide d'une pipette on prélève 1 ml du réactif Folin-ciocalteu qu'on ajoute à 9ml d'eau pure dans un Erlenmeyer.

### II.6.5. Dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes

- **Préparations de l'extrait :**

L'extrait a été préparé avec du safran ayant servi à la détermination du taux d'humidité et matière volatil. Nous avons utilisé la même méthode d'extraction que pour l'analyse par spectroscopie UV-Visible, nous avons seulement réduit la masse de l'échantillon.

- ✓ Extraction par agitation magnétique pendant 1 heure de 0,02g de safran dans 50 ml d'eau distillée.
- ✓ Dans une fiole de 10ml, on prélève 5 ml de l'extrait filtré et on ajuste avec l'eau distillée jusqu'au trait de jauge (**pour les polyphénols totaux**) ;
- ✓ Et pour les flavonoïdes, puisque nous avons obtenu des absorbances très élevées par rapport au domaine couvert par la courbe d'étalonnage, nous avons dû diluer la solution utilisée pour le dosage des polyphénols totaux à (1/4).

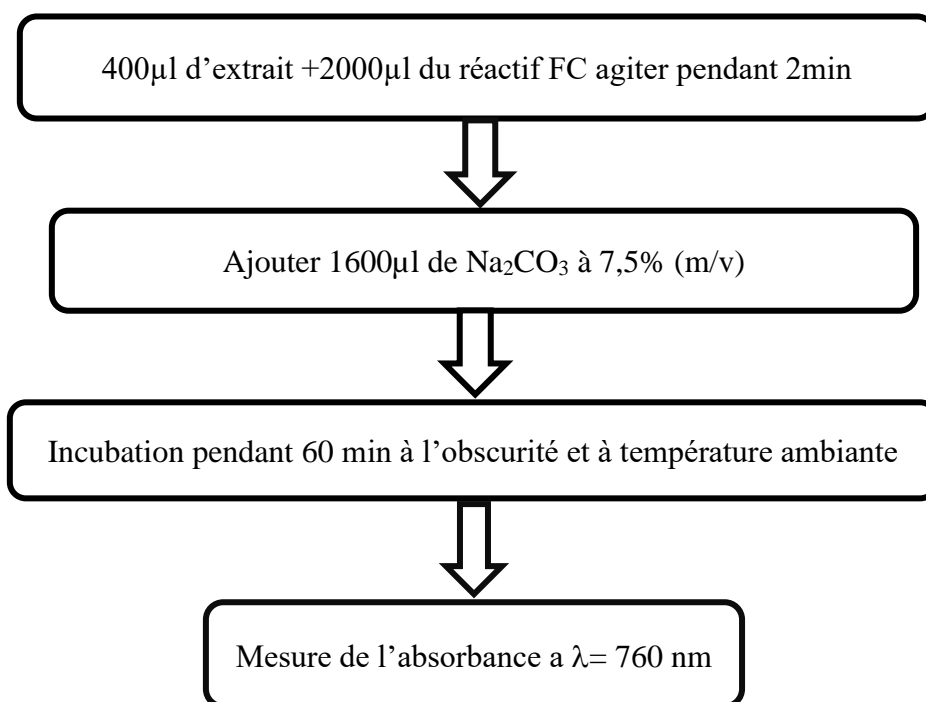
#### II.6.5.1. Dosages des polyphénols :

- **Principe**

Le dosage des phénols totaux des extraits est effectué selon la méthode de FolinCiocalteu. Ce réactif jaune est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique, Il est réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange bleu d'oxydes de tungstène et de molybdène possédant une absorption maximale aux environs de 760nm.

- **Protocole**

La concentration dosée est exprimée en mg équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche, en se référant à une courbe d'étalonnage obtenue avec l'acide gallique. Le protocole du dosage est effectué comme suit :



**Figure II.5 :** Etapes de dosage des polyphénols totaux

La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé dans les mêmes conditions par l'eau distillée.

- **Courbe d'étalonnage de l'acide gallique**

L'absorbance est mesurée à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Les concentrations des extraits en polyphénols totaux est déduite à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage établie avec de l'acide gallique, les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalent d'acide gallique par cent gramme de la matière sèche algale (mg EAG/g MS).

- **Préparation de la solution mère d'acide gallique mono hydraté ( $C_7H_6O_5$ ,  $H_2O$ )**

A l'aide d'une balance on pèse 0,0236 g de l'acide gallique, versée dans une fiole de 100 ml dont la concentration est 0,2 mg/ml on y rajoute une quantité d'eau distillé et on agite jusqu'à sa dissolution totale, puis on remplit jusqu'au trait de jauge.

- **Préparations des étalons**

A partir de la solution mère d'acide gallique nous avons préparées des étalons de différentes concentrations dans des fioles 25 ml. D'après la loi de dilution les volumes de solution mère ( $V_1$ ) à ajouter pour la préparation de ces étalons sont calculés de la manière suivante

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$0,2 \times V_1 = C_2 \times 25$$

$$V_1 = \frac{C_2 \times 25}{0,2}$$

Les concentrations et les volumes pour l'établissement de la courbe d'étalonnage sont résumés dans le tableau suivant :

**Tableau II.3 :** Concentration des étalons de l'acide gallique.

C(mg/ml)	0,01	0,03	0,05	0,07	0,09	0,1
V <sub>1</sub> (ml)	1,25	3,75	6,25	8,75	11,25	12,5

- **Dosage des étalons**

Nous avons procédé au dosage de ces étalons en suivant le même protocole de dosage des polyphénols totaux. Nous avons établi la courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols en mesurant les absorbances des différents étalons dosés à la longueur d'onde 760 nm.

- **Calcul de la teneur en polyphénols**

La teneur en polyphénols est exprimée en mg équivalent d'acide gallique par g de matière sèche ; le safran dans notre cas.

Pour ce faire, nous allons devoir déterminer la masse de safran contenue dans le volume de solution dosé, ainsi que la masse des polyphénols totaux qu'il contient.

- 1. Calcul de la masse de safran dans le volume de solution dosé :**

La concentration de l'extrait préparé, C<sub>0</sub>, est :

$$C_0 = \frac{m}{v}$$

Avec : m = 0,02 g      et

V = 50 ml ;

Alors : C<sub>0</sub> = 0,0004g/ml ;

C<sub>1</sub> étant la concentration de la première dilution préparée à partir de l'extrait, et utilisée pour le dosage des polyphénols totaux :

$$C_1 = \frac{C_0}{2}$$

Alors : C<sub>1</sub> = 0,0002g/ml = 0,2×10<sup>-3</sup>g/ml

La masse de safran dans le volume d'extrait dosé (400µl), sera alors :

$$m_{\text{safran dans l'extrait}} = 0,4 \times 0,2 \times 10^{-3}$$

Donc

$$m_{\text{safran dans l'extrait}} = 0,08 \times 10^{-3} \text{g}$$

**2. La masse des polyphénols totaux contenue dans le volume d'extrait analysé sera calculée en se servant de la courbe d'étalonnage d'acide gallique, et en utilisant la formule suivante :**

$$m_{PT} = C \times V$$

Avec :  $V = 4 \text{ml}$

C : la concentration indiquée par la courbe d'étalonnage à partir de l'absorbances de l'extrait.

Et la teneur en polyphénols totaux sera donc :

$$PT = m_{PT} / m_{\text{safran dans l'extrait}}$$

### II.6.5.2. Dosage des flavonoïdes :

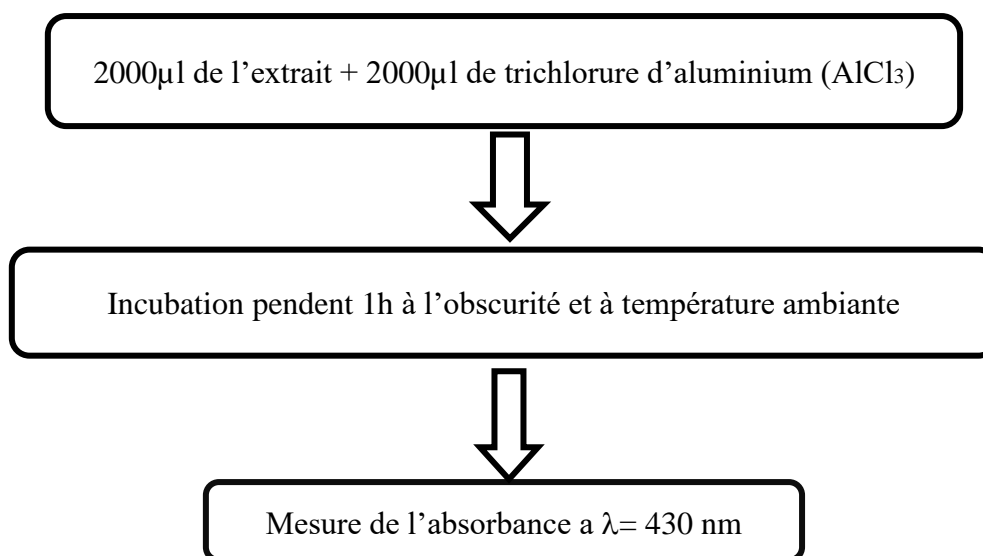
#### ➤ Principe

La teneur en flavonoïdes des extraits est déterminée en utilisant la méthode du trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ). Cette méthode est basée sur les propriétés chélatrices de l'ion aluminium. Le trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) forme un complexe très stable avec les groupements hydroxyles (OH) des flavonoïdes. Ce complexe de couleur jaune absorbe dans la lumière visible à une longueur d'onde de 430 nm.

#### ➤ Protocole

La concentration des flavonoïdes dosés est exprimée en mg équivalent de quercétine par g de matière sèche en se référant à une courbe d'étalonnage obtenue avec la quercétine.

Le protocole du dosage est effectué comme suit :



**Figure II.6 :** Etapes du dosage des flavonoïdes totaux.

La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé dans les mêmes conditions par l'eau distillée.

- **Courbe d'étalonnage de la quercétine**

Comme pour le dosage des polyphénols, une courbe d'étalonnage est réalisée dans les mêmes conditions opératoires, à la longueur d'onde de 430 nm, en utilisant la quercétine comme contrôle positif à différentes concentrations initiales.

- **Préparation de la solution mère de la quercétine**

A l'aide d'une balance on pèse 0,0125 g de la quercétine, est introduit dans une fiole de 100 ml, sous la hotte, on ajoute du méthanol et on agite jusqu'à dissolution totale, puis on remplit jusqu'au trait de jauge.

- **Préparation des étalons**

A partir de la solution mère de la quercétine nous avons préparées des étalons de différentes concentrations dans des fioles 25 ml. D'après la loi de dilution Les volumes de solution mère ( $V_0$ ) à ajouter pour la préparation de ces étalons sont calculés de la manière suivante :

$$C_0 \times V_0 = C_1 \times V_1$$

$$47,5 \times V_0 = 25 \times C_1$$

$$V_0 = \frac{(25 \times C_1)}{47,5}$$

$$C = 1,9 \times V_0$$

Les concentrations et les volumes pour l'établissement de la courbe d'étalonnage sont résumés dans le tableau suivant :

**Tableau II.4 :** Concentration des étalons de la quercétine.

C (mg/l)	1	2	3	4	5	6	7
V (ml)	0,1	0,125	0,15	0,225	0,25	0,3	0,35

- **Dosage des étalons**

Nous avons procédé au dosage de ces étalons en suivant le même protocole de dosage des flavonoïdes totaux et nous avons établi la courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes en mesurant les absorbances des différents étalons dosés à la longueur d'onde 430nm.

- **Calcul de la teneur en flavonoïdes :**

La teneur en flavonoïdes est exprimée en mg équivalent de quercétine par g de matière sèche ; le safran.

Comme pour les polyphénols totaux, nous allons devoir déterminer la masse de safran contenue dans le volume de solution dosé, ainsi que la masse de flavonoïdes qu'il contient.

- 1. Calcul de la masse de safran dans le volume de solution dosé :**

Nous connaissons déjà la concentration de la première dilution réalisée ( $C_1$ ), pour le dosage des flavonoïdes nous avons réalisé une deuxième dilution, de concentration  $C_2$ , avec :

$$C_2 = \frac{C_1}{4}$$

Alors :  $C_2 = 0,05 \times 10^{-3} \text{g/ml}$

La masse de safran dans le volume d'extrait dosé (2ml), sera alors :

$$m_{\text{safran dans l'extrait}} = C_2 \times 2$$

Donc

$$m_{\text{safran dans l'extrait}} = 0,1 \times 10^{-3} \text{g}$$

2. La masse de flavonoïdes contenue dans le volume d'extrait analysé sera calculée en se servant de la courbe d'étalonnage de quercétine, et en utilisant la formule suivante :

$$m_F = C \times V \quad \text{Avec : } V = 4 \text{ml}$$

C : la concentration indiquée par la courbe d'étalonnage à partir de l'absorbances de l'extrait.

Et la teneur en flavonoïdes sera donc :

$$F = m_F / m_{\text{safran dans l'extrait}}$$

A decorative border in a dark blue color, shaped like a scroll. It has rounded corners and a vertical strip on the left side that tapers at the bottom, resembling a scroll's edge. The text is centered within this border.

# *Chapitre III*

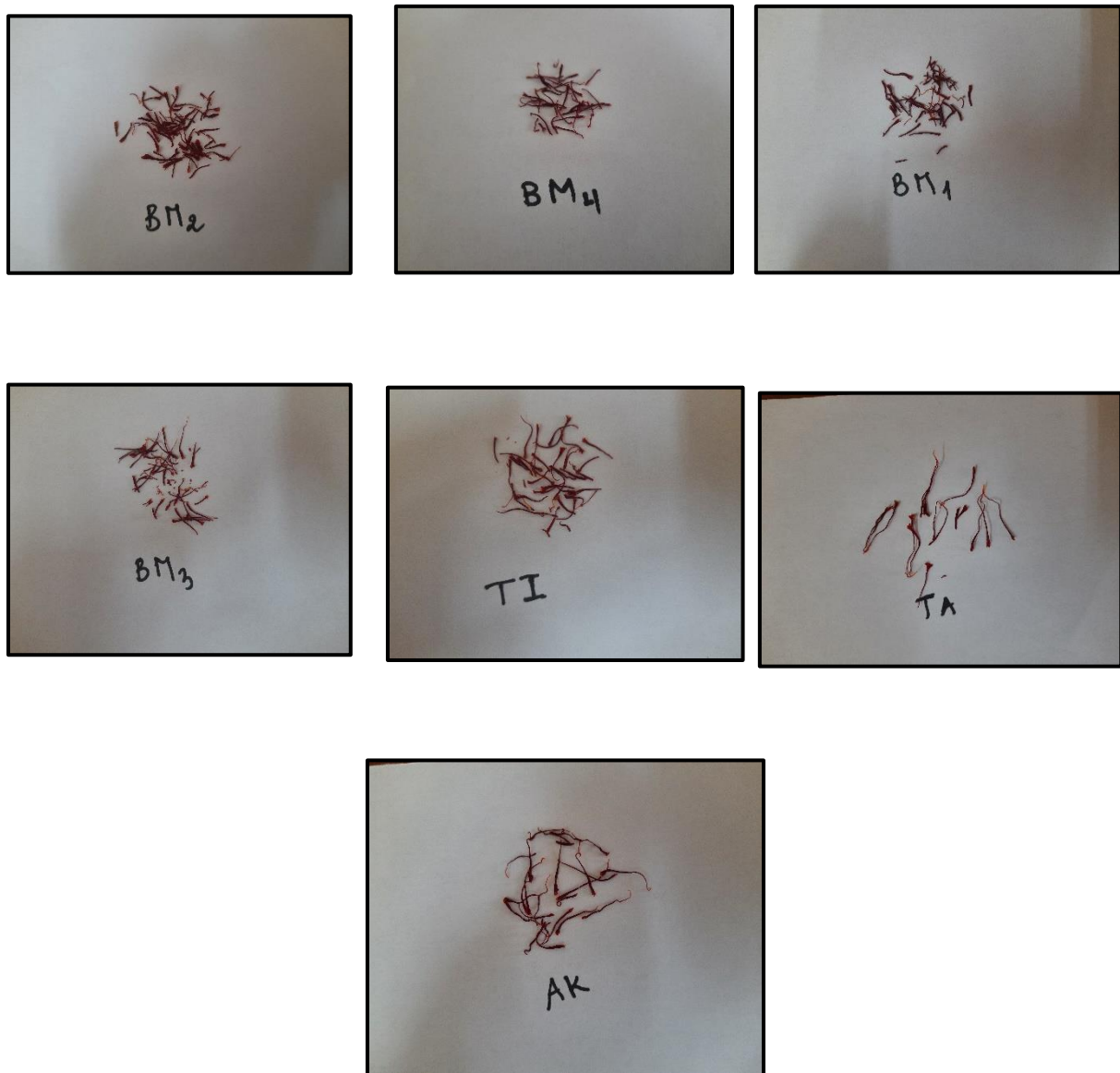
## *Résultats et discussions*

## Résultats et discussions

Rappelons que ce travail est consacré à la caractérisation de safrans cultivés dans différentes régions de la wilaya de Béjaia, en utilisant les techniques d'analyse de base.

### III.1. Analyse sensorielle du safran (avant le séchage) :

Les photographies données ci-dessous, représentent les échantillons utilisés dans cette étude.



**Figure III.1 :** Photographies des échantillons utilisés pour l'analyse sensorielle.



Les résultats des analyses sensorielles effectuées sur les différents safrans étudiés sont montrés sur le tableau III.1.

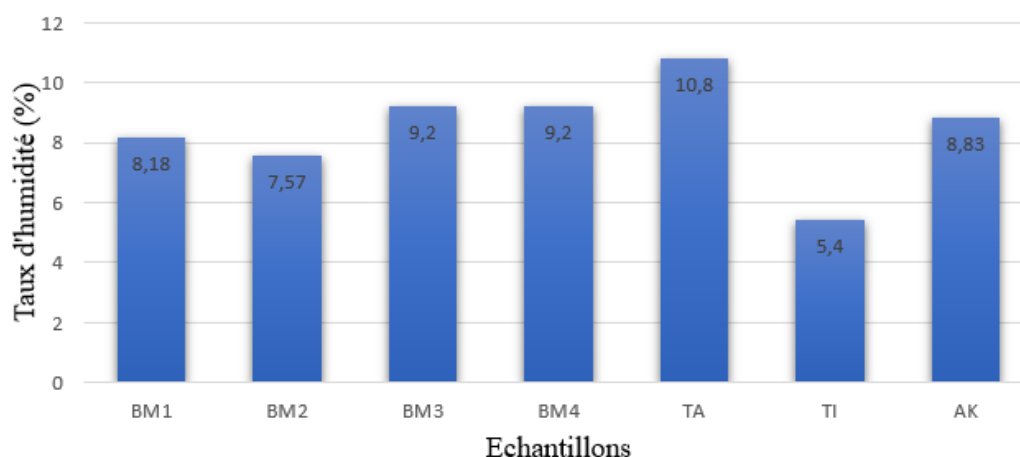
**Tableau III.1: Caractéristiques sensorielles des Safrans étudiés**

Echantillons	Taille des stigmates(cm)	Couleur	Matières étrangères	Odeur	Texture
<b>BM1</b>	[0,3 ;1]	Jaune rouge	Partie de la fleur	Douce	Fragile
<b>BM2</b>	[0,4 ;1]	Rouge	Non	Floral	Fragile
<b>BM3</b>	[0,3 ;1,6]	Jaune rouge	Pollen	Floral	Fragile
<b>BM4</b>	[0,4 ;1,5]	Rouge	Non	Floral	Fragile
<b>AK</b>	[1,4 ;2]	Jaune rouge	Non	Douce	Souple
<b>TA</b>	[1 ;2,4]	Jaune rouge	Non	Douce	Souple
<b>TI</b>	[0,5 ;1,5]	Jaune rouge	Non	Douce	Souple

Nous avons constaté que certains échantillons étaient de tailles réduites par rapport aux autres, cela peut être dû soit à la découpe des stigmates faite pendant l'émondage, par exemple, les stigmates du safran TA découpés selon la coupe Mancha, sont les plus longs.

L'autre point, c'est la texture de l'échantillon, en effet, les stigmates souples gardent leur taille initiale, c-à-d. au moment de l'émondage, alors que les autres sont cassant, et se réduisent en fragments plus courts. Ces stigmates sont donc plus ou moins fragiles et d'odeur variable allant de douce a plus ou moins forte.

### III.2. Evaluation des résultats du taux d'humidité et matière volatile :



**Figure III.2 :** Résultats de l'analyse du taux d'humidité et matière volatile des échantillons de safran.

**Interprétations :**

L'histogramme présente les résultats de l'évaluation du taux d'humidité et matière volatile des sept échantillons de safran étudiés.

De l'analyse de ces résultats, ressorts que le taux d'humidité et matière volatile des stigmates du safran varie de 5,4% (TI) à 10,8% (TA).

A partir de ces données, l'échantillon de TA renferme la plus grande quantité en eau et matière volatile suivi par les échantillons BM4, BM3, AK, BM, TI respectivement.

D'après la Norme ISO TS 3632-2 un safran de bonne qualité ne doit pas dépasser 12% d'humidité et matière volatile, cela indique que ces safrans répondent bien à la norme relative à cette caractéristique.

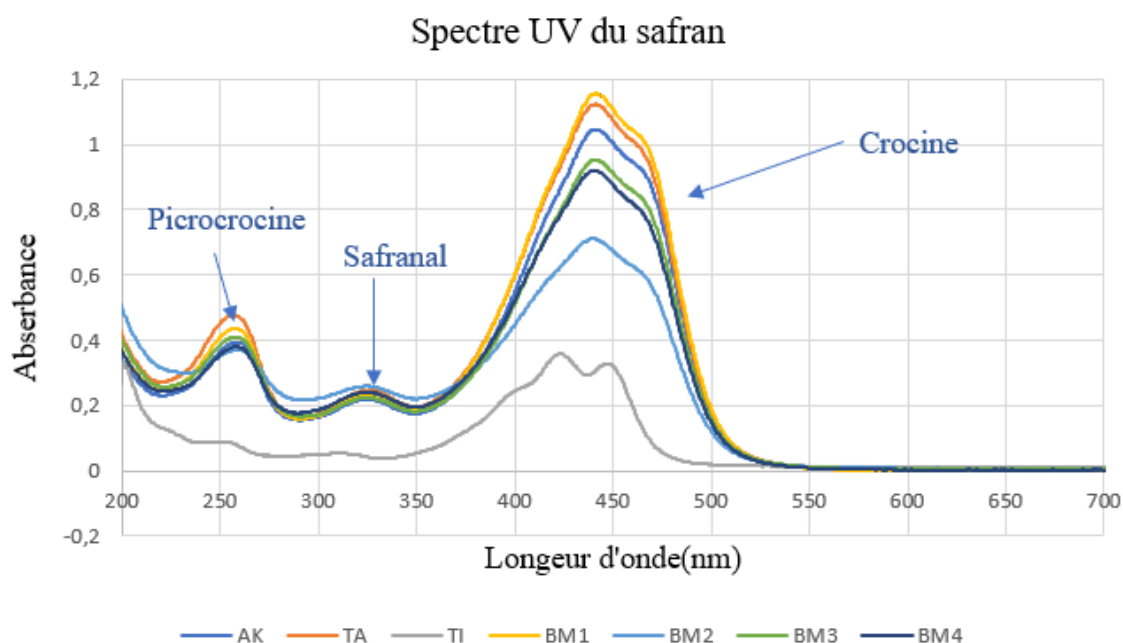
**Discussion :**

Une teneur en humidité et matières volatile très faible, comme c'est le cas de l'échantillon de TI, peut-être dû à différentes causes :

- L'ouverture de la fleur avant la récolte.
- Les conditions de séchage.

**III.3. Analyse par spectrophotométrie ultra-violet-visible**

Les spectres UV-visible enregistrés pour les extraits aqueux des différents échantillons de safran sont représentés sur la figure III.3.



**Figure III.3 :** Spectre UV-Visible des échantillons du safran.

**Interprétations :**

La figure nous montre la différence dans les spectres d'absorption UV-visible des sept échantillons du safran.

Dans les six échantillons suivante (**BM1, BM2, BM3, BM4, AK, TA**) on remarque trois bandes d'absorption importantes à 257 nm (microcrocine), 325 nm (safranal), 430 nm (crocine). Et ces bandes d'absorption sont bien définies.

Par contre dans le cas d'échantillon du safran **TI** où les bandes d'absorption de 257 nm et 325 nm ne sont pas visibles et présentent des valeurs d'absorbance très faibles, de l'ordre de 0,07 et 0,04 respectivement.

De manière général, on constate que l'absorbance de l'extrait du safran **TI** est la plus faible que celle des autres échantillons.

**Discussion :**

On sait déjà d'après les travaux réalisés sur le safran que sa qualité dépend de plusieurs facteurs,[21] qui peuvent être à l'origine des écarts d'absorbances constatées dans le cas des échantillons étudiés :

-**La cueillette des fleurs** : il faut récolter quotidiennement les fleurs et de préférence le matin à la rosée alors qu'elles sont encore fermées.

-**L'émondage** : respecter les conditions d'émondage qui est très hygiéniques (matériels propre, environnement propre)

- **Séchage**, qu'est l'étape la plus importante dans la détermination de la qualité du safran, et sa conservation ultérieure. Si elle a été réalisée à de température élevée et pour une durée importante, on risque une dégradation des composés caractéristiques du safran, qui se traduirait lors de l'analyse UV-Visible par des absorbances faibles.

- **Conservation et conditionnement**, si le produit n'a pas été conservé hermétiquement, il risque de perdre de ces qualités, surtout son arôme, ce qui va se traduire par la diminution de l'absorbance de la bande de safranal située à 325 nm, voir sa disparition.

III.4. Analyse par spectroscopie Infra-rouge :

Les spectres de transmission IR des échantillons de safran AK et TI sont représentés sur la figure III.4 et les bandes caractéristiques sont consignées dans le tableau III.3.

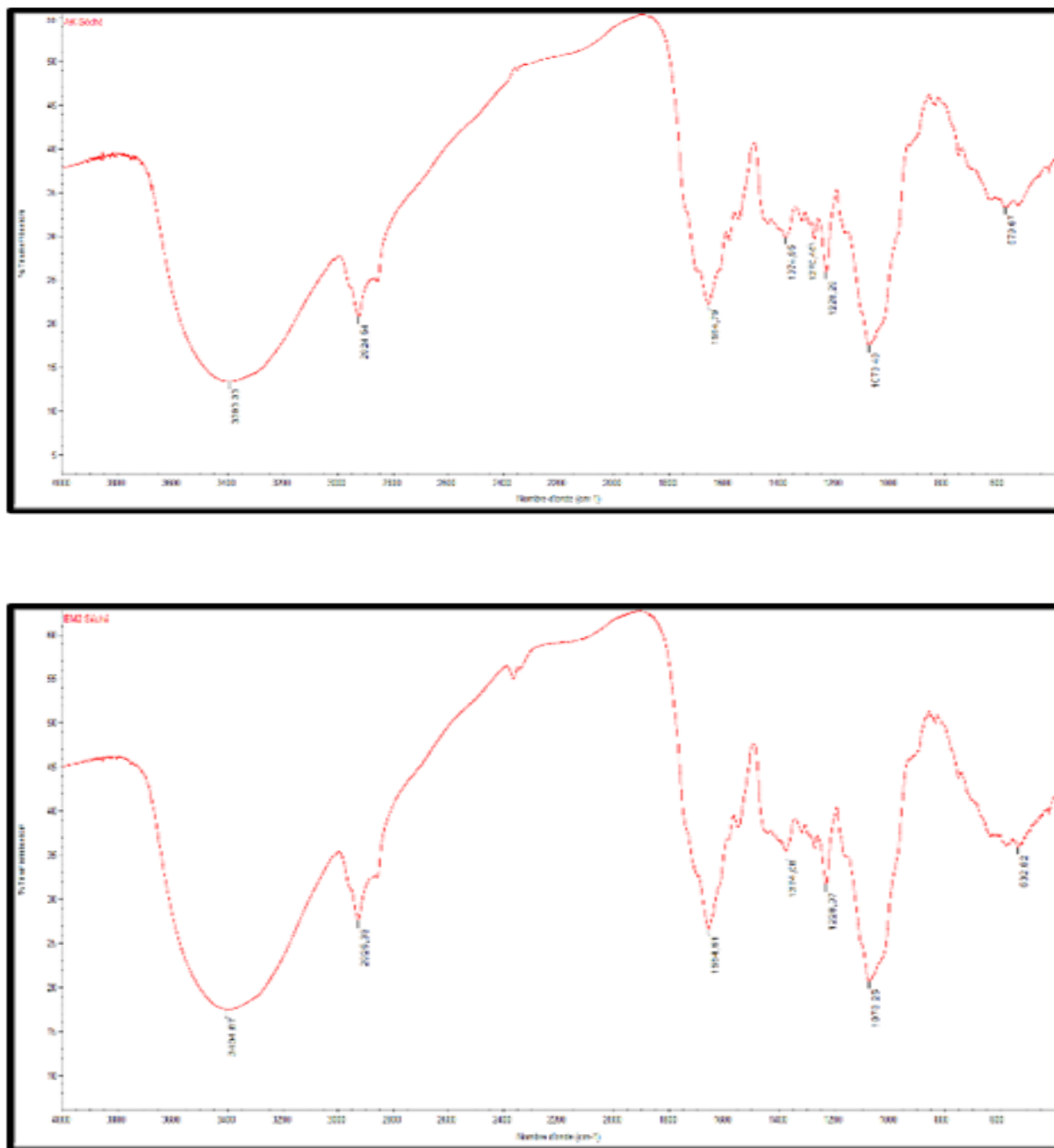


Figure III.4 : Spectres de transmission FTIR des échantillons AK et TI.

Tableau III.2: Bandes caractéristique présente dans les spectres IR des échantillons analysé

Groupement fonctionnel	Longueur d'onde (cm <sup>-1</sup> )	Intervalle (cm <sup>-1</sup> )	Nature de vibrations	Intensité
C-X	579,67	[500 ;600]	Elongation	Moyenne- forte
C-C	1073,49	[1000 ;1200]	Elongation	Forte
C-O	1228,29	[1050 ;1450]	Elongation	Forte
C-H	1270,46	[1250 ;1450]	Déformation	Moyenne
C-H <sub>3</sub>	1374,95	[1370 ;1380]	Déformation	Forte
C=O <sub>Aldehyde</sub>	1656,79	[1625 ;1685]	Elongation	Moyenne
C-H <sub>3</sub> et C-H <sub>2</sub>	2924,54	≈ 2925	Elongation	Forte
O-H <sub>Alcool/Acide carboxylique</sub>	3393,33	[3200 ;3400]	Elongation	Forte

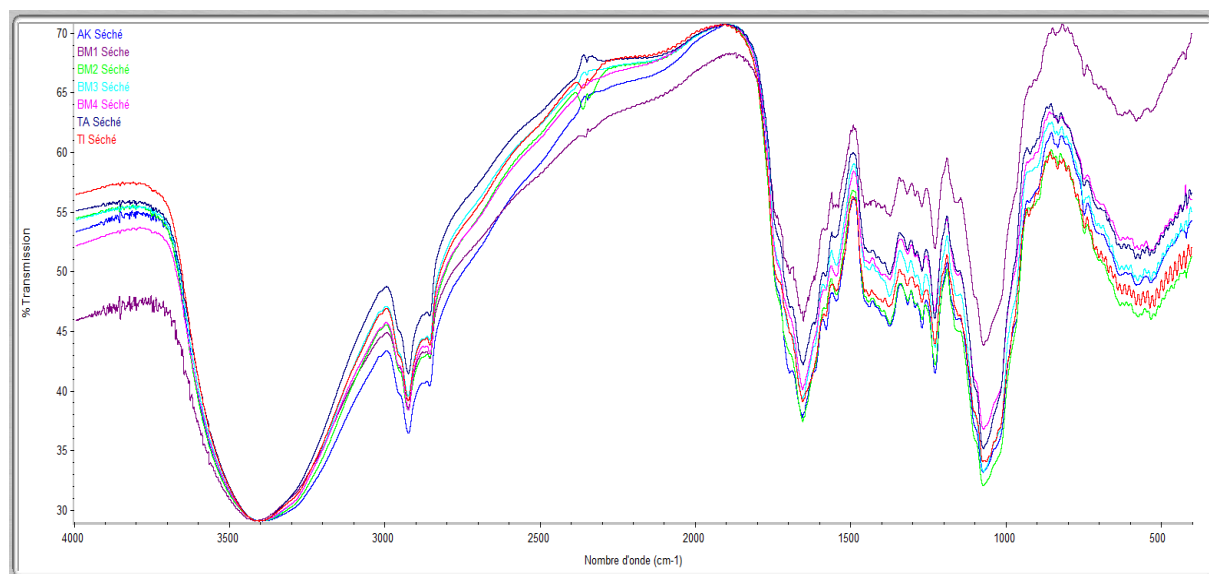


Figure III.5 : Spectres IR des échantillons du safran.

Une analyse comparative des spectres relevés pour les sept échantillons considérés (figure III.5) nous montre qu'ils ont tous les mêmes bandes de transmission, mais à des intensités différentes.

### III.5. Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux :

#### III.5.1. Dosage des polyphénols totaux :

- La courbe d'étalonnage :

La courbe d'étalonnage a été obtenue par l'analyse UV-Visible à 760 nm, des étalons d'acide gallique préparés suivant le protocole décrit dans le chapitre II.

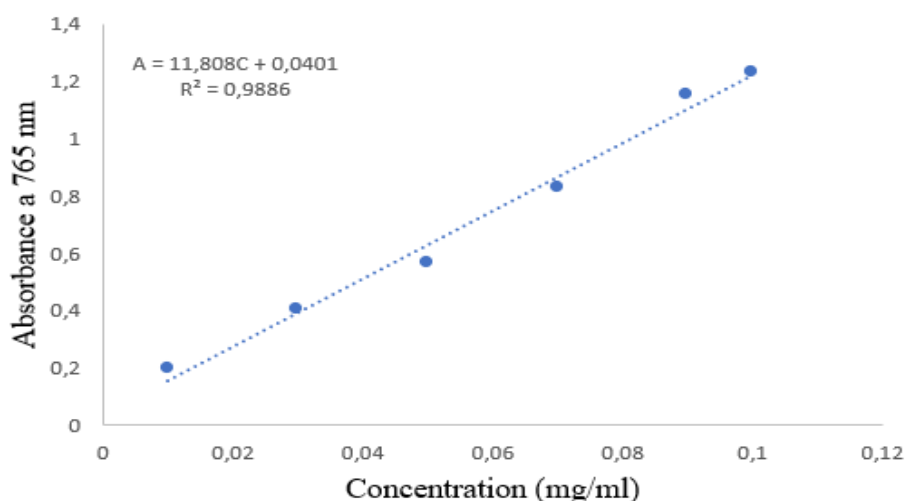


Figure III.6 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique.

Cette courbe d'étalonnage nous permet de déterminer les teneurs en polyphénols totaux des différents échantillons. Les résultats sont montrés dans la figure III.7.

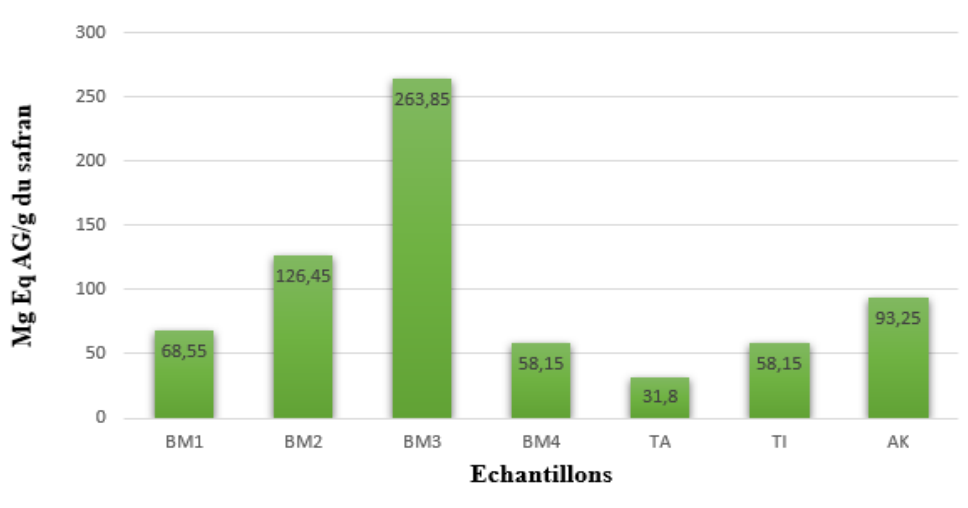


Figure III.7 : Teneur des polyphénols totaux (mg Eq AG/g du safran)

**Interpretations :**

Les teneurs en polyphénols totaux sont données en mg Eq d'acide gallique par g de safran (mg Eq AG/g safran).

Les résultats rapportés dans la figure III.7 montrent que les sept échantillons contiennent des polyphénols, avec différentes teneurs. L'échantillon **BM3** est le plus riche en polyphénols avec une teneur de 263,85mg Eq AG/g safran, suivi par l'échantillon de **BM2** (126,45 mg Eq AG/g safran) ; **AK** (93,25 mg Eq AG/g safran) ; **BM1** (68,55 mg Eq AG/g safran) ; **BM4** (65,3 mg Eq AG/g safran) ; **TI** (58,15 mg Eq AG/g safran) et enfin **TA** avec une teneur de 31,8 mg Eq AG/g safran.

Des travaux antécédents ont été consacrés à ces dosages, dont on peut citer :

1. Fardaghi A. A. et al.2021[36], se sont intéressés à l'étude de la composition chimique de différentes parties de la fleur de safran cultivé dans la région de Roshtkhar en Iran. Parmi lesquelles les stigmates séchés à température ambiante du safran. Pour ce qui est de l'extraction, il l'a réalisée par macération de l'échantillon réduit en poudre un mélange éthanol/eau 70/30(v/v), sous agitation et ce pendant 48 heure.

Ils ont trouvé des teneurs de 27,2 mg Eq AG/g safran.

2. D'après les travaux de Baba, S. A. et al. 2015 [37], qui ont étudié différentes parties de la plante du *Crocus Sativus L* cultivée dans différentes régions en Inde (Srinagar, Jammu et Kashmir).

Les extraits ont été aussi réalisés à partir de stigmates séchés à l'air libre, mais par macération dans deux solvants séparément : l'eau et l'éthanol.

Ils ont trouvé des teneurs de 8,28 mg Eq AG/g safran et 6,54 mg Eq AG/g safran dans les extraits éthanoïque et aqueux respectivement. On constate déjà une légère augmentation

Dans l'extrait éthanoïque par rapport à l'extrait aqueux. Comme première information, on pourrait supposer que l'extraction est meilleure en éthanol qu'en milieu aqueux.

Mais en comparant les résultats des deux travaux réalisés, on constate une variation très importante : de 27,2 à 8,28 mg Eq AG/g safran. Cette variation peut être due à la forme du matériel végétal sous laquelle l'extraction a été réalisée, puisque Fardaghi A. A. et al.2021, avaient réalisé l'extraction sur les stigmates en poudre, ce qui augmenterait forcément le taux de l'extraction. Comme ça peut refléter la différence de nature des échantillons.

Concernant nos échantillons, les teneurs en polyphénols totaux variaient entre 263,85 et 31,8 mg Eq AG/g safran. Cette variation dépend de l'échantillon lui-même ; les conditions climatiques, de culture (cueillette, émondage, séchage) et de stockage.

Nous constatons des teneurs très importantes par rapport à celles rapportées dans les travaux cités ci-dessus (27,2 mg Eq AG/g safran, d'après Fardaghi A. A. et al.2021).

Malgré que nous ayons réalisé des extractions aqueuses seulement, nous les avons réalisés avec agitation magnétique, ce qui favoriserait l'extraction. En plus les extraits ont été dosés sans tarder, c.à.d. au bout de trois heures maximum (1 heure d'extraction, préparation de l'échantillon, et 1 heure d'incubation). En revanche, Fardaghi A. A. et al.2021 avaient mis leurs solutions à macérer pendant 48h, ce qui pourrait causer des pertes par dégradation des polyphénols présents dans l'extrait.

#### **Discussion :**

En plus des conditions opératoires, qui influencent le taux d'extraction, plusieurs facteurs peuvent influencer la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes d'une plante de façon générale, comme le montre les travaux de K. Bouterfas et al. 2013[38] :

- Plusieurs facteurs peuvent influencer la teneur en composés phénoliques car des études montrent que les facteurs extrinsèques tels que les facteurs géographiques, climatiques (température élevée, exposition solaire, sécheresse, salinité, etc.) qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les flavonoïdes.
- Les facteurs génétiques, le degré de maturation de la plante (le bulbe), et la période de récolte ont une forte influence sur le contenu en polyphénols.



## III.5.2. Dosage des flavonoïdes totaux :

## • La courbe d'étalonnage :

La courbe d'étalonnage a été obtenue par l'analyse UV-Visible à 430 nm, des étalons de quercétine préparés suivant le protocole décrit dans le chapitre II.

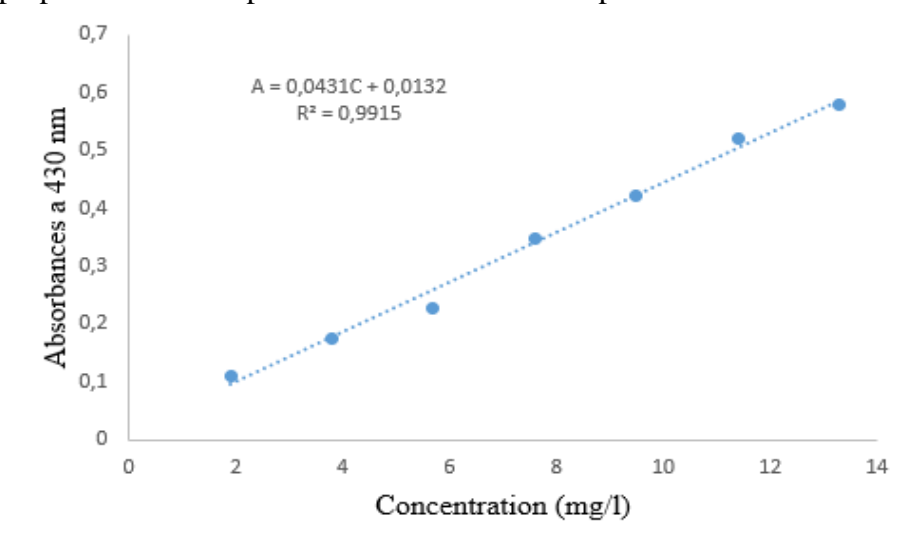


Figure III.8 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.

Cette courbe d'étalonnage nous permet de déterminer les teneurs en flavonoïdes des différents échantillons

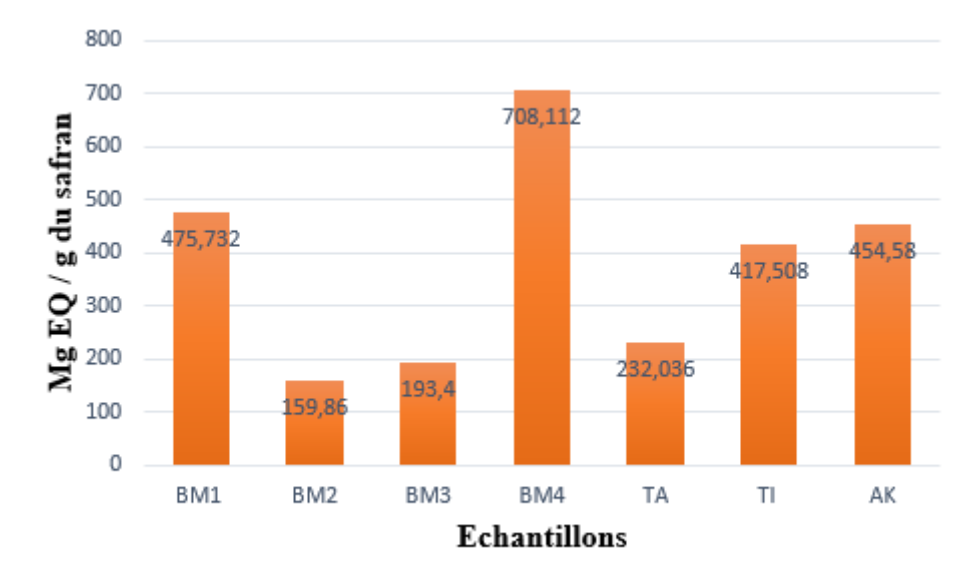


Figure III.9 : Teneur en flavonoïdes totaux mg EQ/ g du safran

**Interprétations :**

Les teneurs en flavonoïdes sont exprimés en mg Eq de quercétine par g de safran (mg EQ/g safran).

Ces résultats montrent d'abord que tous les échantillons contiennent des teneurs différentes en flavonoïdes. L'échantillon **BM4** est le plus riche en flavonoïde avec une teneur de 708,112 mg EQ/g de safran, suivi par l'échantillon de **BM1** (475,732 mg EQ/g de safran) ; **AK** (454,58 mg EQ/g de safran) ; **TI** (417,508 mg EQ/g de safran) ; **TA** (232,036 mg EQ/g de safran) ; **BM3** (193,4 mg EQ/g de safran) et enfin **BM2** (159,86 mg EQ/g de safran).

D'après les résultats de A. A. Fardaghi et al., toujours [32], pour l'extraction, il avait procédé exactement comme pour le dosage des polyphénols totaux.

Ils ont trouvé des teneurs de 1832,5 mg Eq AG/g safran.

Nos échantillons par contre, comme indiqué ci-dessus, présentent des teneurs allant de 708,112 à 159,86 mg EQ/g de safran. Cette variation peut être causée par différents paramètres tout comme pour les polyphénols totaux.

Donc nous constatons des teneurs variables, plus au moins importantes, mais pas aussi élevées que celle déterminée par A. A. Fardaghi et al.



*Conclusion générale*

### Conclusion générale et perspectives

Ce travail a été consacré à la caractérisation de safran cultivé dans différentes régions de la wilaya de Bejaia (Akbou, Beni-Maouche, Timezrit, et Tazmalt).

Nous sommes arrivés aux résultats suivants :

Les résultats d'analyse du taux d'humidité et de matière volatile des échantillons analysés, ne dépasse pas 10,8%. D'après la Norme ISO TS 3632-2 un safran de bonne qualité ne doit pas dépasser 12% d'humidité, donc les résultats de nos échantillons sont dans la norme.

L'Analyse par spectrophotométrie UV-Visible nous montre des spectres de même allure que le spectre caractéristique du safran de référence, avec ces trois bandes d'absorbance spécifiques, à l'exception de l'extrait du safran **TI** qui présente des absorbances très faibles, avec disparition de la bande caractéristique du safranal et une baisse très importante de l'absorbance de picrocrocine.

L'Analyse par spectroscopie Infrarouge des échantillons étudiés, montre qu'ils ont tous les mêmes bandes de transmission mais à des intensités plus au moins proches.

Les polyphénols et les flavonoïdes font partie des composants actifs du safran, d'après les résultats des dosages, tous les échantillons contiennent des polyphénols et des flavonoïdes, avec des teneurs différentes, le safran de **BM3** est le plus riche en polyphénols avec une teneur de 263,85 mg Eq AG/g de safran, ces teneurs sont très importantes par rapport à celles rapportées en littérature.

Pour ce qui est des flavonoïdes, on constate des teneurs très importantes, et celle de l'échantillon de **BM4** en est la plus élevée, avec une valeur de 708,112 mg EQ/g de safran. Contrairement aux polyphénols totaux, ces teneurs sont inférieures à celle rapportée en littérature.

En termes de perspective, en tenant compte de l'intérêt économique de la filière du safran, et de sa culture qui est en voie de développement dans notre pays, et la wilaya de Bejaïa précisément, il serait très intéressant de poursuivre et d'approfondir l'étude par :

En termes de perspective, en tenant compte de l'intérêt économique de la filière du safran, et de sa culture qui est en voie de développement dans notre pays, et la wilaya de Bejaïa précisément, il serait très intéressant de poursuivre et d'approfondir l'étude par :

La réalisation d'autres analyses et caractérisations, qu'elles soient basées sur la norme ISO 3632 (détermination de la teneur en safranal, cendres totales, cendres insolubles dans l'acide, pouvoir colorant... etc.), ou non comme par exemple le contenu en oligo-éléments.

Pour ce qui est des dosages de polyphénols totaux et de flavonoïdes, tester d'autres méthodes d'extraction pour pouvoir comparer aux résultats de littérature.

Et enfin, mieux s'informer auprès des cultivateurs sur les conditions de culture (position géographique, condition climatique... etc.), ainsi que le procédé d'obtention des stigmates (cueillette, émondage, séchage et conditionnement), pour une meilleure interprétation des résultats d'analyse obtenus.



## **Références bibliographiques**

## Références bibliographiques

- [1] : TALBI Lilia, MEDJBER Warda, « Qualité physico chimique du safran Algérien », Mémoire Master Université de Bejaia ;2016-2017.
- [2]: Cannon J. & Cannon M. (2003). In Dye plants and dyeing, Timer Press Inc, USA.
- [3]: Tsatsaroni E., Liakopoulou-Kyriakides M. & Eleftheriadis I. (1998). Comparative study of dyeing properties of two yellow natural pigments – effect of enzymes and proteins.
- [4] : HALIL Khadouma Nassima, GUEBLI Feyrouz, « Etude technico-culturelle de safran *Crocus sativus L* dans la région de Hamadia, Tiaret », Mémoire Master Université de Tissemsilt, 2021.
- [5] : Nathalie C ; « Effet protecteur du safran contre la cardiotoxicité de la doxorubicine en condition ischémique », thèse doctorat, université de Reims Champagne-Ardenne et Université Libanaise, (page 83-87), 2014
- [6] : C.R.S.T.R. A, « La culture de safran en région Arides : *crocus sativus l.* », fiche technique, (page 1-4), 2012.
- [7] : Imane CHAMKHI ; « Les microorganismes rhizosphériques associés au safran (*Crocus sativusL.*) : diversité et valorisation pour l'amélioration de cette culture dans la région de Taliouine (Maroc) », thèse doctorat, université Mohammed V -RABAT-, (page 11-13), 2018.
- [8] : Zobeidi, Z., & Benkhalifa, A. (2014). La culture du Safranier (*Crocus sativus L.*) en Algérie. Conférence : Première exposition ethnobotanique et deuxième Atelier d'initiation à la Phytothérapie. doi: 10.13140/RG.2.2.20923.67368/1
- [9] : Chevalier, A. (1926). La culture du Safran (Suite et fin). Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée, 6(60), 490-501.
- [10] : Palomares C, « Le safran, précieuse épice ou précieux médicament ? » ; thèse doctorat Université de Lorraine, (page 14-47), 2015.
- [11] : Dubois A, « Analyse du filiere safran au Maroc : Quelles perspectives pour la mise en place d'une indication géographique ? », thèse 'master of science', Institut agronomiques méditerranéen de Montpellier, (page 11), 2010.
- [12] : Negbi M. (1999). Saffron cultivation: Past, Present and future prospects. In: Saffron (*Crocus sativus L*) Harwood Academic Publisher, USA : 1-18
- [13]: Babar Ali, M., Hahn, E.J., Paek, K.Y. (2007) « Methyl Jasmonate and Salicylic Acid Induced Oxidative Stress and Accumulation of Phenolics in *Panax ginseng* Bioreactor Root Suspension Cultures ». Molecules. 12: 607-621.

- [14]: Andrea Lugasi, Judit Hóvári, Katalin V. Sági, Lajos Bíró « The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases ». Volume 47(1-4) :119-125, **2003**.
- [15] : Dr BRAHMI Fatiha « Approche du métabolisme secondaire des végétaux supérieurs ». Cours Master 2 Spécialité : Qualité des produits et sécurité alimentaire, Université A. MIRA-BEJAIA.
- [16] : M<sup>me</sup> KARA-ABDELFFETTAH Dalila ; « Application de la chimométrie pour l'étude de la détermination spectrophotométrique simultanée de composés phénoliques dans des mélanges binaire et ternaire » ; Mémoire Magister page (23-25), **2014**.
- [17] : Guerrout Mahdia ; Mouri Cherifa « Etude comparative des extraits d'un condiment issu des différentes provenances », thème master **2017**
- [18] : Elise EMERAUX ; « Propriétés biologiques des flavonoïdes : étude bibliographique et évaluation de l'activité antioxydante » ; Thèse doctorat UNIVERSITE DE LORRAINE page (9-13), **2019**.
- [19] : François Nsemi MUANDA, « IDENTIFICATION DE POLYPHENOLS, EVALUATION DE LEUR ACTIVITE ANTIOXYDANTE ET ETUDE DE LEURS PROPRIETESBIOLOGIQUES » thèse doctorat de l'Université Paul Verlaine-Metz page (64-66),**2010**.
- [20] : CHOUALI Malika, DJEBELLANNOUAR Salima, « Extraction des composés bioactifs de safran Algérien«*Crocus sativus* L.», thème master, page (9-10), **2019**.
- [21] : Livre blanc : Le safran en Europe, Edition ALEXANDROS-SRL,10 rue Kaplanon ,Athènes .
- [22] : BIROUK, Ahmed, ABOUDRARE, Abdellah, AIT-OUBAHOU, Ahmed, et al. Guide des Bonnes Pratiques de Production du Safran dans la Région de Taliouine-Tazenakht. Office Régionale de Mise en Valeur Agricole de Ouarzazate, rapport de la FAO, **2011**.
- [23] : HALIL Khadouma, Nassima GUEBLI Feyrouz, « Etude technico-culturelle de safran *Crocus sativus* L dans la région de Hamadia, Tiaret », Mémoire Master Université de Tissemsilt,**2020-2021**.
- [24] : Hassouna Chifa, Zobiri Hiba « Contribution à la caractérisation biologique des extraits des racines de *Crocus sativus* issus de la région d'El-Oued », Mémoire Master D'EL-OUED, **2020-2021**.
- [25] : Vignesh AROUNAS SALAME, « Nouvelles architectures de détecteurs infrarouge à super-réseaux », Thèse de doctorat de l'université Paris-Saclay, février, page 5,**2022**.
- [26] : Chebil L, « acylation des flavonoïdes par les lipases de candida antarctica et de pseudomonascepacia: études cinétique, structurale et conformationnelle », thèse de doctorat



institut national polytechnique de lorraine, page 22, **2006**.

[27] : « L'analyse spectrale : spectroscopies IR et RMN », Fiche professeur.

[28] : Shimadzu F, « Livre Blanc Spectroscopie Infrarouge », page 5, **2005**.

[29] : M<sup>elle</sup> Alexandra CAMUT, « Mise en place du contrôle terminal des préparations d'anticancéreux injectables par spectrométrie UV-visible-IRTF, Multispec à l'Unité de Pharmacie Clinique et Cancérologique de l'Hôpital Bon Secours de Metz : Aspects analytiques et organisationnels », thèse Pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie université Henri Poincaré - Nancy I, page (18-21), **2009**.

[30] : Benaissa A « Etude de la dégradation photocatalytique d'un colorant synthétique et d'un tensioactif », thèse doctorat Université Mentouri Constantine, page 23, **2011**.

[31] : Lamia Boukemara, « étude de l'adsorption des ions phosphate sur des oxy-hydroxydes cas de l'hydroxyde de fer », mémoire magister, Université Mentouri de Constantine, **2009**.

[32] : Pr.Maghchiche, Département de pharmacie Batna 2 / chimie analytique 3 -ème année spectroscopie d'absorption UV-Visible.

[33] : Yahyaoui N, « Etude de l'adsorption des composés phénoliques des margines d'olive sur carbonate de calcium, hydroxyapatite et charbon actif », mémoire de magister, Université Mouloud Mammeri, Tizi Ouzou, **2012**.

[34] : « HPLC Principe et appareillage », Copyright © Biotechnologie & Biologie et Physiopathologie humaine - Académie de Rouen, janvier, page 2, 2010.

[35] : Soraya NIGRI, Prédiction, « Simulations et Applications à l'Analyse des Composés Organiques par la Chromatographie en Phase Gazeuse », thèse doctorat, UNIVERSITE BADJI MOKHTAR ANNABA, page 3 , **2007**.

[36]: A. Fardaghi, A. Es-haghia, J. Fezyb , et R. Lakshmiathy ; “Antioxidant capacity and chemical composition of different parts of saffron flowers”, Journal of Food and Bioprocess Engineering 4(1): 69-74, **2021**.

[37]: Baba, S. A., Malik, A. H., Wani, Z. A., Mohiuddin, T., Shah, Z., Abbas, N., & Ashraf, N. (2015). Phytochemical analysis and antioxidant activity of different tissue types of *Crocus sativus* and oxidative stress alleviating potential of saffron extract in plants, bacteria, and yeast. South African Journal of Botany, volume 99, 80-87

[38] : Karim BOUTERFAS, Z. MEHDADI, A. LATRECHE, Z. AZEM et N. BOUREDJA, Quantification de quelques polyphénols de *Marrubium vulgare* L. du mont de Tessala (Algérie occidentale) pendant les deux périodes de végétation et de floraison Quantification of some polyphenols of *Marrubium vulgare* L. of Tessala mount (western Algeria) at the vegetative and the flowering periods, 2013

## **Résumé**

Les composés principaux de safran sont la picrocrocine, le safranal et la crocine, ils contribuent significativement à sa qualité. Etant l'épice la plus chère au monde, une norme ISO, la spécification technique ISO/TS 3632, a été dédiée pour le contrôle de sa qualité.

Notre étude a été axée sur la caractérisation physico-chimique de safran cultivés dans la wilaya de Béjaïa. Sept échantillons ont été analysés, et les résultats obtenus nous permettent de dire que ce sont des safrans de qualité.

En effet, nous nous sommes intéressées aux paramètres suivants : analyse sensorielle, taux d'humidité et matière volatile, spectre d'absorbance UV-Visible, analyse par FTIR, et dosage de polyphénols totaux et flavonoïdes.

**Mots clés :** Safran, Picrocrocine, Safranal, Crocine, ISO/TS 3632, UV-Visible, FTIR.

## **Abstract**

Saffron's main compounds, picrocrocine, safranal and crocin, contribute significantly to its quality. As the most expensive spice in the world, an ISO standard, ISO/TS 3632, has been dedicated to quality control.

Our study focused on the physico-chemical characterization of saffron grown in the wilaya of Béjaïa. Seven samples were analyzed, and the results obtained allow us to say that these are quality saffrons.

In fact, we were interested in the following parameters: sensory analysis, moisture content and volatile matter, UV-Visible absorbance spectrum, FTIR analysis, and determination of total polyphenols and flavonoids.

**Key words:** saffron, crocin, ISO/TS3632, UV-visible, FTIR