



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



UNIVERSITE de TLEMCCEN
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de
Tlemcen

Département de Biologie

Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention
du Diplôme de
MASTER en Sciences
Alimentaires
Spécialité : Biologie de la Nutrition

Thème

*Etude phytochimique et évaluation de la capacité
antioxydante des extraits
(dichlorométhane, acétate d'éthyle, acétone) des
pétales du safran*

Présenté par :

M^{elle} BOUANANI Khadidja

M^r BENKABA Youcef

Soutenu le 29/06/2022, devant le jury composé de :

Président	Pr Merzouk H	Université de Tlemcen
Examineur	Pr Bnhammou N	Université de Tlemcen
Promoteur	Pr Loukidi B	Université de Tlemcen

Année universitaire 2022-2023

REMERCIEMENTS

*Tout d'abord, nous voudrions remercier du fond du cœur **DIEU** Tout-Puissant d'avoir donné à l'homme la capacité de penser.*

Exploiter et expliquer les faits de l'univers. Et donne-nous la santé, la volonté et surtout la patience pour faire et accomplir cet humble travail.

*Nous tenons à remercier du fond du cœur **Pr Loukidi B** professeure à la Faculté des Sciences Naturelles et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Abou Bakr Belkaid, notre encadreur, qui a assuré la réalisation de ce travail sous son excellente direction. Qui a guidé judicieusement nos recherches. Nous tenons également à la remercier pour la grande confiance qu'elle nous a accordée du début à la fin, pour la qualité de son encadrement, et pour sa patience et ses conseils bienveillants à notre égard nous tenons à lui exprimer notre profonde reconnaissance et gratitude.*

*Nous remercions également **Pr maerzouk H** pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury de ce travail. Nous la remercions également pour sa compréhension. Trouvez ici l'expression de nos sincères remerciements.*

*Nous remercions également **Pr Belyagoubi N**, pour avoir accepté de faire partie du jury de ce travail. Qu'elle soit assurée de notre profonde gratitude.*

*Nous exprimons un grand respect et un grand merci à melle **Miliani Noria** pour nous avoir guidé, orienté et aidé dans tous les domaines, et nous lui souhaitons du succès dans sa vie et sa carrière universitaire.*

*Nos remerciements s'adressent à **Mr HABI Salim**, ingénieur de laboratoire N°5 au Département de Biologie, Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen, pour sa disponibilité et son aide au laboratoire.*

Un grand merci à Mr **CHIKHI ISSA** (propriétaire de la safranière de Ain Fezza)



DÉDICACES

*Avec l'aide de dieu le tout puissant, j'ai pu réaliser ce modeste travail,
A ma mère qui s'est toujours montrée souriante et qui a toujours espérée me voir réussir dans la vie,
En particulier, je voudrais adresser mes sincères remerciements à Mon père, **M. Bouanani Belaid**, pour
s'être tenu à mes côtés et m'avoir encouragé pendant mes années d'études, raison pour laquelle j'ai
atteint ce stade et Je remercie également ma sœur **Bouanani Saloua** d'être à mes côtés et de m'aider.*

A

Mes frères, a toute ma famille BOUANANI.

A mon encadreur Pr Loukidi B qui m'a entouré par son grand cœur.

Et à mon collègue BENKABA YOUCEF

A

Tous les enseignants du département de Biologie.

Khadija



DÉDICACES

*JE M'INCLINE DEVANT DIEU TOUT PUISSANT QUI M'A OUVERT LA PORTE DU
SAVOIR ET M'A AIDÉ POUR RÉALISER CE MODESTE TRAVAIL QUE JE DÉDIE :
À MES CHERS PARENTS POUR LEUR ENDURANCE ET LEURS SACRIFICES SANS
LIMITES, AVEC TANT D'AMOUR ET D'AFFECTION, QUE DIEU LES PROTÈGE.
À MA GRANDE FAMILLE BENKABA QUI ME SOUTIEN À TOUTES LES ÉTAPES
DIFFICILES DE MA VIE
À MES AMIS ISLAM, WASSIM, NISRINE QUI DURENT LA RÉALISATION DE CE
TRAVAILLE ILS M'ONT ENCOURAGÉ
À TOUS MES ENSEIGNANTS SURTOUT MON ENCADREUR MME LOUKIDI QUI M'A
DIRIGÉ DANS CE LABEUR.
AINSI TOUS CEUX QUI M'ONT AIDÉ DANS LA RÉALISATION DE CE MÉMOIRE.*

Youcef_bk

الملخص

تعتبر بتلة الزعفران أرخص ثمناً ويتم إنتاجها بكميات كبيرة مقارنة بوصمات الزعفران، لذلك يمكن اعتبارها مصدرًا مناسبًا لأغراض مختلفة. لهذا ، وبهدف تقييم هذه المخلفات الحيوية ، نحن مهتمون بإجراء هذه الدراسة في هذه الدراسة تمت دراسة المركبات النشطة بيولوجيا المختلفة (البوليفينول ، الفلافونول ، الفلافونيدات ، التانينات القابلة للتحلل بالماء والعفص المكثف) والقدرة المضادة للأكسدة من ثنائي كلورو ميثان ، أسيتات الإيثيل والأسيتون من بتلات الزعفران. تم تحضير الكسور بطرق السوكسليت والنقع. أظهرت النتائج وجود الجزئيات النشطة بيولوجيا التي تمت دراستها في الكسور الثلاثة ولكن بتركيزات متغيرة. كان البوليفينول أكثر تواجداً في جزء أسيتات الإيثيل بينما كانت مركبات الفلافونويد والعفص المكثف أكثر وفرة في جزء ثنائي كلورو ميثان. بالنسبة لجزء الأسيتون، يوجد حمض التانينات والفلافونول القابل للتحلل بالماء بمحتوى مرتفع مقارنة بالكسرين الآخرين. في نهاية دراسة النشاط البيولوجي، قدم جزء الأسيتون أهم قدرة مضادة للأكسدة. أوضحت لنا هذه الدراسة أن بتلات الزعفران غنية بالجزئيات النشطة بيولوجيًا وأن جزء الأسيتون من بين الكسور الثلاثة التي تمت دراستها هو الأغنى في الجزئيات المضادة للأكسدة.

Résumé

Le pétale de safran est moins cher et produit en grande quantité par rapport aux stigmates du safran, il peut donc être considéré comme une source appropriée à différentes fins. Pour cela, et dans l'objectif de valoriser ces bio résidus on s'intéresse a réalisé ce travaille.

Dans cette étude, les différents composés bioactifs (les polyphénols, flavonols, flavonoïdes, tanins hydrolysable et tanins condensés) et la capacité antioxydante des fractions dichlorométhanique, acétate d'éthyle et acétonique des pétales de safran ont été étudiées. Après délipidation nous avons réalisé un fractionnement par des solvants de polarité croissante. Les résultats mettent en évidence la présence des molécules bioactives étudiées dans les trois fractions mais a des concentrations variables. Les polyphénols étaient présents le plus dans la fraction d'acétate d'éthyle alors que les flavonoïde et les tanins condensés ont été les plus abondante dans la fraction dichlorométhanique. Pour la fraction acétonique en trouve les tanins hydrolysables et les flavonols en teneur importante par rapport aux deux autres fractions. En fin pour l'étude d'activité antioxydante la fraction acétonique a présenté la capacité antioxydante la plus importante. Cette étude nous a montré que les pétales du safran sont riches en molécules bioactives et que parmi les trois fractions étudiées la fraction acétonique est la plus riche en molécule antioxydante.

Mots clé : Safran, pétales, capacité antioxydante, dosage des molécules bioactive, polyphénols, extraction, macération, soxhlét.

Abstract

Saffron petal is cheaper and produced in large quantities compared to saffron stigmas, so it can be considered as a suitable source for different purposes. For this, and with the aim of valuing these bio residues, we are interested in carrying out this study.

In this study, the different bioactive compounds (polyphenols, flavonols, flavonoids, hydrolyzable tannins and condensed tannins) and the antioxidant capacity of the dichloromethane, ethyl acetate and acetone fractions of saffron petals were studied. The fractions were prepared by the methods of soxhlet and maceration. The results highlight the presence of the bioactive molecules studied in the three fractions but at variable concentrations. Polyphenols were present the most in the ethyl acetate fraction while flavonoids and condensed tannins were the most abundant in the dichloromethane fraction. For the acetone fraction there are hydrolysable tannins and flavonols in a high content compared to the other two fractions. In the end for the study of biological activity the acetone fraction presented the most important antioxidant capacity. This study showed us that saffron petals are rich in bioactive molecules and that among the three fractions studied, the acetone fraction is the richest in antioxidant molecules.

Liste des Tableaux

Tableau 1. La répartition de Production du safran dans le monde.	16
Tableau 2. Paramètres physicochimiques des pétales frais de safran.....	18
Tableau 3. Tableau des poids des pétales au cours de la dilipidation.....	33
Tableau 4. tabelau des masses et rendement des trois fractions.....	44
Tableau 5. <i>Teneurs en polyphénols dans les trois fractions.....</i>	45
Tableau 6. <i>Teneurs en flavonoïdes totaux dans les trois extraits bruts de safran.....</i>	47
Tableau 7. Teneurs en tanins hydrolysables dans les trois extraits bruts de safran.....	48
Tableau 8. <i>Teneurs en tannins condensés dans les trois extraits bruts de safran.....</i>	50
Tableau 9. Teneurs en flavonols dans les trois extraits bruts de safran.....	51
Tableau 10. <i>Teneurs en capacité antioxydante totale dans les trois extraits bruts de safran.....</i>	53
Tableau 11. Les résultats des différents dosages dans les dans les trois extraits bruts de safran.....	54

Liste des Figures

Figure 1: Morphologie de la plante de safran : (A) plante de safran ; (B) types de racines de safran ; (C) feuilles de safran ; (D) fleur de safran.	14
Figure 2 : La plante de safran.....	14
Figure 3 : Systématique de safran.....	15
Figure 4: Structures chimiques de crocine et safranal.....	17
Figure 5: Structures chimiques de picrocrocine.....	17
Figure 6: classification des polyphénols.....	22
Figure 7: structure de base des flavonoïdes.....	23
Figure 8: structure de base des flavonoïdes.....	23
Figure 9: formule chimique de dichlorométhane.	27
Figure 10: structure chimique du l'acétone.	28
Figure 11: structure chimique de l'acétate d'éthyle.....	28
Figure 12: le crocus frais.....	31
Figure 13: Schéma de l'extracteur Soxhlet.....	32
Figure14: cartouche rempli avec les pétales de crocus frais durant une dilipidation.....	33
Figure 15: Une extraction sous reflux des pétales de crocus dans le solvant (hexane)	33
Figure 16: Photographie du Rota vapeur utilisé.....	34
Figure 17: pétales frais après séchage dans l'étuve.	34
Figure 18: Schéma qui résume l'extraction des huiles fix.	35
Figure 19: pétales du safran frais + solvant dichlorométhane	37
Figure 20: filtration des fractions par papier whatman.....	37
Figure 21: Schéma qui résume les étapes de la préparation des fractions.....	39
Figure 22: Histogramme qui montre les Pourcentages des rendements des petales de safran après la macération dans différents solvants.	44
Figure 23: Courbe d'étalonnage (polyphenols).	45
Figure 24 : Histogramme qui montre les teneurs en polyphénols dans les trois fractions obtenues par dichlorométhane, acétate d'éthyle et l'acétone.....	46
Figure 25: Courbe d'étalonnage.....	47

Figure 26: Histogramme qui montre la teneur en flavonoïdes totaux dans les trois fractions obtenues par dichlorométhanique, acétate, d'éthyle et cétonique.	47
Figure 27: Courbe étalon de tanins hydrolysables.	48
Figure 28: Histogramme qui montre les teneurs en tanins hydrolysables dans les trois extraits obtenus par dichlorométhanique, acétate d'éthyle et cétonique.	49
Figure 29: Courbe étalon de Tanins condensés.	50
Figure 30 : Histogramme qui montre les teneurs en tanins condensés dans les trois extraits obtenus par dichlorométhanique, acétate d'éthyle, acétonique.	50
Figure 31 : Courbe étalon de flavonols.	51
Figure 32 : Histogramme qui montre les teneur en flavonols dans les trois extraits obtenus par dichlorométhanique , acétate d'éthyle, acétonique.....	52
Figure 33 : Courbe étalon de capacité antioxydante totale.....	53
Figure 34 : Histogramme qui montre les teneur en capacité antioxydante totale dans les trois extraits obtenus par dichlorométhanique , acétate d'éthyle, acétonique.....	53
Figure 35: Histogramme qui montre les teneurs en polyphénols, flavonoïdes, flavonols et tanins hydrolysables/condensés dans l'extraits dichlorométhanique et les fractions obtenues par l'acétate d'éthyle et l'acétone du safran.....	55

Liste des abréviations

NaCo3 : Le carbonate de sodium

AlCl3 Trichlorure d'aluminium

NaNO2 : Nitrite de sodium

NaOH : L'hydroxyde de sodium

HCL : L'acide chlorhydrique

H : heure

Ac : acétone

AG : acide gallique.

DMSO : Diméthylesulfoxyde

T° : Température

DCM : Dichlorométhane

CAT : capacité antioxydante

Na: sodium

Ca: calcium

Fe: fere

Mg: magnesium

Zn: zing

UV : ultraviolet

Fr : French franc

Table des matières

➤ REMERCIEMENTS	i
➤ الملخص.....	iv
➤ Résumé	v
➤ Abstract.....	vi
➤ Liste des Tableaux	vii
➤ Liste des Figures	viii
➤ Liste des abréviations	x
➤ Introduction	1
➤ 1. Historique :	3
➤ 2. Description de la plante :	3
➤ 3. Classification :	5
➤ 4. Distribution géographique :	5
➤ 5. Composition chimique :	6
➤ 6. Les usages du safran :	9
➤ 6.2. Propriétés thérapeutiques :	9
➤ 7..... Polyphénols :	10
➤ 7.1. Définition :	10
➤ 7.2. Classification :	11
➤ • Les flavonoïdes :	11
➤ • Les non flavonoïdes :	13
➤ 7.3. Intérêt biologique :	14
➤ ➤ Pour la plante :	14
➤ ➤ Pour Lhomme :	14
➤ MATERIEL ET METHOD	18
➤ 2. Matériel végétal :	19
➤ 4.2. Dosage de flavonoïdes :	28
➤ 5.1. Capacité antioxydant totale (CAT) :	30
➤ RESULTATS	31

➤ 2.1. Dosage des polyphénols totaux dans les différentes fractions préparées :	33
➤ 2.2. Dosage des flavonoïdes dans les fractions préparées :	34
➤ 2.3. Dosage des tanins hydrolysables dans les fractions préparées :	36
➤ 2.4. Dosage des tanins condensés dans les fractions préparées :	37
➤ 2.5. Dosage des flavonols dans les fractions préparées :	39
➤ Taux de capacité antioxydante totale dans les extraits bruts de safran :	40
Discussion	57
Conclusion	59
Références	61

Introduction

Introduction

Les plantes médicinales sont connues comme des ressources importantes pour la prévention et traitement de plusieurs maladies. Des composés précieux peuvent être récupérés et utilisés comme substances biologiquement actives ou comme ingrédients alimentaires naturels **(Schieber, 2017)**.

L'organisation mondiale de la santé (OMS) a estimé qu'environ 75% de la population mondiale utilisait des plantes médicinales pour la prévention et le traitement de diverses maladies en raison des faibles effets secondaires **(Sumaira et Rahman, 2013)**.

Le safran est l'épice la plus chère au monde. Elle est obtenue à partir d'une très petite partie de la fleur *crocus sativus L* (le stigmate) **(Hemmati et Rahimi, 1994)**.

Le safran n'est pas connu pour pousser à l'état sauvage, ça culture a toujours besoin d'une main d'œuvre importante à cause de son faible niveau de mécanisation **(Makhlouf et al., 2011)**.

Il est très apprécié en tant qu'épice culinaire pour ses propriétés aromatisants et colorantes depuis l'Antiquité, et fait l'objet de recherches scientifiques en cours pour ses propriétés médicinales potentielles **(Makhlouf et al., 2011)**.

À cause des difficultés à le cultiver, en plus des bienfaits sur la santé, le safran a mérité son appellation or rouge et qui reste l'épice la plus chère au monde. Cependant, une énorme quantité de produits à base de safran avec peu ou pas de valeur commerciale, est gaspillée lors de la transformation des stigmates. Ainsi, plus de 160000 fleurs de *Crocus sativus*, sont nécessaires (environ 350 kg de pétales, 1500 kg de feuilles sont générés) pour obtenir seulement 1 kg d'épice safran. **(Jadouali et al., 2018)**.

Les pétales de safran sont les principaux sous-produits de la transformation du safran, mais ne sont pas utilisés et sont jetés. Le safran, contient plusieurs composés tels que des agents minéraux, des anthocyanes, des flavonoïdes, des glycosides, des alcaloïdes et du kaempférol **(Kafi et al., 2001)**. Comme les pétales de safran sont moins chers et produits en grande quantité par rapport aux stigmates du safran, ils peuvent donc être considérés comme une source appropriée à différentes fins **(Hosseini et al., 2018 ; Kafi et al., 2001)**.

Toutes ces données nous ont conduit à étudier les constituants des pétales de cette plante qui est cultivée dans notre région de la wilaya de Tlemcen et de voir aussi, quel est le solvant le plus approprié pour tel ou tel composé bioactif de la partie étudiée du safran. Et c'est ce qui nous a amenés à faire cette étude qui est divisée en deux parties :

- La première partie (chapitre1) est consacrée à une synthèse bibliographique, ou on a recherché les origines de cette plante, régions principales de sa production, métabolisme secondaire, l'étude botanique de la plante.

-le deuxième partie (chapitre2) et consacre à la partie expérimentale ou on a fait des dosages en polyphénols, Flavonoïdes, Tanins hydrolysables, Tanins condensés, Flavanols et la Capacité antioxydante sur les fractions de safran par dichlorométhane, L'acétate d'éthyle et l'acétone.

-la troisième partie (chapitre 3) représente les résultats et la conclusion de notre travail.

SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE

1. Historique :

Le crocus est l'une des épices les plus anciennes, remontant à l'Antiquité. La culture du safran a traversé de nombreuses cultures et civilisations. L'Iranien, représente 90% du total mondial en termes de production annuelle de safran (**Sánchez-Vioque et al., 2012**). D'autres civilisations telles que, la Chine, l'Inde, l'Egypte ancienne:(3100 avant JC - 476 après JC) Où le safran a été importé de Crète et l'une de ses utilisations importantes en médecine est le traitement des troubles oculaires menstruations et système urinaire (**Mousavi et Bathaie, 2011**).

On le retrouve dans plusieurs écrits Comme Homère, Salomon, Pline ou Virgile, ils mentionnent cette fleur dans leur histoire, qui sera plus tard considérée comme divine. Le dessin la plus ancienne date de 1600 à 1700 av (**Ibtissam Mzabri et al., 2019**).

Crocus est le nom scientifique donné par Linnaeus en 1754, plus connu sous le nom de safran. Les termes Safran et Crocus ont subi une évolution différente : le mot Crocus est la transcription latine du mot grec « crocus », dont on trouve qu'il a des racines assyriennes ou hindoues. Le mot "crocus" en grec signifie fil, fil et cheveux, et faisait à l'origine référence à une plante. Le terme sativus, quant à lui, signifie "cultiver" car Crocus, par sa multiplication végétative, ne peut se reproduire sans la main humaine. Le mot safran vient du mot latin safranum, lui-même inspiré de l'arabe : zafran, qui signifie jaune, Il est intéressant de noter qu'il existe une origine commune dans la désignation du mot safran dans différentes langues (**Mzabri et al., 2021**).

Dénominations internationales

* Français : safran / Anglais : safran / Italien : zafferano / Portugais : açafreão / Arabe : الزعفران

2. Description de la plante :

Le safran a longtemps été considéré comme sacré en raison de ses utilisations médicinales, aromatiques (parfum), artistiques (teinture) et culinaires (**Dar et al., 2017**). Cette grande valeur existe depuis l'Antiquité jusqu'à aujourd'hui en raison de la production de grandes quantités de fleurs, est la récolte d'une de petites quantités de safran (stigmate).

Le safran appartient à la famille des Iridacées. C'est une plante herbacée vivace (Figure, 1A, B, C et D)

Composé de trois filaments de couleur rouge intense dont la longueur dépasse celle des tépales, qui sont la partie de la plante intéressante pour l'homme du point de vue de la culture (Mzabri et al., 2019).

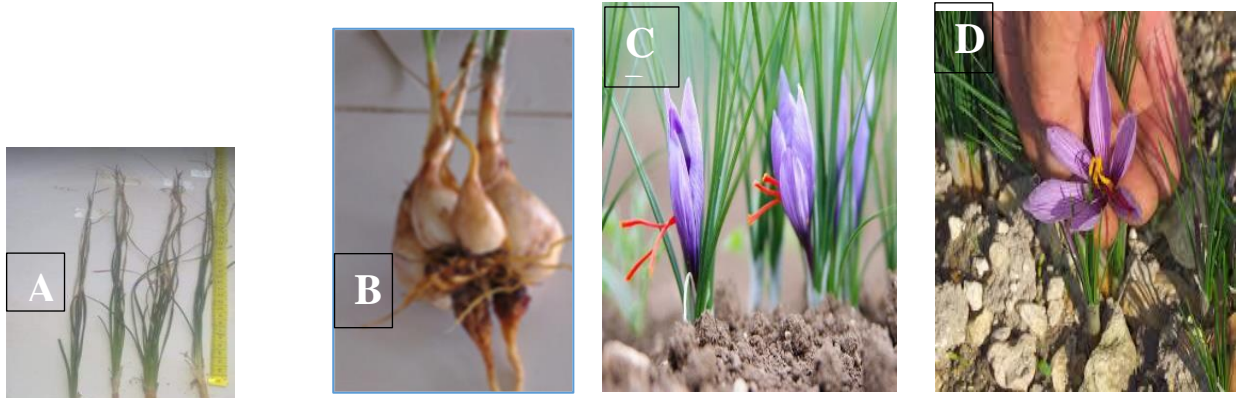


Figure 1: Morphologie de la plante de safran : (A) plante de safran ; (B) types de racines de safran ; (C) feuilles de safran ; (D) fleur de safran.

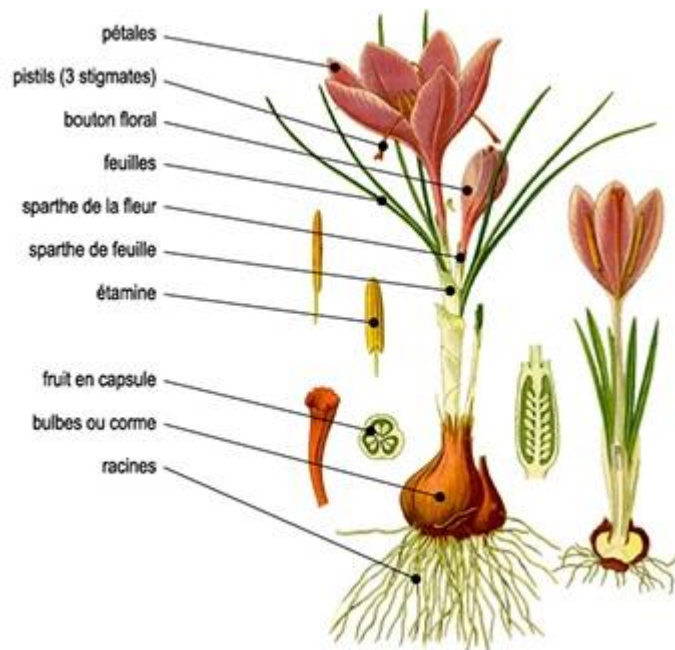


Figure 2: La plante de safran (Ordoudi et Tsimidou, 2007).

3. Classification :

La famille des Iridacées compte 1800 espèces (comme les iris, les tulipes, les crocus, etc.). Seules 85 espèces ont été autorisées à appartenir au genre safran, l'un des plus étonnants la crocus sativus L à florence automnale (**Dupont, 2007**). La systématique de safran est représentée dans cette (Figure 3).

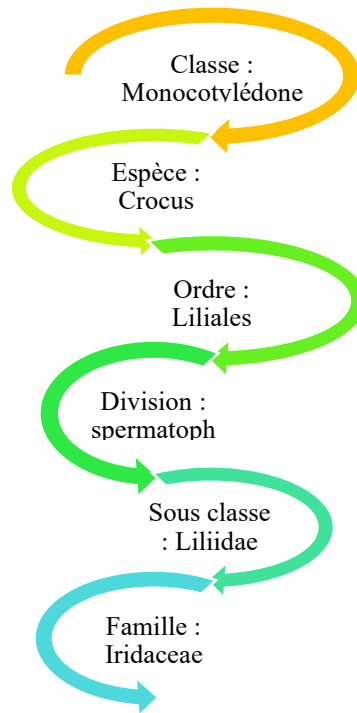


Figure 3 : Systématique de safran (**Davis, 1984 ; Judd et al., 2002**).

4. Distribution géographique :

Une bonne récolte productive de safran est faite par une main-d'œuvre énorme et des efforts intenses, car le safran est cultivé en quantités variables dans différents pays du monde. Les superficies attribuées à la culture du safran dans le monde (tableau 1).

Tableau 1: La répartition de Production du safran dans le monde (**Gresta et al., 2008 ; Jan et al., 2014**).

Pays	Superficie (ha)	Production (Kg)
Iran	47 000	160 000
India	-	8,000-10,000
Greece	860	4,000-6,000
Azerbaijan	675	-

Morocco	500	1000
Spain	200	300-500
Italy	35	120
France	1	4
Turkey	-	10
Switzerland	-	0,4

➤ **La culture du Safran en Algérie :**

Le safran a été introduit au sol algérien depuis la période coloniale avec des essais de culture qui ont été tentés, par Sergent, administrateur de Milah, par M. Ch. Rivière ancien directeur du Jardin du Hamma, enfin par M. Trabut, chef du service botanique d'Algérie (**Chevalier, 1926**). C'est essai en été fait paracerque la culture du safran en France a échoué à cause de la qualité du sols et météo, après le succès des essais en Algérie M. Trabut, chef du service botanique d'Algérie a recommandé la culture familiale (**Chevalier, 1926**). Chaque famille indigène (l'appellation des algériennes donner par l'occupant français) pourrait en cultiver 10 ares rapportant 200 Fr. avant la guerre, soit 3 000 à 4 000 Fr (**Chevalier, 1926**).

Depuis quelques années, 25 wilayas développent leur production de safran, dont Tlemcen, Constantine, Tiaret ; et Khenchela (**Gadiri, 2011**) Ain Defla (**zobeidi et benkhalifa, 2014**).

Bien qu'il soit difficile d'estimer la production totale de safran, elle est en constante augmentation d'environ 15 hectares (**loukil, 2018**) plantés en 2017-2018. La production annuelle de l'Algérie est d'environ 10 à 15 kg voire 20 kg de safran pur en 2018. (**Tozanli, 2018**)



Figure 4: Les aires principales de la culture de safran en Algérie. (Azizi, 2018)

5. Composition chimique :

❖ **Du safran :** Selon certaines études, le safran contient quatre principaux composés biologiquement actifs :

- La crocine (C₄₄H₆₄O₂₄) est un caroténoïde rare dans la nature, facilement soluble dans l'eau. En comparaison avec autres caroténoïdes, la crocine a une application plus large comme colorant dans les aliments (couleur jaune-orange) et les médicaments, principalement en raison de sa haute solubilité (**Moghaddasi, 2010**).
- Safranal (C₁₀H₁₄O), composé volatil responsable de l'arôme (il représente 70% de la fraction volatile) (**Ait Oubahou, 2009**). Peu ou pas présente dans les stigmates frais, sa concentration dépend de la condition de séchage et de conservation du safran (**Shadmehri et al., 2019**). (Figure 4)
- 2,6,6-triméthyl-1,3-cyclohexadiène-1-carboxaldéhyde avec une masse molaire 0.0093 g/mol C, Température d'ébullition 343.15 K (70 °C) à 1 bar, Masse volumique 0.9734 g/mol (**Palomares, 2015**).

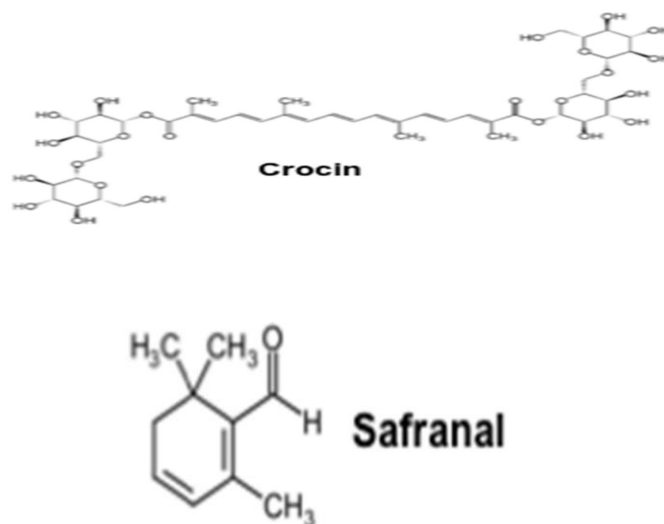


Figure 5: Structures chimiques de crocine et safranal (**kumar et al., 2008 ; Gutheil al., 2012**).

Quant aux agents non volatils, ils ont été remplis de crocétine (**shadmehri et al., 2019**).et de picrocrocine (C₁₆H₂₆O₇) est le principal facteur influençant le goût amer du safran (**Moghaddasi, 2010**) comme le montre dans la (**figure 5**)

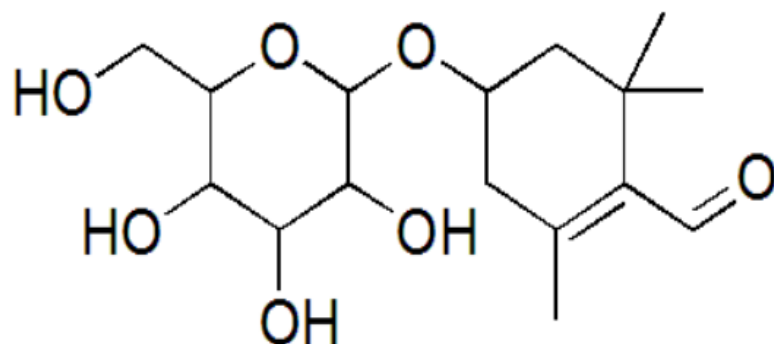


Figure 6: Structures chimiques de picrocrocine (Palomares, 2015).

- ❖ **Pétales** : les principales compositions des pétales de safran : graisse brute (5,3%) et protéines (10,2 %). Il contenait également des cendres (7,00 %) et fibres brutes (8,8 %) (Erdogan et al., 2004 ; Akinhanmi et al., 2008). Et quelques autres composés représentés dans le tableau 2 :

Tableau 2: les principales compositions du safran (Zhao, 1998 ; Sorenson, 2002 ; Yanik et al., 2004).

Paramètre	Pétales de safran (%)
Glucide : glucose, fructose, gentibose, xylose et ramones	(12 à 15%).
Eau	(9à 14%)
Cellulose	(4 à 7%)
Polypeptides	(11 à 13 %)
Vitamines	B2 ou riboflavine (56,4 à 138 µg/g) et B1 ou thiamine (4,0 à 0,9 µg/g).
Divers, non azotés	(40%)
Acides gras	Acides palmitique, stéarique, oléique, et linoléique.
Caroténoïdes	α , β , et γ -crocétine, crocine (10%), picrocrocine (4%), α et β -carotène, lycopène, phytoène et zéaxanthine
Matières minérales	(1 à 1.5 %) (Na : 25,75, K :542,13, Ca : 486,25, Cu :0,87, Fe :17,99, Mg : 2,93,

	Zn :1,80 et P :209,90) mg/100 g.
flavonoles	Kaempférol 12%

6. Les usages du safran :

6.1.Utilisation traditionnelle du safran :

Plusieurs pigments à base de safran ont été retrouvés dans des peintures préhistoriques, il a été utilisé pour représenter des monstres dans l'art rupestre vieux de 50 000 ans, qui se trouvait dans le nord-ouest de l'Empire perse (**Humphries, 1998 ; Willard, 2002**).

Ils ont collecté leurs trésors à partir de fleurs sauvages, croyant que seule l'intervention divine permet les propriétés médicinales du safran. (**Willard, 2002**). Les anciens fidèles perses utilisaient le safran comme offrande à leurs dieux, comme paillettes, colorant jaune, comme parfum (le safran était un colorant royal et était utilisé comme parfum dans les salons, les cours, les théâtres et les salles de bains. Plus tard, son utilisation s'est répandue parmi les gens ordinaires (**Giaccio, 2004 ; Abrishami, 1987**), et comme médicament. Ainsi, les stigmates du safran vont se répandre sur la famille et se mélanger au thé chaud comme remède contre la dépression. Il a également été utilisé comme nettoyant pour le corps après un travail acharné et la transpiration sous le soleil brûlant (**Golmohammadzadeh et al., 2010 ; Tabrizi et al., 2003**).

Les Égyptiens et les Hébreux, Grecs et aux Romains, l'utilisèrent dans divers usages : dans les arts culinaires, la parfumerie (**Vickackaite et al., 2004**). La teinture dans la pharmacopée, et dans certaines religions. Rituel. Il en était de même en Inde où il est encore utilisé aujourd'hui (**Cardon, 2003**).

La solubilité extrêmement élevée de la crocine dans l'eau est un grand avantage pour l'industrie agro-alimentaire. Le safran est de couleur plus foncée que d'autres aliments naturels tels que le bêta-carotène et le paprika, il a une excellente stabilité à la chaleur et à la lumière. (**Tsimidou et Tsatsaroni, 1993**).

6 .2. Propriétés thérapeutiques :

Diverses études pharmacologiques ont été décrites : le safran et ses constituants (Crocine, crocetine et safranal) présentent des propriétés bénéfiques différentes parmi les bénéfices du safran en mentionne :

Anti dépression :

Les résultats cliniques suggèrent que le safran est un antidépresseur sûr et efficace

(Murray et Lopez, 1997 ; Khazdair et al., 2018).

- **Anti-Alzheimer :**

Plusieurs études ont porté sur l'effet négatif du stress oxydatif sur notre cerveau, puisque c'est l'organe le plus exposé à l'oxydation, en raison de sa teneur élevée en phospholipides des membranes neuronales et au lien existant avec le développement de pathologies neurodégénératives, comme la maladie d'Alzheimer, dont le traitement au safran peut prévenir l'agrégation et le dépôt du peptide amyloïde β dans le cerveau humain et peuvent donc être utiles dans la maladie d'Alzheimer (**Bathaie et al., 2013**)

- **Effets anti nociceptifs et anti-inflammatoires :**

Des extraits de stigmate et de pétales de safran ont montré des effets antinociceptifs et anti inflammatoires aigus et/ou chroniques dans des tests de douleur induits chimiquement (**Eghdami et al., 2013 ; Tamaddonfard et al., 2019**).

- **Antioxydant :**

Le safran est en effet, l'un des meilleurs antioxydants naturels pour lutter contre le vieillissement cellulaire. (**Rahimi, 2015**). La crocine et la crocétine protègent les cellules et les tissus des effets néfastes des radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène (ROS). La crocine est le principe actif le plus étudié en ce qui concerne la propriétés antioxydantes du safran. Cependant, il n'agit pas seul, mais grâce à un travail en synergie avec d'autres composants tels que les flavonoïdes (**Hosseinzadeh et al., 2009**).

7. Polyphénols :

7.1.Définition :

Les polyphénols sont des micro-constituants de l'alimentation. Ils sont contenus dans les végétaux et une consommation riche en fruits et légumes en apporte plusieurs centaines de milligrammes par jour (**Bennetau-Pelissero, 2014**).

Ils sont des métabolites secondaires largement répandus dans les plantes, présents en différente concentration dans toutes leur partie, leur rôle principal est de protéger les plantes contre les insectes, les rayons ultraviolets et les microbes les infections et pour attirer les pollinisateurs (**Del Rio et al., 2013**).

Les polyphénols sont caractérisés par la présence de plusieurs groupements phénoliques et possèdent d'autres fonctions (alcoolique, carboxylique...), c'est-à-dire un noyau aromatique sur lequel sont présents un ou plusieurs groupements hydroxyles (-OH) (Macheix et al., 2005 ; Augustin et Gary., 2000).

7.2. Classification :

La (Figure 8) représente les principales classes des polyphénols :

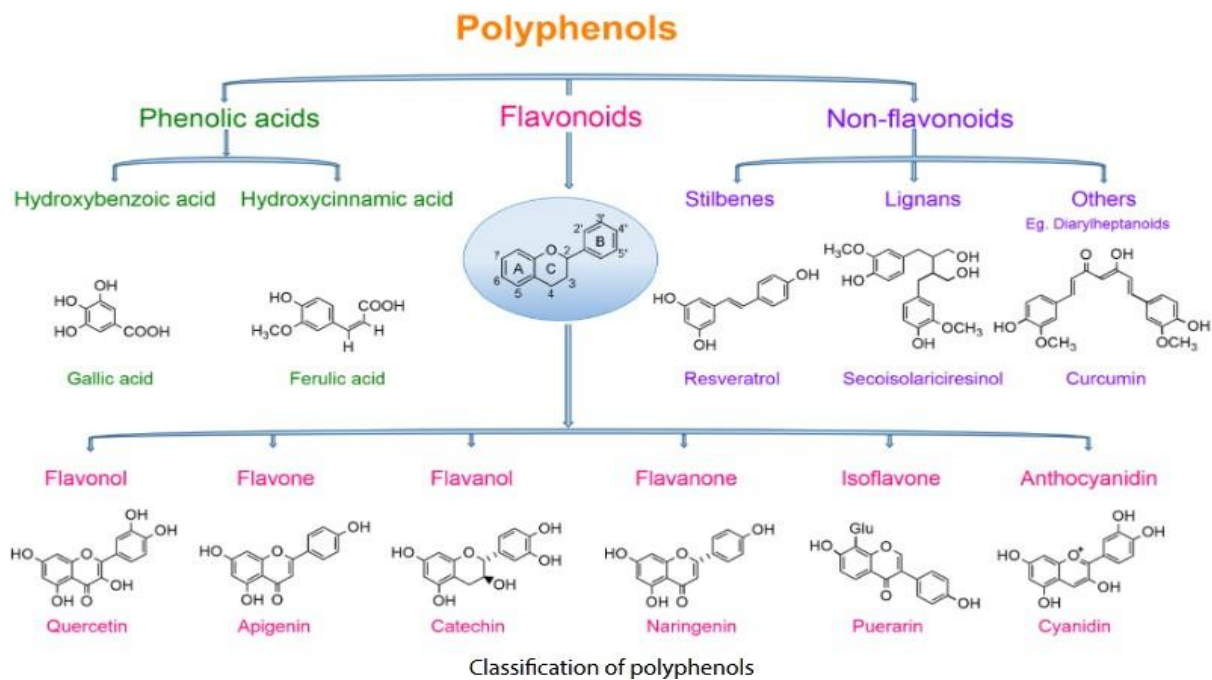


Figure 7: classification des polyphénols (LABBANI, 2021).

- Les flavonoïdes :

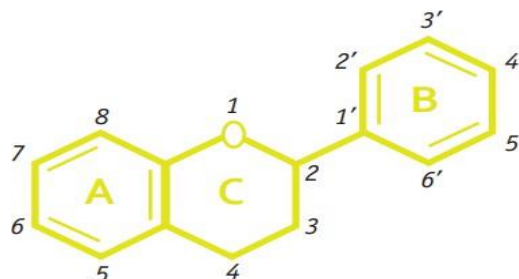


Figure 8: structure de base des flavonoïdes (Dacosta, 2003).

Les flavonoïdes sont des dérivés phénylpropanoïdes solubles dans l'eau, représentent

une classe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Avec plus de 4000 composés différents identifiés (Munawar et al., 2016).

Parmi ces classes on a six les plus répondu, ces classes comprennent les flavanones, les flavanols, les flavonols, les isofalvons, les flavons et les anthocyanidines (Augustin et Gary, 2000).

Les flavonoïdes sont des substances pigmentaires hydrosolubles végétales responsables de la couleur variée des fleurs, des fruits et parfois des feuilles, Ils interviennent dans la pigmentation des fleurs et dans les processus de défense contre les rayonnements UV, les herbivores et les attaques microbiennes (Crozier, 2003 ; Munawar et al., 2016).

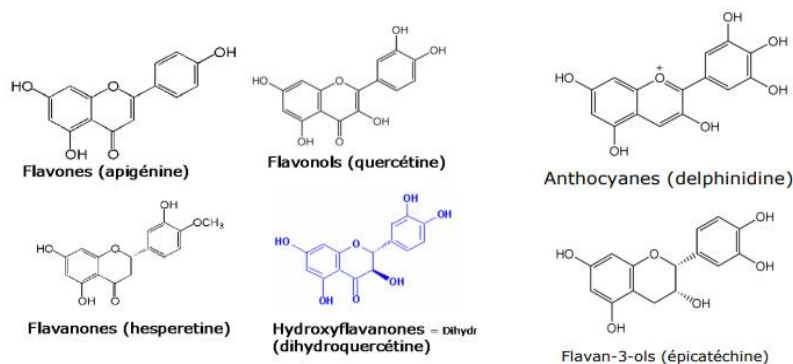


Figure 8 : structure de base des flavonoïdes (LABBANI, 2021).

Parmi les principaux flavonoïdes on a :

➤ **Les flavanols :**

Ce sont des composés ayant la propriété de faire précipiter les protéines. Ils sont impliqués dans la défense contre les pathogènes et phytophages. Ces propriétés font qu'on assimile parfois aux tanins ces molécules de faible poids moléculaire. (LABBANI 2021).

Ces flavonoïdes ne se retrouvent pas sous forme glycosylée dans l'alimentation humaine, quelles que soient les autres classes de flavonoïdes. (Munawar et al., 2016).

Les flavanones et les flavonols, sont les flavonoïdes responsables de la saveur amère de certains pamplemousses, des citrons, des oranges : la naringine (naringénol lié à du glucose et du rhamnose). (Alais et Linden., 1997).

- **Les non flavonoïdes :**

- **Les acides phénoliques :**

Ces substances organiques sont les formes les plus simples des composés phénoliques, Ce sont des dérivés hydroxylés de l'**acide benzoïque (C6-C1)** : ou de l'acide cinnamique (C6-C3) (**Macheix et al., 2005**).

Acides phénols dérivés de l'acide benzoïque : **acides hydroxybenzoïques (C6-C1)** : très présent dans le règne végétal soit sous forme libre ou sous forme combinée à l'état d'ester ou d'hétéroside. Les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acide gallique. Ils sont fréquents sous formes d'esters méthyliques ou glycosylés chez les gymnospermes et les angiospermes. Ils sont libérés après hydrolyse alcaline de certaine molécule en particulier la lignine et certains tanins (**Macheix et al., 2005 ; Pandey et Rizvi, 2009**).

- **Tanins :**

Le terme tanin dérive de la capacité de tannage de la peau animale en la transformant en cuir par le dit composé. Les tanins sont un groupe des polyphénols à haut poids moléculaire. Les tanins sont des molécules fortement hydroxylées et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux glucides, aux protéines et aux enzymes digestives, réduisant ainsi la digestibilité des aliments. Ils peuvent être liés à la cellulose et aux nombreux éléments minéraux (**François, 2010**). On distingue : les tanins hydrolysables et condensés. (**Jarrige et al., 1995**).

- **Tanins hydrolysables :**

Ces tanins sont des dimères d'acide gallique condensés sur des dérivés glycosylés y compris l'acide gallique et ses dimères, produits de condensation d'acides hexahydroxydiphénique (**Olatunji, 2000 ; Maiga et al., 2005 ; Brandao et al., 1992**). Comme leur nom l'indique, ces tanins sont Hydrolyse acido-basique facile, hydrolyse sous l'action d'enzymes eau chaude (**Conrad et al., 1998**).

- **Tanins condensés :**

Appelés aussi pro anthocyanidines ou procyanidines, Les tanins condensés sont des polyphénols avec une masse molaire élevée. Ils résultent de la polymérisation auto-oxydative

ou enzymatique des unités de flavan-3,4-diol liées majoritairement par les liaisons C4-C8 (parfois C4-C6) des unités adjacentes, et se nomment ainsi pro-anthocyanidines de type B. Lorsque la condensation se produit entre les unités adjacentes par la liaison C4-C8 et par une liaison d'éther additionnelle entre C2 et C7, les pro anthocyanidines sont dits de types A (Wollgast et Anklam, 2000).

7. 3. Intérêt biologique :

➤ Pour la plante :

Les composés phénoliques peuvent être impliqués dans certains aspects de la physiologie des plantes (lignification, régulation de la croissance, interactions moléculaires...), dans leur interaction avec leur environnement biologique et physique (relations avec les bactéries, les champignons, résistance aux UV); soit directement dans la nature, soit lors d'une conservation ultérieure Récolter des cultures spécifiques ; des normes de qualité (couleur, astringence, amertume, qualités nutritionnelles...) (Fleuriet et al., 2005).

Les composés phénoliques contribuent également à la croissance et au développement des plantes à travers une variété d'effets. Par exemple, impliqués dans le métabolisme et le transport de l'auxine et de l'éthylène, les flavonoïdes provoquent la formation de grains de pollen chez les pétunias (Sun et al., 2002).

Ces composés interviennent également dans les interactions entre les plantes supérieures via des processus d'allélopathie (moyen de défense qu'une plante exerce contre une autre, par la production d'une molécule chimique. La molécule, libérée dans le sol, dans l'air ou dans l'eau, peut notamment tuer la plante concurrente « réceptrice », en empêchant sa germination ou ralentir sa croissance). Ils sont responsables de la coloration des fleurs (Sun et al, 2002 ; Hussain, 2009).

Enfin les flavonoïdes comme les dérivées hydroxy cinnamiques jouent un rôle important dans la résistance des plantes aux stress environnementaux. Lors de blessures ou d'attaques de pathogènes fongiques et bactériens, la synthèse de composés phénoliques est stimulée ou induite. Ces molécules, des phytoalexines, peuvent alors jouer un rôle de défense (Hussain, 2009).

➤ Pour L'homme :

Bien qu'ils représentent les composés bioactifs les plus répandus dans l'alimentation humaine,

les composés phénoliques sont intensément étudiés pour leurs avantages potentiels pour la santé humain. En fait, parmi d'innombrables composés antioxydants, les polyphénols alimentaires ont reçu une attention croissante, car leur consommation a été associée à des indications prometteuses contre de nombreuse maladie (**Potì et al., 2019 ; Joseph et al., 2009 ; Fleuriet et al., 2005**).

Des études ont montré que les polyphénols protègent contre les accidents cardiovasculaires et les maladies coronariennes. Ces composés naturels dotés d'activité antioxydante intéressante ont une relation importante avec la prévention des maladies inflammatoires et le traitement du cancer. Leurs efficacités varient en fonction de leurs natures, leurs concentrations, leurs vitesses d'absorption dans l'intestin grêle et de leurs dégradations par la flore intestinale (**Macheix et al., 2005**).

Le rôle des composés phénoliques est largement montré dans la protection contre certaines maladies en raison de leur interaction possible avec de nombreuses enzymes et de leurs propriétés antioxydantes (**Fleuriet et al., 2005**). Les flavonoïdes favorisent la relaxation vasculaire et empêchent l'agglutinement des plaquettes sanguines. Par conséquent, ils réduisent la coagulation du sang et le rendent plus fluide. Ils limitent l'oxydation des lipides sanguins et contribuent à la lutte contre les plaques d'athérome. Ils sont aussi anxiolytiques et protèges nos artères contre l'athérosclérose et réduit la thrombose (caillots dans les artères) (**François, 2010**).

8. Les solvants:

8.1. Dichlorométhane : (Formule chimique).

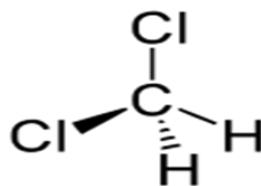


Figure 9 : formule chimique de dichlorométhane (**Verschoren, 1983 ; Inrs 2021**).

Dichlorométhane (DCM), également appelé chlorure de méthylène, (CH₂Cl₂) [numéro de registre CAS 75-09-2] C'est un liquide très volatil et ininflammable à température ambiante. C'est un liquide clair et incolore avec une odeur légèrement sucrée. Le dichlorométhane a une masse moléculaire de 84,93 g/mol, et une densité de 1,326 g/ml à une température de 20°C

(Verschoren, 1983 ; García-Sánchez et al., 1989), il a une grande solubilité dans l'eau, elle varie de 13 200 à 20 000 mg/l à une température de 20 °C (Anthony, 1979 ; Verschoren, 1983). Des points d'ébullition se sont également manifestés de 39,75 à 40,1 °C (Hawley, 1971) mais miscible avec la plupart des solvants organiques. En outre, le dichlorométhane dissout de nombreux produits tels que graisses, huiles, résines, etc (BRIGNON et al., 2015 ; Seidel, 2007 ; Florence, 2004).

8.2.Acétone : (Formule chimique), (Figure 10).

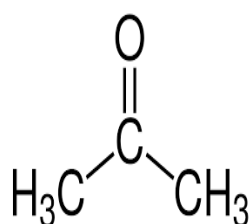


Figure 10: structure chimique de l'acétone (*Ch-A Wurtz et Dict,1869-1878*).

L'acétone (C₃ H₆ O) est un liquide transparent, inflammable, d'odeur caractéristique (plutôt fruitée) (*Ch-A Wurtz et Dict,1869-1878*). La température de fusion est de -95,4 °C et celle d'ébullition de 56,53 °C. Masse molaire : 58,08. Il a une densité relative de 0.819 (à 0 °C) (*Kirk-othmer, 2004 ; Bretherick,1999*). C'est un composé très soluble dans l'eau (c'est une molécule polaire à chaîne carbonée courte), l'éthanol, l'éther, etc. L'acétone est le dérivé le plus simple de la série des cétones aliphatiques et la présence de la double liaison carbone-oxygène lui confère l'essentiel de sa réactivité. L'acétone forme un hydrazone avec la phénylhydrazine et une oxime avec l'hydroxylamine. Une réduction par amalgame de sodium la convertit en alcool isopropylique ; une oxydation par l'acide chromique donne de l'oxyde de carbone, et de l'acide acétique (*Agenda,1930*). Elle réagit avec l'ammoniaque pour former du di- et tri-acétone amines. Elle s'unit aussi directement avec le cyanure d'hydrogène pour former le nitrile d'acide α -Ox isobutyrique. (*Remler, 1923*).

8.3.L'acétate d'éthyle : (Formule chimique), (Figure 11).

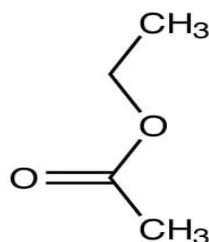


Figure 9: structure chimique de l'acétate d'éthyle

L'acétate d'éthyle (éthanoate d'éthyle systématique; couramment abrégé en EtOAc, ETAC ou EA) est le composé organique de formule $\text{CH}_3 - \text{COO} - \text{CH}_2 - \text{CH}_3$ simplifiée en $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$. Ce liquide incolore a une odeur sucrée caractéristique (semblable aux gouttes de poire). Masse molaire : 88,11 g/mol, Point de fusion : -83°C , Solubilité : Eau, Masse molaire : 88,11 g/mol, Densité de vapeur (air = 1) : 3,04

L'acétate d'éthyle est l'ester de l'éthanol et de l'acide acétique, il est largement fabriqué pour être utilisé comme solvant (permet d'obtenir un extrait riche en composés moyennement polaires) **(DIBY 2017)**.

L'acétate d'éthyle s'hydrolyse pour donner de l'acide acétique et de l'éthanol. Les bases accélèrent l'hydrolyse, qui est soumise à l'équilibre de Fischer. En laboratoire, et habituellement à des fins d'illustration uniquement, les esters éthyliques sont généralement hydrolysés dans un procédé en deux étapes commençant par une quantité stoechiométrique d'une base forte, telle que l'hydroxyde de sodium. Cette réaction produit de l'éthanol et de l'acétate de sodium, qui ne réagit pas avec l'éthanol **(Daudt, 1973; Ribéreau-Gayon, 1964)**.

MATERIEL ET METHODES

1. Protocole expérimentale :

Notre étude expérimentale a été menée à l'intérieur de laboratoire "n°05 biochimie" du département de biologie. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université de Tlemcen.

Ce travail a été réalisé en deux parties :

- 1.1. Préparation de trois fractions (dichlorométhanique, cétonique et d'acétate d'éthyle) à partir des pétales frais du safran.
- 1.2. Dosage des polyphénols, flavonoïdes, flavanols, tanins hydrolysables, tanins condensés dans les fractions des pétales préparés et en fin on a fait une Évaluation de l'activité antioxydante des fractions obtenues.

2. Matériel végétal :

Au cours de cette étude le matériel végétal utilisé sont des pétales de la plante *Crocus sativus* frais (Figure 7) qui ont été récoltés en mois de Novembre 2021 dans la région de Ain Fezza Daïra de Tlemcen wilaya de Tlemcen. Les pétales ont été subis aux étapes expérimentales plus rapidement possible pour éviter leur séchage.



Figure 10: pétales du safran frais (Photo prise au laboratoire).

3. Préparation des fractions :

Pour préparer les fractions de *Crocus sativus* frais on doit passer par une extraction des huiles fixes par délipidation par Soxhlet (**Extraction par solvant**) ensuite l'extraction des fractions se fait par **la macération** :

3.1. Extraction des huiles fixe par Soxhlet :

L'extraction par Soxhlet est une méthode simple et convenable permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à l'épuisement complet du soluté dans la matière première (Penchev, 2010). Un extracteur Soxhlet est une pièce de verrerie qui permet de faire l'extraction par solvant continue d'une espèce chimique contenue dans une poudre solide. Cet appareil porte le nom de son inventeur : Franz Von Soxhlet (TEDJINI, 2006).

- **Principe de Soxhlet :**

Le principe est le même que pour toute extraction, mais ici se pose le problème de la diffusion du solvant dans la phase solide, qui peut être très lente. Il faut réaliser un très grand nombre d'extractions successives pour obtenir une séparation satisfaisante. Le solvant est porté à ébullition, puis condensé avec le condenseur à boules, dans le réservoir à siphon contenant le solide à extraire dans une cartouche de papier épais. Le contact entre le solvant et le produit à extraire dure pendant l'accumulation de solvant dans le réservoir, puis quand le solvant atteint un certain niveau, il amorce le siphon et retourne dans le ballon en entraînant la substance dissoute. Ce cycle peut être répété plusieurs fois, selon la facilité avec laquelle le produit diffuse dans le solvant (Benseghier et Khamed, 2014).

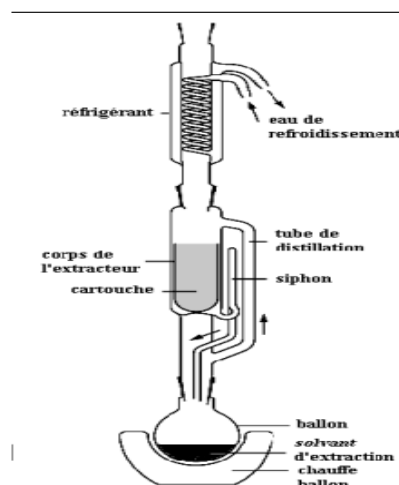


Figure 11: Schéma de l'extracteur Soxhlet.

Dans notre cas on a essayé de remplir le maximum deux cartouches avec matériel végétal (pétales frais), et on a couvert les deux cartouches avec du coton.

Ensuite on a mis chaque cartouche au soxhlet dans le réservoir à siphon, On a ajouté 250ml d'hexane pour chaque ballon.

La température de chauffe ballon a été réglée entre 50 et 40 °C

On laisse le cycle d'extraction se répéter plusieurs fois jusqu'à ce que l'hexane qui fait le cycle devient incolore :

L'extraction a duré pendant 3 heures

Le tableau suivant présente la masse des cartouches avant et après une extraction des huiles fix.

Tableau 3: Tableau des poids des pétales au cours de la dilipidation.

	Cartouche1	Cartouche2	Total(g)
Mass pétales fraiche (g)	43,37	42 ,32	85,69



Figure 12: cartouche rempli avec les pétales des pétales frais durant une délipidation (Photo prise au laboratoire).



Figure 13: Une extraction soxhlet des pétales de crocus dans le solvant (hexane) (Photo prise au laboratoire).

Après la dilapidation les ballons sont passés par le rotavapor pour évaporation de

l'hexane et après on les met dans l'étuve (évaporation à sec) pour assurer la disparition d'hexane.

- En fin on récupère les huiles fixes et on les met dans un petit flacon et les stockons au réfrigérateur pour d'autres utilisations.



Figure 14: Photographie du Rota vapeur utilisé (Photo prise au laboratoire).

- Les cartouches sont récupérées et placées dans l'étuve à température entre 35 à 40°C pendant 16 heures pour l'évaporation totale de l'hexane.
- Après les 16h les pétales sont récupérés de l'étuve et nous les étalons sur une surface en aluminium pour évaporer totalement l'hexane.



Figure 15: pétales frais après séchage dans l'étuve.

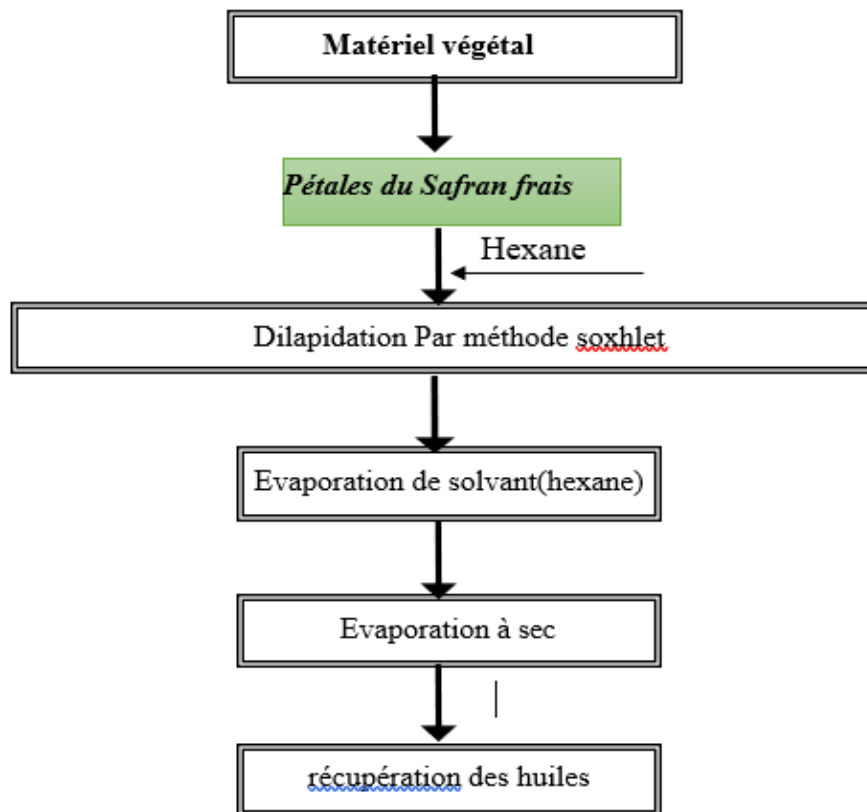


Figure 16: Schéma qui résume l'extraction des huiles fixe

- Les pétales fraîches délipidés sont pesés afin de déterminer leur rendement selon la formule suivante :

$$R(\%) = \left(\frac{M_{EXT}}{M_{ECH}} \right) * 100$$

R (%) : Le rendement.

Mext : la masse des extraits après évaporation du solvant en g.

Méch : la masse sèche de l'échantillon végétal (safran) en g.

3.2. Macération :

- **Principe :**

C'est une technique d'extraction solide-liquide La matière végétale est exposée à un solvant à température ambiante ou à haute température pendant une période de temps prédéterminée avec ou sans agitation. Cela dépend de la solubilité du composé bioactif dans le solvant d'extraction et est déterminé par de nombreux facteurs tels que la qualité du matériel végétal, la concentration de soluté dans l'échantillon, le type de solvant et le temps d'extraction (**Spigno et al 2007 ; Budic-Letoc, 2005**). Cette méthode d'extraction est la plus simple et Moins cher peut être utilisé pour éliminer des groupes de molécules sensibles et se fait à température ambiante. Ceci est idéal pour maintenir l'identité des molécules bioactives qui sont vulnérables aux changements de température. De plus, la matrice peut être extraite plusieurs fois à l'aide d'un solvant hautement polaire pour produire un mélange d'intérêt riche en molécules (**AL-Bandak et Oreopoulou, 2007**). Cette méthode est particulièrement adaptée à l'étude des composés non volatils (polyphénols, sucres) qui utilisent de grandes quantités de solvant. L'inconvénient de macération c'est qu'elle peut prendre beaucoup du temps et ça peut provoquer une fermentation ou bien une contamination bactérienne surtout si le solvant utiliser est l'eau (**Macleod et Troconis, 1982 ; Nicolas, 2012**).

- Dans notre étude on a récupéré les fractions dichlorométhane, acétate d'éthylque et acetonique par macération successive des pétales fraiche du safran.

3.3.Préparation de la fraction dichlorométhane :

- Après l'extraction des huiles fix et le séchage complète des pétales du safran on les met dans un erlenmeyer.
- On ajoute 200 ml de solvant dichlorométhane.

- **Remarque :**

Il faut que les pétales soient submergés dans le solvant, alors si 200ml n'est pas suffisante pour submerger les pétales on ajoute encore plus de solvant.



Figure 17: pétales du safran frais + solvant dichlorométhane

- Après une macération pendant 72h à une température ambiante on filtre avec du papier joseph ensuite on procede a une deuxieme filtration avec du papier whatman a une porosité de 08 μ m (Figure 10).



Figure 18: filtration des fractions par papier whatman (Photo prise au laboratoire).

- La fraction récupérée est placée dans un ballon. Ce dernier est fixé au rotavapor
- Le solvant est récupéré par évaporation et condensation a une température de 40° à 45 °C. (Figure 11).
- Après évaporation la fraction est pesée puis récupérée par le DMSO en déterminant la concentration est récupéré par la suite dans des tubes a essai ou a hémolyse (bien envelopper avec de papier aluminium) qui vont être conservés au réfrigérateur à une température de 5°c jusqu'à utilisation.
- Le marc (pétales filtré) sont récupéré dans une boîte de Pétri. Cette dernière est mise dans l'étuve à une température de 30°c pendant 4 à 5h jusqu'à séchage complet pour éliminer le dichlorométhane.

3.4.Préparation des fractions d'acétate d'éthyle et acétone :

- Pour les fractions d'acétate d'éthyle et l'acétone la macération à température base ce déroule à partir du résides (pétales) récupéré à la fin d'extraction de fraction dichlorométhanique (séché à sec dans l'étuve à 30°C pendant 4 à 5h), et on suit les mêmes étapes comme la fraction dichlorométhanique.
- Et à chaque fois on détermine le rendement avec la même formule.

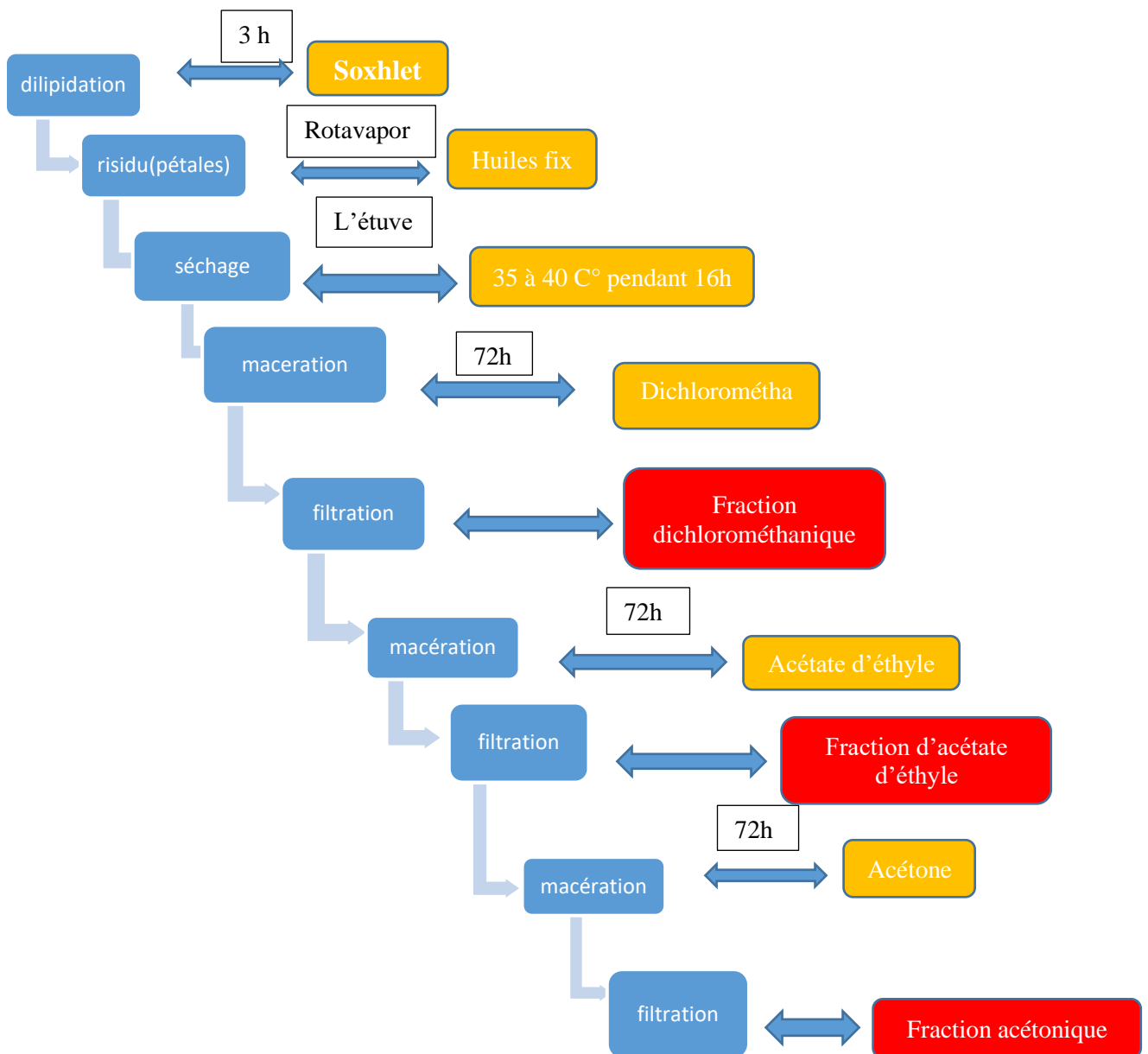


Figure 19: schéma qui présente les étapes de la préparation des fractions

3. Les dosages phytochimique**3.1. Dosage de phénols totaux :**

Principe : Le dosage des phénols totaux est déterminé par le réactif de Folin-Ciocalteu selon la méthode de (Singleton et Rossi, 1965). Le réactif est réduit lors de l'oxydation de phénol, en un mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène, l'absorption est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 765nm.

Mode opératoire : Une prise de 200 µL de l'extrait dilué a été introduite dans des tubes à essais, puis 1000 µL du réactif du Folin-Ciocalteu dilué 10 fois et 800 µL de carbonate de sodium (Na₂CO₃) à 7.5% sont additionnés.

Les tubes sont agités et conservés durant 30 min à l'abri de la lumière et à une température ambiante.

L'absorbance est mesurée à 765nm contre le blanc à l'aide d'un spectrophotomètre SPECORTD 200 Plus. Une courbe d'étalonnage est réalisée en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif

afin d'exprimer les teneurs en milligramme (mg) équivalents d'acide gallique par gramme de la matière sèche (mg EAG /g MS).

3.2. Dosage de flavonoïdes :

Principe : Le dosage des flavonoïdes est déterminé en utilisant la technique de (Zhishen *et al*, 1999).

Mode opératoire : Une quantité de 500 µL de l'extrait dilué est mélangée avec 1500 µL d'eau distillée, suivi par 150µL de nitrite de sodium (NaNO₂) à 5%. Après 5 min ,150µL de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) à 10 % est ajouté au mélange. Après 6 min d'incubation à la température ambiante, 500µL d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 4% est additionné. Immédiatement, le mélange est complètement agité afin d'homogénéiser le contenu. L'absorbance est déterminée à 510 nm contre le blanc à l'aide d'un **spectrophotomètre SPECTROD 200 Plus**. Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme contrôle positif.

La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme (mg) équivalents de catéchine par gramme de la matière sèche (mg EC/g MS).

- Avant de faire les dosages des flavonoïdes de différentes fraction nous avant prépare une

gamme d'étalonnage avec la catéchine.

Les résultats obtenus exprimés en $\mu\text{g/ml}$, Concentration de flavonoïdes (équivalent de catéchine/mg d'extrait) déterminée à partir de la courbe étalon.

3.3. Dosage des tanins hydrolysables :

Principe : Le taux des tanins hydrolysables est déterminé par la méthode de Mole et Waterman (1987) qui est basée sur la réaction avec le chlorure ferrique.

Mode opératoire : Un volume de 1 ml de l'extrait est mélangé avec 3.5 ml de la solution de FeCl_3 (1.62 g est dissous dans 0.01M de HCl). Le mélange donne une coloration rouge violette au complexe d'où la formation des ions (Fe^{+3}). L'absorbance a été lue à 660 nm après 15 secondes. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalents d'acide gallique par g de la matière sèche à partir de la courbe d'étalonnage (mg EAG/ g MS).

- Avant de faire les dosages des tanins hydrolysables de différentes fraction nous avant prépare une gamme d'étalonnage avec l'acide gallique.

4.5. Dosage des tanins condensés :

Principe : La quantité des tanins condensés est déterminée par la méthode de vanilline en milieu acide (**Julkunen-titto, 1985**). Cette méthode est basée sur la capacité de vanilline en présence d'HCl à réagir avec les tanins, l'absorbance est mesurée à 550 nm.

Mode opératoire : Un volume de 50 μL de l'extrait dilué est ajouté à 1500 μL de la solution vanilline/méthanol (4%) puis mélangé à l'aide d'un vortex. Ensuite, 750 μL de l'acide chlorhydrique concentré (HCl) est additionné. Le mélange obtenu est laissé réagir à la température ambiante pendant 20 min à l'abri de la lumière. L'absorbance est mesurée à 550 nm contre le blanc à l'aide d'un **spectrophotomètre SPECORD 200 Plus**. Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme contrôle positif. Les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalents de la catéchine par gramme de la matière sèche (mg EC/g MS).

- Avant de faire les dosages des tanins condensés de différentes fraction nous avant prépare une gamme d'étalonnage avec la catéchine.

4.6. Dosage des flavonols (après flavonoïdes):

Principe : Le dosage des flavonols a été réalisé par la méthode de Kumaran et al. (2007).

Mode opératoire : Une prise de 0.25 ml de l'extraits brut est mélangé avec 1.5 ml d'acétate de sodium à

50 mg/ml et 0.25 ml de $AlCl_3$ à 2 mg/ml. Le mélange est homogénéisé et incubé à température ambiante durant 150 min. L'absorbance est lue à 440 nm.

Le contenu en flavanols est exprimé en milligramme (mg) équivalents de quercétine par gramme du poids de la matière sèche (mg QE/ g MS).

- Avant de faire les dosages des flavanols de différentes fraction nous avant prépare une gamme d'étalonnage avec la quercétine.

5. Etude d'activité biologique :**5.1. Capacité antioxydant totale (CAT) :**

Principe : La CAT de l'extrait brut des fruits immatures de *P. atlantica* a été examiné par la méthode de phosphomolybdène de Prieto et al., (1999).

Mode opératoire : Un volume de 300 μ l de l'extrait dilué a été ajouté à 3 ml de solution de réactif (acide sulfurique 0.6M, phosphate de sodium 28 mM et molybdate d'ammonium 4 mM). Les tubes ont été fermés et incubés à 95 °C pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance des solutions a été mesurée à 695 nm contre le blanc qui contient 3 ml de la solution CAT et 0.3 ml du l'eau distillée et il a été incubé dans les mêmes conditions que l'échantillon.

- Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant

L'acide ascorbique comme contrôle positif. Les valeurs de la CAT sont exprimées en milligramme équivalents d'acide ascorbique par gramme de matière sèche (mg EAA/g MS).

5.2. Etude statistique :

data were tested by one-way ANOVA and tukey post hoc tests. Values with different superscript letters (a,b,c,d) are significantly different at $P > 0.05$, $P < 0.001$.

RESULTATS

1. Rendements des fractions :

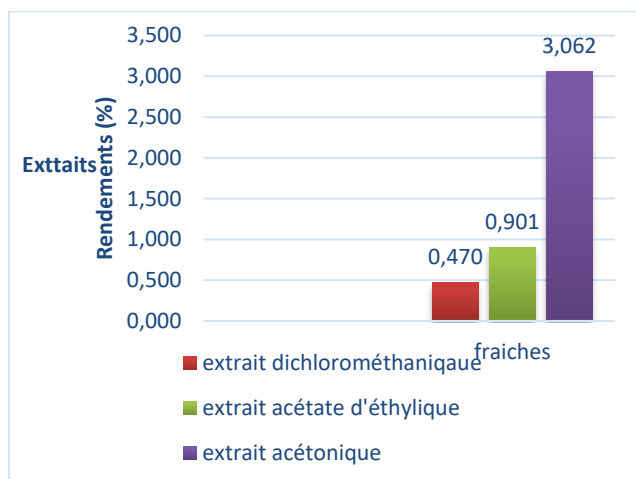


Figure 20: Histogramme qui montre les Pourcentages des rendements des petales de safran après la macération dans différents solvants.

Interprétation :

➤ **Le rendement :**

Après extraction et récupération des extraits, leur rendement a été déterminé par rapport à 85,69 g de matière végétale exprimé en pourcentage, L'histogramme de la figure 16 résume les rendements des trois fractions récupérées.

Selon les résultats en remarque que la fraction **cétonique** présente le rendement le plus fort (3,0618 %) suivie par la fraction **d'acétate d'éthyle** (0,901476 %) cependant le rendement le plus faible et celui de la fraction **Dichlorométhanique** (0,47 %). Ce résultat signifie que les composés phénoliques sont mieux extraits avec l'acétone par rapport à l'acétate d'éthyle et dichlorométhane.

1.1.Dosage des polyphénols totaux dans les différentes fractions préparées :

Les teneurs en polyphénols dans les fractions étudiées ont été déterminées par une courbe d'étalonnage exprimées en est élaborée par une solution standard de l'acide gallique avec une formule de la régression linéaire $y = 4.5485x$ et coefficient de corrélation $R^2 = 0.9909$.

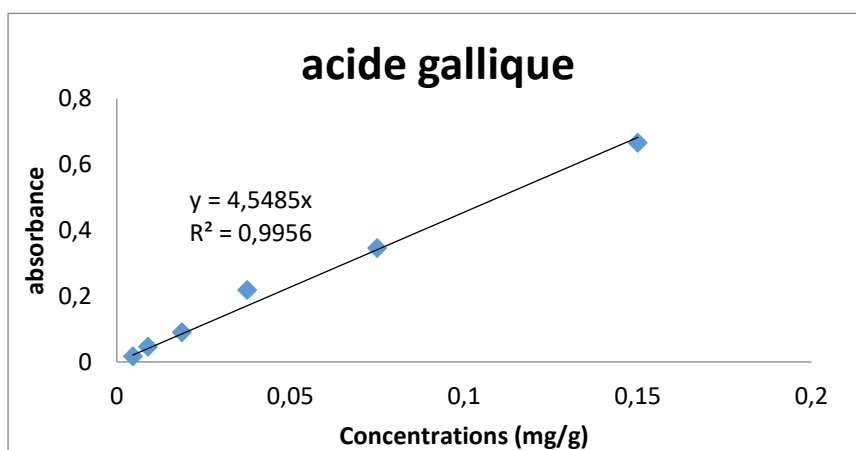


Figure 21: Courbe d'étalonnage (polyphenols).

Tableau 4 : Teneurs en polyphénols dans les trois fractions.

Fraction	Polyphenols (mg/g)
<i>dichlorométhanique</i>	11,05 ± 0,78
<i>acetate d' d'éthyle</i>	48,97±3,19
<i>acétonique</i>	7,34±0,10

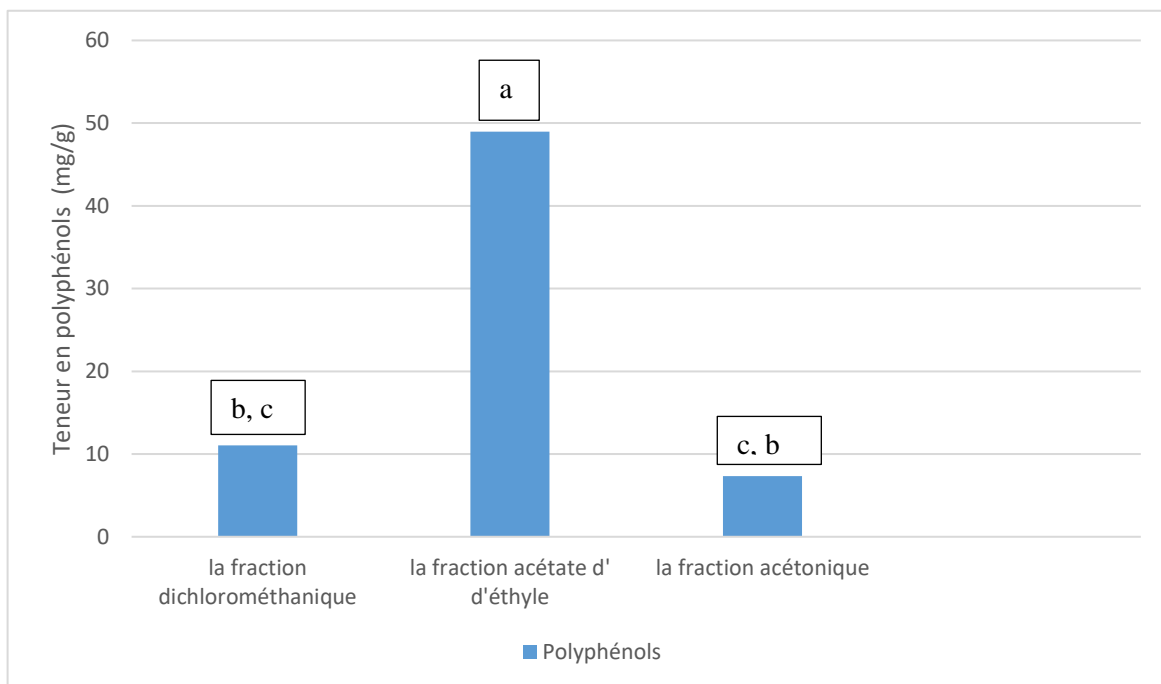


Figure 22 : Histogramme qui montre les teneurs en polyphénols dans les trois fractions obtenues par dichlorométhane, acétate d'éthyle et l'acétone.

Selon les résultats obtenus nous avons constaté que les fractions dichlorométhanique, cétonique et d'acétate d'éthyle contiennent des composés phénoliques, flavonoïdes, flavanolset tanins hydrolysable/condensés mais à des concentrations variables :

Selon les résultats obtenus d'après le test ANOVA nous avons constaté que la fraction acétonique est diminué d'une manière hautement significatif par rapport aux fractions d'acétate d'éthyle. Alors qu'elle est non significative par rapport au fraction dichlorométhanique, cependant la fraction d'acétate d'éthyle est augmentée d'une manier hautement significatif par rapport au fraction dichlorométhanique.

1.2.Dosage des flavonoïdes dans les fractions préparées :

Les teneurs en flavonoïdes des fractions étudiées ont été déterminées par une courbe d'étalonnage exprimées est élaborée par une solution standard de catéchine avec une formule de la régression linéaire $y = 1.1248x$ et coefficient de corrélation $R^2 = 0.9984$.

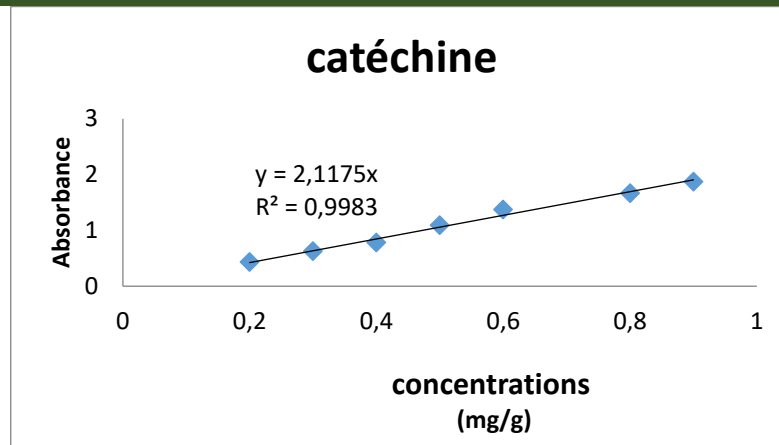


Figure 23: Courbe d'étalonnage (flavonoïdes).

Tableau 5: Teneurs en flavonoïdes totaux dans les trois extraits bruts de safran.

Fraction	Flavonoids(mg/g)
<i>dichlorométhanique</i>	75,17 ± 2,14
<i>acetate d'éthyle</i>	23,74 ± 4,11
<i>acétonique</i>	58,43 ± 0,55

Les tenures en flavonoïdes des fractions préparé sont présenté dans l'histogramme suivant :

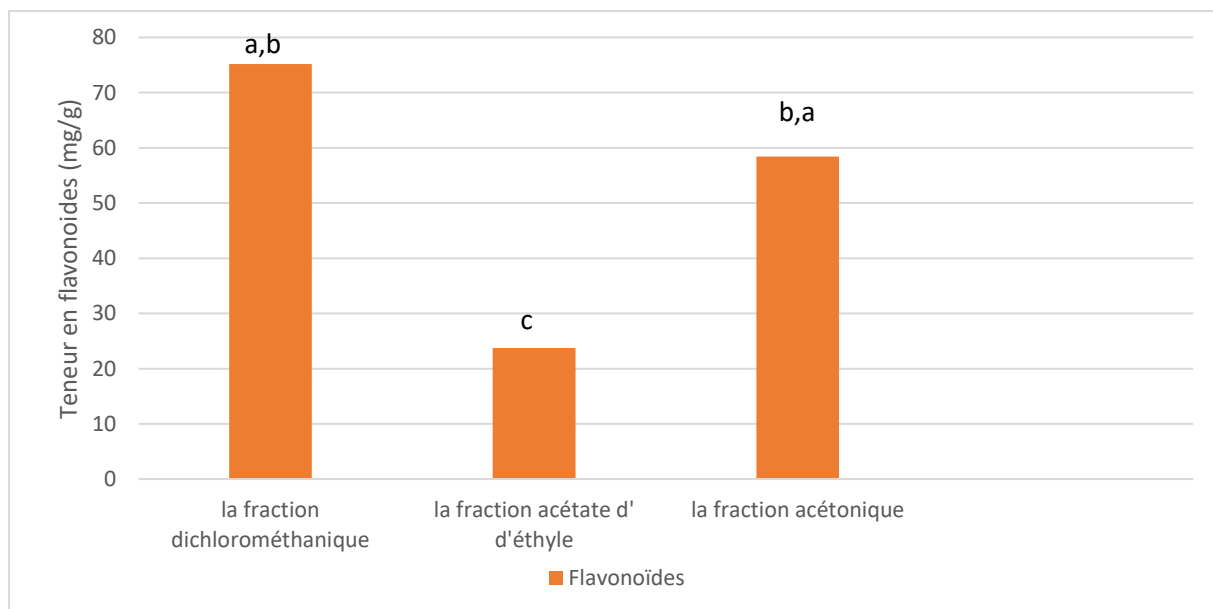


Figure 24: Histogramme qui montre la teneur en flavonoïdes totaux dans les trois fractions obtenues par dichlorométhanique, acétate, d'éthyle et cétonique.

data were tested by one-way ANOVA and tukey post hoc tests. Values with different superscript letters (a,b,c,d) are significantly different.

Selon nos résultats et le test ANOVA la fraction acétonique est augmenté d'une manière très significative par rapport aux fractions d'acétate d'éthyle, alors qu'elle non significative (aucune différence) par rapport au fraction dichlorométhanique, et en fin la fraction d'acétate d'éthyle est diminuée d'une manier hautement significatif par rapport au fraction dichlorométhane.

1.3.Dosage des tanins hydrolysables dans les fractions préparées :

Les teneurs en tanins hydrolysables dans les fractions du pétale du safran de l'espèce étudiées ont été déterminées par une courbe d'étalonnage réaliser par une solution standard de l'acide gallique avec une formule de la régression linéaire $y = 0.3375x$ et coefficient de corrélation $R^2 = 0.9925$.

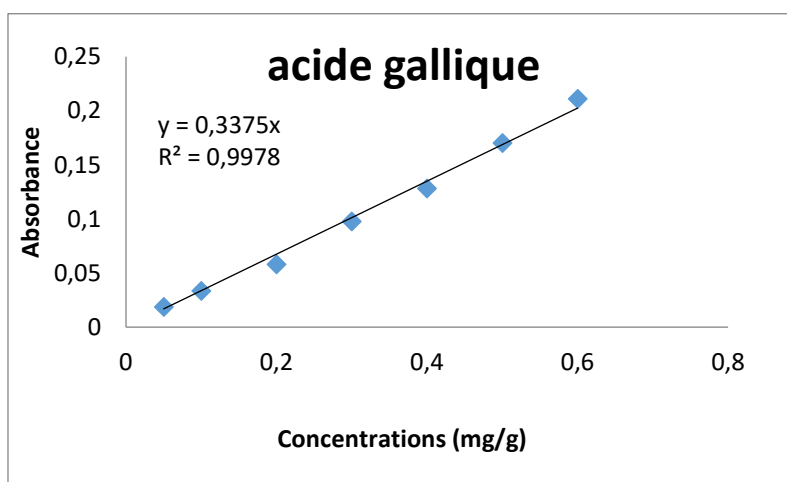


Figure 25 : Courbe étalon de tanins hydrolysables.

Tableau 6 : Teneurs en tanins hydrolysables dans les trois extraits bruts de safran.

Fraction	Tannins hydrolysable(mg/g)
<i>dichlorométhanique</i>	190,09 ± 23,37
<i>acetate d'éthyle</i>	87,34 ± 0,703
<i>acétonique</i>	476,12 ± 4,13

L'histogramme suivant présente le taux des tenures des différente fraction en tanins hydrolysable :

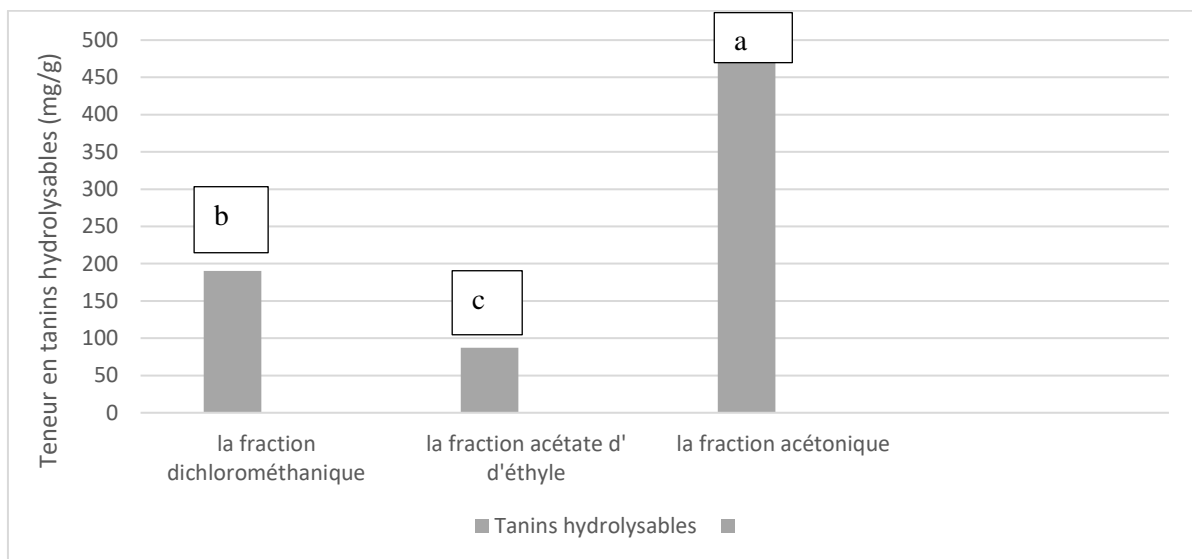


Figure 26: Histogramme qui montre les teneurs en tanins hydrolysables dans les trois extraits obtenus par dichlorométhanique, acétate d'éthyle et cétonique.

data were tested by one-way ANOVA and tukey post hoc tests. Values with different superscript letters (a,b,c,d) are significantly different.

Selon les résultats obtenus nous avons constaté que toutes les fractions préparées contiennent des composés tanins hydrolysables mais à des concentrations très variables.

A partir du test ANOVA on constate que la fraction acétonique est augmentée d'une manière hautement significative par rapport aux fractions d'acétate d'éthyle, en même temps elle est aussi augmentée d'une manière hautement significative par rapport au fraction dichlorométhanique. Cependant la fraction d'acétate d'éthyle est augmentée d'une manière hautement significative

1.4. Dosage des tanins condensés dans les fractions préparées :

Les teneurs en tannins condensés dans les fractions étudiées ont été déterminées par une courbe, Cette dernière est établie en utilisant la catéchine comme référence, La formule de la régression linéaire pour cette courbe est $y = 0.0889x + 0.0135$ et coefficient de corrélation $R^2 = 0.9983$.

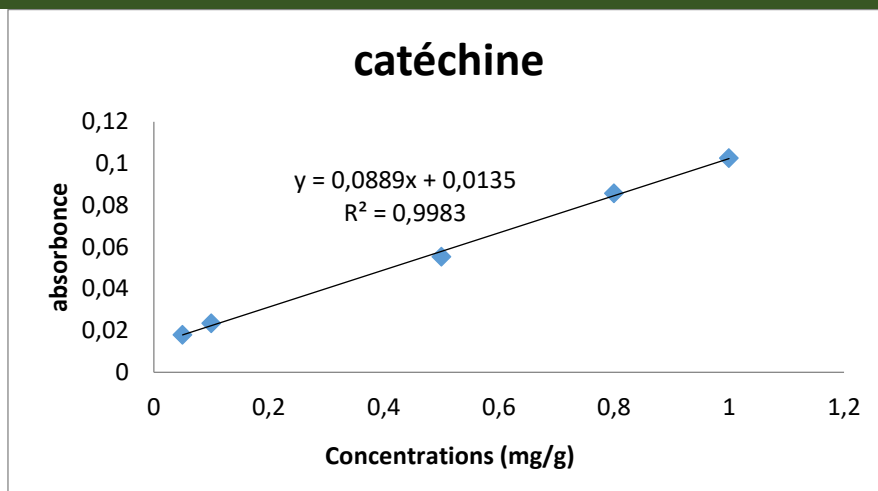


Figure 27: Courbe étalon de Tanins condensés.

Tableau 7: Teneurs en tannins condensés dans les trois extraits bruts de safran.

Fraction	Tannins condensés(mg/g)
<i>dichlorométhanique</i>	40,16 ± 2,10
<i>acétate d'éthyle</i>	8,68 ± 0,50
<i>acétonique</i>	8,62 ± 0,27

Les moyennes des tenures en tanins condensés sont représentées dans l’histogramme ci déçu :

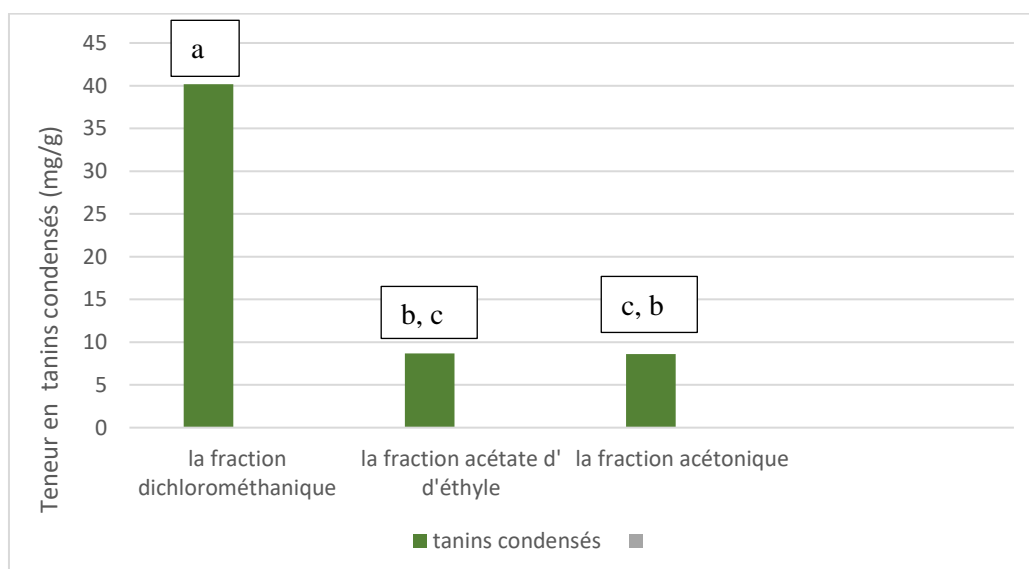


Figure 28: Histogramme qui montre les teneurs en tanins condensés dans les trois extraits obtenus par dichlorométhanique, acétate d’éthyle, acétonique.

data were tested by one-way ANOVA and tukey post hoc tests. Values with different superscript letters

(a,b,c,d) are significantly different.

D’après les résultats obtenus, nous avons constaté que toutes les fractions préparées contiennent des composés du tannins condensés mais comme les autres composés phénoliques la concentration varie entre les fractions.

Selon les résultats obtenus à partir du test ANOVA on constate que la fraction acétonique est non significatif par rapport aux fractions d’acétate d’éthyle (aucune différence), alors qu’elle est diminuée d’une manière significatif par rapport au fraction dichlorométhanique. Et pour la fraction d’acétate d’éthyle elle est diminué d’une manière significatif par rapport au fraction dichlorométhanique

1.5.Dosage des flavonols dans les fractions préparées :

La courbe d’étalonnage du flavonol est élaborée par une solution standard a base du quercétine à des concentrations différentes. La formule de la régression linéaire de cette courbe est de $y = 1.8696x + 0.0351$ et coefficient de corrélation $R^2 = 0,9786$.

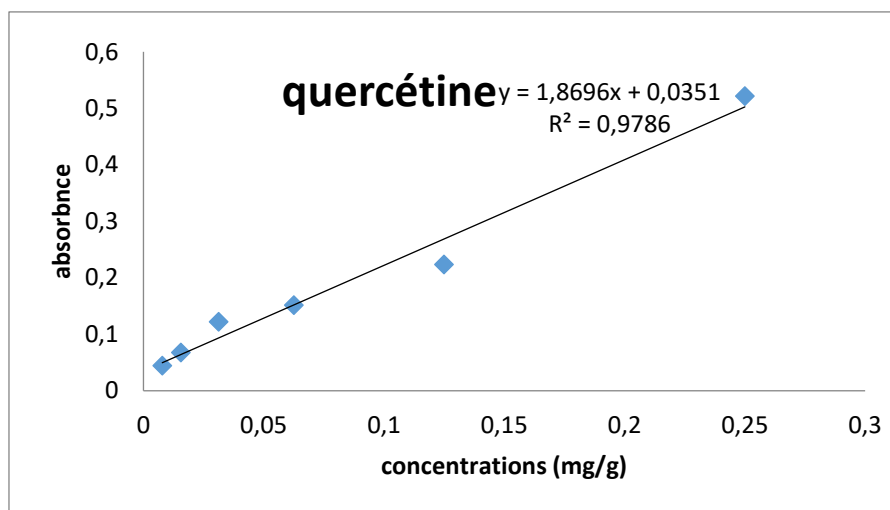


Figure 29 : Courbe étalon de flavonols.

Tableau 8: Teneurs en flavonols dans les trois extraits bruts de safran.

Fraction	Flavonols(mg/g)
<i>dichlorométhanique</i>	12,35 ± 0,65
<i>acétate d' d'éthyle</i>	27,40 ± 0,69
<i>acétonique</i>	63,13 ± 2,81

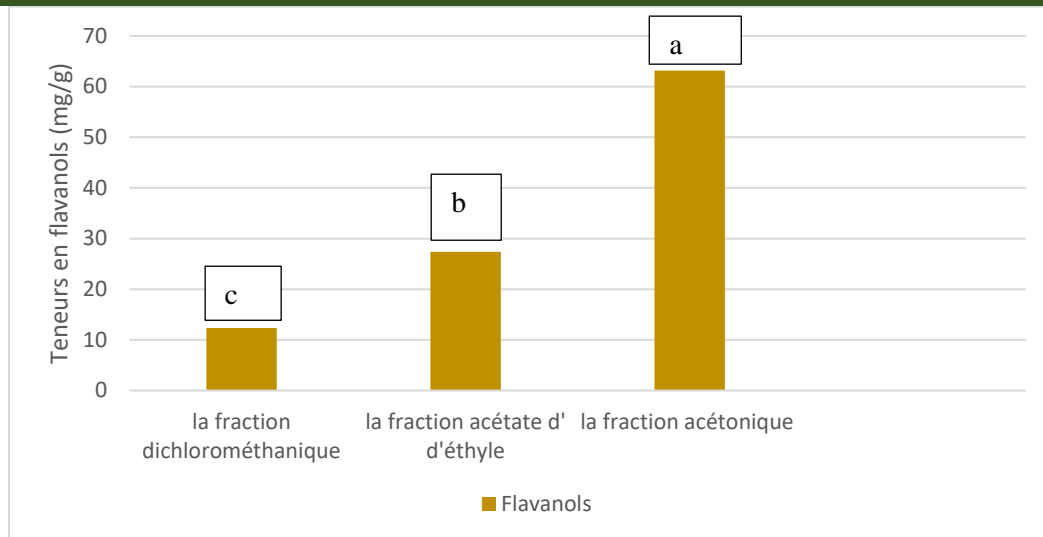


Figure 30: Histogramme qui montre les teneur en flavonols dans les trois extraits obtenus par dichlorométhanique , acétate d'éthyle, acétonique.

data were tested by one-way ANOVA and tukey post hoc tests. Values with different superscript letters (a,b,c,d) are significantly different.

Selon les résultats obtenus et par rapport au test ANOVA en constate que la fraction acétonique est augmenté d'une manière significative par rapport aux fractions d'acétate d'éthyle, alors quelle est augmenté d'une manière significative par rapport au fraction dichlorométhanique. En fin on a la fraction d'acétate d'éthyle qui est augmenté d'une manière hautement significative.

3.1. Capacité antioxydant totale (CAT) :

Taux de capacité antioxydante totale dans les extraits bruts de safran :

Les teneurs en capacité antioxydante totale dans les fractions brutes de safran des espèces étudiées ont été déterminées par un courbe d'étalonnage exprimées en est élaborée par une solution standard de quercétine avec une formule de la régression linéaire $y = 2.8554x$ et coefficient de corrélation $R^2 = 0.9956$.

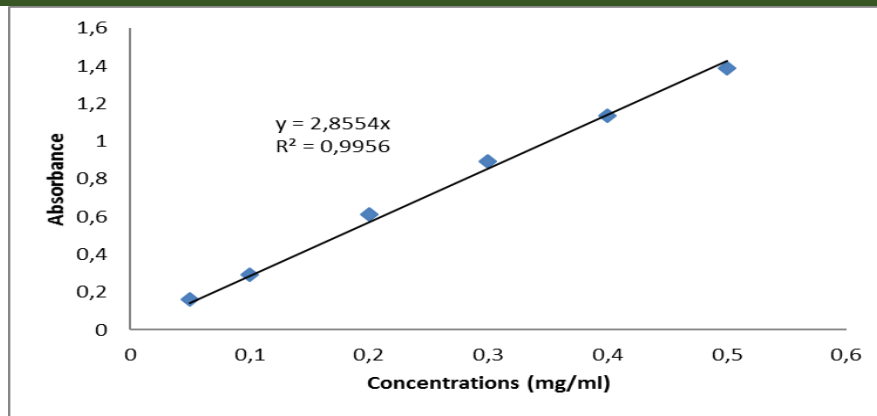


Figure 31: Courbe étalon de capacité antioxydante totale.

Tableau 9: Teneurs en capacité antioxydante totale dans les trois extraits bruts de safran.

Fraction	Capacité antioxydante totale(mg/g)
<i>dichlorométhanique</i>	5,07 ± 0,22
<i>acétate d' d'éthyle</i>	6,17 ± 0,05
<i>acétonique</i>	28,92 ± 0,61

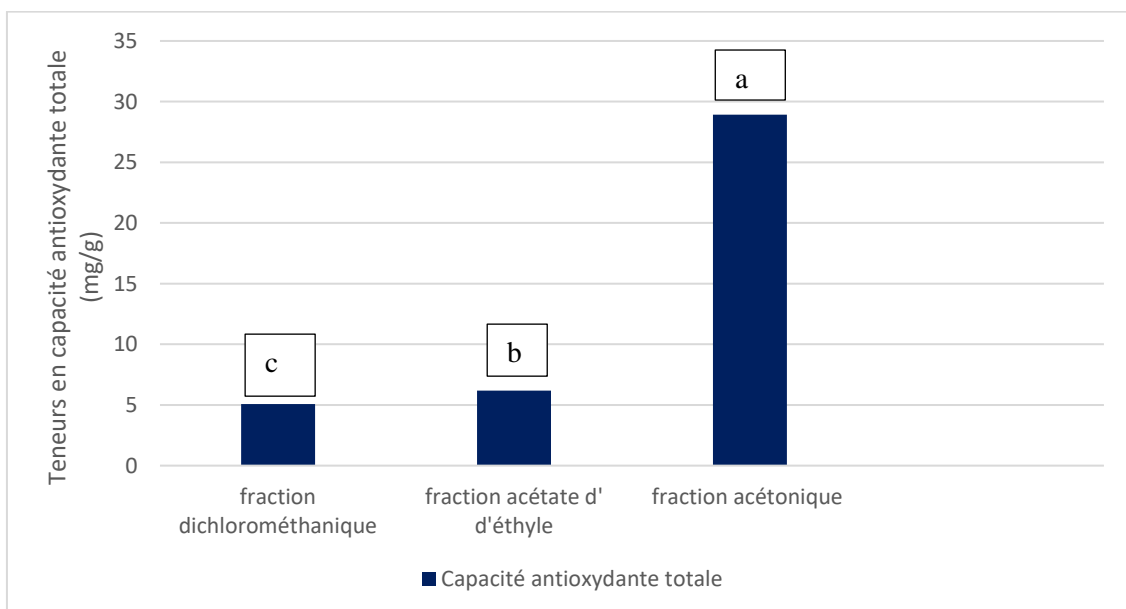


Figure 32: Histogramme qui montre les teneur en capacité antioxydante totale dans les trois extraits obtenus par dichlorométhanique , acétate d'éthyle, acétonique.

data were tested by one-way ANOVA and tukey post hoc tests. Values with different superscript letters (a,b,c,d) are significantly different.

Selon les résultats obtenus on remarque que les trois fractions possèdent une capacité antioxydante mais ca varie d'une fraction a une autre.

Selon les résultats du test ANOVA on constate que la fraction acétonique augmente d'une manière hautement significative par rapport aux fractions d'acétate d'éthyle, alors quelle est augmenté d'une manière significative par rapport au fraction dichlorométhanique. En suite on a la fraction d'acétate d'éthyle qui augmente d'une manière significatif par rapport au fraction dichlorométhanique.

Résultats généraux des teneurs :

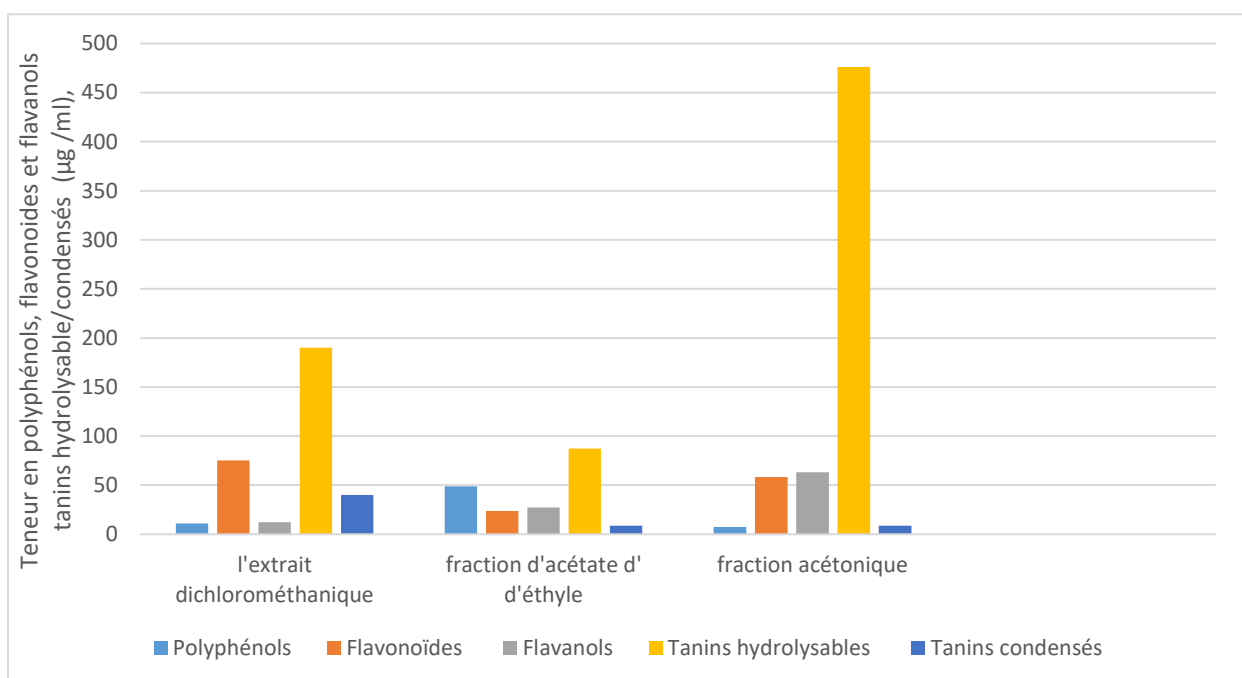


Figure 33: Histogramme qui montre les teneurs en polyphénols, flavonoïdes, flavonols et tanins hydrolysables/condensés dans les fractions dichlorométhanique, l'acétate d'éthyle et l'acétone du safran.

Discussion

Les polyphénols suscitent un intérêt croissant de la part des consommateurs et des fabricants de produits alimentaires pour plusieurs raisons car plusieurs études épidémiologiques ont suggéré des associations entre La consommation d'aliments ou de boissons riches en polyphénols et la prévention de plusieurs maladies (Augustin et Gary 2000).

Ils sont des métabolites secondaires largement répandus de plantes, présents en différente concentration dans toutes leur partie (Beta et al., 2005).

L'objectif de notre travail est de faire porter une étude phytochimique des fractions dichlorométhanique, acétate d'éthyle et acétonique des pétales du safran en déterminant leur teneur en polyphénols, flavanols, flavonoïdes, tanins Hydrolysable/condensés ainsi que l'évaluation de leur CAT et en fin de déterminé quelle solvant et le meilleur extracteur de telle molécule étudiant.

Nous avons réalisé des dosages quantitatifs des polyphénols, flavanols, flavonoïdes, tanins hydrolysable/condensés. Avant de faire les dosages on a préparé les fractions avec la méthode de la macération a froide (solide liquide).

Après on a calculé le rendement de chaque fraction, ou on a observé que la fraction cétonique a donné le rendement le plus fort, (3,06%) ça signifie que les composés phénoliques sont mieux extraits avec l'acétone par rapport à l'acétate d'éthyle et dichlorométhane. Contrairement aux fractions d'acétate d'éthyle qui a donné un très faible rendement de (0,90%) par rapport à celle de **kumar, et al (2011)**, (6,28%), cela remonte au fait que le safran utiliser dans leur étude est récolté à partir de la région de pampore (kashmir) qui est connus pour ça haute qualité d'espèce du safran, du sol et même la météo qui est la plus favorable pour le safran.

Selon les résultats de dosage nous constatons que les pétales du safran sont très riches en composés phénoliques mais leur extraction dépend sur le solvant utilisée car après le teste ANOVA nous a montré que la fraction dichloromethanique est la plus favorable pour l'extraction des flavonoïdes avec une teneur de (75,17 mg/g), cette teneur et inferieur à celle de (**lahmass et al, 2017**) (166 mg/g) et ça revient au qualité d'espèce est des méthodes d'extraction et l'état de séchage des pétales, contrairement à la fraction d'acétate d'éthyle qui a la teneur la plus faible (23,74 mg/g). La faible teneur de la fraction d'acétate d'éthyle en flavonoïdes est compatible avec d'autres études (**kumar, et al 2011**).

De même la fraction d'acétate d'éthyle est la plus favorable pour l'extraction des polyphénols avec une teneur de (48,97 mg/g). Ce qui est logique pare ce que l'acétate d'éthyle est un solvant de polarité moyenne alors que l'acétone est le dichlorométhane sont apolaire, Ce résultat est un peu supérieur à celle du lahmass et al, 2017 (42mg/g) ce résultat peut avoir une relation soit avec la méthode d'extraction ou bien la différence d'état de séchage des pétales. Cependant l'extrait dichloromethanique extraite moins de polyphénols (11,05 mg/g). Alors que la fraction cétonique présente l'extraction la plus faible des polyphénols (7,34 mg/g).

Ensuite on a la fraction acétonique qui est la plus favorable pour l'extraction des flavonols des pétales du safran avec une teneur de 63,13 (mg/g). Ce résultat est compatible avec ce que **Jadouali, S.M., et al (2018)** et **Serrano-Díaz et al. (2012)** son trouvé qu'elle varie entre (12,17 et 60.64 (mg/g)) malgré la différence du solvant utiliser.

Intéressamment les tanins hydrolysables sont les composés les plus abondants parmi les composés phénoliques qu'on a étudiés car dans les trois fractions préparées on a une teneur importante, mais l'extrait qui est le plus favorable et qui a la teneur la plus importante en tanins hydrolysables est la fraction cétonique avec une teneur de (476,12 mg/g) par rapport aux autres fractions. Cependant les tanins condensés sont extraits le plus avec la fraction dichlorométhane (40,16 mg/g)

De plus les extraits des pétales de *Crocus Sativus L* sont également évalués pour leur activité antioxydante, D'après la figure 31 nous avons constaté que les trois fractions ont CAT, Ce résultat est logique car d'après les dosages faits les pétales sont riches en molécules phénoliques qui sont des antioxydants majeurs, cependant la fraction cétonique a la meilleure (CAT) (28,92 mg/g). Ce résultat revient au fait que la fraction cétonique est très riche en molécules phénoliques et surtout les tanins hydrolysables, qui possèdent une forte activité antioxydante, ce sont de très bons piègeurs des radicaux libres et inhibent la formation du radical superoxyde (**Bediaga, 2011**).

Conclusion

Au terme de cette étude, compte tenu des résultats obtenus et face aux objectifs que nous sommes fixée, il est nécessaire de cité des points.

Les polyphénols sont des molécules qui ont d'importantes propriétés anti-oxydants. Les sous-produits agro-industriels plus spécifiquement les pétales du safran sont de bonnes sources de composés phénoliques.

L'étude phytochimique que nous avons réalisés à partir des pétales de *crocus sativus* L récolté de la région de Tlemcen ont révélé la richesse des sous-produits (pétales) de cette plante en molécules bio active (polyphénols flavonols, flavonoïdes, tanins hydrolysable/condensés) avec des concentrations variables parfois très importante comme les tanins hydrolysables qui sont les plus abondante parmi toutes les molécules bioactives étudié. Ce qui suggéré de l'exploité pour des usages divers notamment dans pharmacologie ou en fabrication des encres.

Les pétales frais, du safran peuvent être considérés comme une source de composés bioactifs aux propriétés nutraceutiques, ayant une capacité antioxydante souvent similaire ou supérieure à celle de certains légumes et fruits. Car notre étude sur la capacité antioxydante a montré que les pétales du safran cultivé dans la région de Tlemcen ont une fort capacité antioxydante contre les radicaux libres qui peut assurer une protection des organes (foie, reins, poumon et cœur) de certains dommages causés par les radicaux libres. Le pétale de safran est moins cher et produit en grande quantité par rapport à la stigmatisation du safran, il peut donc être considéré comme une source appropriée à différentes fins.

Concernant les solvants d'extraction leur teneur a été variable d'une molécule phénolique a une autre. Cette différence revienne à la solubilité des composés extraite avec les solvants, de la composition chimique des solvant et molécules phénolique (concept de la polarité). Les polyphénols étaient présents le plus dans la fraction d'acétate d'éthyle (meilleur extracteur parmi les trois solvants) alors que les flavonoïde et les tanins condensés ont été les plus abondante dans la fraction dichlorométhanique. Pour la fraction acétonique en trouve les tanins hydrolysables et les flavonols en teneur importante par rapport aux deux autres fractions. En fin pour l'étude d'activité biologique la fraction acétonique a présenté la capacité antioxydante la plus importante. Cette étude nous a montré que les pétales du safran sont Rich en molécules bio active et que parmi les trois fractions étudié la fraction acétonique est la plus riche en molécule antioxydante.

Dans l'ensemble, les pétales du safran sont riches on molécule bioactive bénéfique à la santé du Lhomme qui doivent être exploité et non négliger.

References

A

- Abdullaev F (2006).** Biological properties and medicinal use of saffron. *ISHS Acta Hort.* 739:339–345.
- Abrishami MH (1987).** Understanding of Iranian Saffron, 1st ed.; Tous: Tehran, Iran.
- Akhondzadeh S, Tamacebi-Pour N, Noorbala A A, Amini H, Fallah Pour H, Jamshidi A H, Khani M (2005).** Crocus sativus L. in the treatment of mild to moderate depression: a double-blind, randomized and placebo-controlled trial. *Phytother. Res.* 19 : 25–29
- Akhondzadeh BA, Khondzadeh S; Ghoreishi S, Noorbala A, Rezazadeh S (2008).** Petal and Stigma of Crocus sativus L. in the Treatment of Depression: A Pilot Double—Blind Randomized Trial. *J. Med. Plant. Res.* 7 : 29–36.
- Akhondzadeh S, Harirchian, M, Shaffie-Sabet M (2010).** Saffron in the treatment of patients with mild to moderate Alzheimer's disease: A 16-week, randomized and placebo-controlled trial. *J. Clin. Pharm. Ther.* 35:581–588. [CrossRef]
- Akinhanmi TF, Atasié VN, Akintokun PO (2008).** Chemical composition and physicochemical properties of cashew nut (*Anacardium occidentale*) oil and cashew nut shell liquid. *J Agric, Food Environ Sci.* 2(1) : 1-10.
- Ait Oubahou A (2009).** Bonnes pratiques agronomiques de la conduite technique du safran dans la region de Taliouin—Taznakht ; FAO/TCP/MOR/320 ; ORMVA Ouarzazate : Ouarzazate, Marocco.
- Agenda Lumière (1930).** Paris : Société Lumière & librairie Gauthier-Villars, page 385.
- Alais C , Linden G (1997).** Abrégé de biochimie alimentaire. Masson (Paris) France p :247.
- Anthony T(1979).** «Methylene Chloride», dans Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, New York, New York, 3e éd., A Wiley-Interscience Publication, John Wiley & Sons.p:686-693.
- Augustin Scalbert, Gary Williamson (2000).** Laboratoire des Maladies Me´taboliques et Micronutriments, INRA, 63122 Saint-Genes-Champanelle, France and Institute of Food Research, Norwich Research Park, Colney, Norwich NR4 7UA, U.K ; Dietary Intake and Bioavailability of Polyphenols, *J. Nutr.* 130: 2073S-2085S DOI: [10.1093/jn/130.8.2073S](https://doi.org/10.1093/jn/130.8.2073S).
- Azizi, H. (2018).** Valorisation de la culture du safran en Algérie. In Tozanli, S., Étude du marché algérien intérieur et import/export de la pistache, de la cêpre, de l'amande amère et du safran (p. 75). PAP ENPARD Algérie.

B

- Bathaie S, Bolhassani A, Khavari A (2013).** Saffron and natural carotenoids: Biochemical activities and anti-tumor effects. *Biochim. Biophys. Acta* 1845 pp :20–30.
- Bediaga M., (2011).** etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia* smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Thèse de doctorat, université de Bamako, P.10.
- Bennetau-Pelissero C (2014).** Polyphénols et voies de signalisation, données récentes. Cahiers de nutrition et de diététique <http://dx.doi.org/10.1016/j.cnd.2014.02.004>.
- BENSEGHIER, K., & KHAMED, O. (2014).** huiles alimentaires de graines *Pinus pinea* Extraction et Caractérisation

physico-chimique.

Beta T, Nam S, Dexter JE, Sapirstein HD (2005). Phenolics content and antioxidant activity of pearled wheat and Roller-Milled fractions. *Cereal chem.* 82: 390-393.

Botsoglou NA, Florou PP, Nikolakakis I, Giannenas I, Dotas V, Botsoglou EN, Aggelopoulos S (2005). Effect of dietary saffron (*Crocus sativus* L.) on the oxidative stability of egg yolk. *Br. Poult. Sci.* 46: 701–707.
[CrossRef] [PubMed]

Brandao M G L, Grandi T S M, Rocha E M M, Sawyer D R , Krettli A U (1992). Survey of medicinal plants used as antimalarials in the Amazon. *Journal of Ethnopharmacology* 36: 175 - 182.

Bretherick I (1999). Handbook of reactive chemical hazards, 6 e éd. Oxford, ButterworthHeinemann Ltd pp: 429-430.

Brouillard R (1986). The flavonoids *Advances. Research science* p: 525-538.

Bruneton J (1997). Pharmacognosie : phytochimie, plants médicinaux. Impr. CEE. P : 314- 334

C

Cardon D. (2003). "Le monde des teintures naturelles". Belin. Paris.

Ch.-A. Wurtz, Dict (1869-1878). de chimie pure et appliquée t. 1, p : 31.

Kirk-othmer (2004). *Encyclopedia of chemical technology*, 5 éd., vol. 1. New York : Wiley Interscience e pp: 160-177.

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

DOI : <https://doi.org/10.3406/jatba.1926.4436>.

Churchill, D G (2006). Chemical structure and accidental explosion risk in the research laboratory. *Journal of Chemical Education*, 83(12), 1798.

Collin S, Crouzet J (2011). Agence universitaire de la francophonie. Polyphénols et procédés : Transformation des polyphénols au travers des procédés appliqués à l'agroalimentaire. Edition Lavoisier, p :13.

Conrad, J., Vogler, B., Reeb, S., Klaiber, I., Papajewski, S., Roos, G., Vasquez, E., Setzer, M. C., and Kraus, W., (2001). Isoterchebulin and 4, 6-O- Isoterchebulloyl-D- glucose, novel hydrolyzable tannin from *Terminalia macroptera*. *J. Nat. Prod.* 64, 294-299

Cowan MM (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbiol Re*, 12 (4) : 564- 582.

Crozier A (2003). Classification et biosynthèse de produits végétaux secondaires : un aperçu. Dans les plantes "régime alimentaire et santé". Ed. Goldberg. P : 27- 4.

CROZIER , Lisa , ZABEL , Richard W (2006). Climate impacts at multiple scales: evidence for differential population responses in juvenile Chinook salmon. *Journal of Animal Ecology*.p:1100-1109.

Crozier A, Jaganath I B, Clifford M N (2009). Dietary phenolic: chemistry, bioavailability and effects on health. *Journal of Natural Product Reports*. 26 : 1001-1043.

D

Dacosta E (2003). Les phytonutriments bioactifs. Yves Dacosta (Ed). Paris 317 : p.

Dar MH, Groach R, Razvi S M, Singh N (2017). “Saffron Crop (Golden Crop) in Modern Sustainable Agricultural Systems”, *International Journal for Research in Applied Science & Engineering Technology (IJRASET)*, Volume 5 Issue X1. pp: 247 – 259.

Daudt, C. E., & Ough, C. S. (1973). Variations in some volatile acetate esters formed during grape juice fermentation. Effects of fermentation temperature, SO₂, yeast strain, and grape variety. *American Journal of Enology and Viticulture*, 24(3), 130-135.

Davis P H (1984). Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Edinburgh. University Press. 8: 413-438.

D D, Fong H H S (2005). Bioactive constituents from roots of *Bursera tonkinensis*. *Phytochemistry* 66: 2745 - 2751.

Del Rio D, Rodriguez-Mateos A, Spencer JPE, Tognolini M, Borges G, Crozier A (2013). Dietary (Poly)phenolics in human health: Structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. *Antioxidants & Redox Signaling*.18(14):1818-1892.
DOI : 10.1089/ars.4581.

Descheemaeker K, Provoost C (2011). L’impact de la nutrition sur la santé screening of some species of Iranian plants. *Iranian journal of pharmaceutical research*. p: 77-82.

Dupont G (2007). Abrégé de botanique systématique moléculaire. 14e édition. Masson Ed. In Claire Palomares. P: 108 in.

DIBY, Y. B., Mama, K. O. N. E., N’DIA, K. F., GBOGBO, M., & YAPO, A. P. (2017). Étude des propriétés pharmacologiques de l'extrait acétate d'éthyle des écorces de tige de *Spondias mombin* L.(Anacardiaceae) sur l'activité mécanique intestinale du lapin. *Afrique SCIENCE*, 13(2), 307-318.

E

E Favre (2008). « Le safran - l'anti kilo l'anti déprime », Terre d'hommes Ed. P:177.

Eghdami K, Erfanparast A, Farshid AA, Samadi F, Tamaddonfard E (2013). Comparison of the effects of crocin, safranal and diclofenac on local inflammation and inflammatory pain responses induced by carrageenan in rats. *Pharmacol. Rep.* 65: 1272–1280.

Erdogan S, Celik S, Erdogan Z (2004). Seasonal and locational effects on serum, milk, liver and kidney chromium, manganese, copper, zinc, and iron concentrations of dairy cows. *Biol Trace Elem Res.* 98 : 51-61.

F

Fleuriet A; Jay-Allemand C; Macheix JJ; (2005). Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. *Presses polytechniques et universitaires romandes* pp:121-

Florence Chang (2004). Dichlorométhane. In HSDB. US NLM, Date de publication (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>).

François Nsemi MUANDA (2010). Ecole doctorale SESAMES THESE Présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur de l'Université Paul Verlaine-Metz SPÉCIALITÉ : Chimie organique Par François Nsemi MUANDA IDENTIFICATION DE POLYPHENOLS, EVALUATION DE LEUR ACTIVITE ANTIOXYDANTE ET ETUDE DE LEURS PROPRIETES BIOLOGIQUES. P :89.

G

Gresta F, G M Lombardo, L Siracusa , G Ruberto (2008). Saffron, an alternative crop for sustainable agricultural systems. A Review Agronomy for Sustainable Development, Springer Verlag/EDP Sciences/INRA. 28(1): 95-112.

Giaccio M (2004). Crocetin from saffron. An active component of an ancient spice. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 44 : 155–172. [CrossRef] [PubMed]

Golmohammadzadeh S, Jaafari MR, Hosseinzadeh H(2010). Does saffron have antisolar and moisturizing effects? Iran. J. Pharm. Res. 9:133–140. [PubMed]

Guignard JL (1996). Abrégé de biochimie végétale, Ed. Masson, Paris, 160 p.

García-Sánchez F, A Romero-Martínez , A Trejo (1989). «Vapour pressure, critical temperature, and critical pressure of dichloromethane», J. Chem. Thermodyn., n° 21.p: 823-826.

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

H

Humphries J (1998). The Essential Saffron Companion. Ten Speed Press, Berkeley, CA

Hussain, J., Jamila, N., Gilani, S. A., Abbas, G., & Ahmed, S. (2009). Platelet aggregation, antiglycation, cytotoxic, phytotoxic and antimicrobial activities of extracts of *Nepeta juncea*. *African Journal of Biotechnology*, 8(6).

Hill T (2004). The Contemporary Encyclopedia of Herbs and Spices: Seasonings for the Global Kitchen, Wiley, p: 272, ISBN 0-471-21423-X

Hosseinzadeh H, Nassiri-Ask M (2013). Avicenna's (Ibn Sina) the Canon of Medicine and Saffron (*Crocus sativus*): A review. *Phytother. Res.* 27: 475–783. [CrossRef]

Hamidreza P, Marjan A, Rouhollah H, Shahriar E, Soltan A (2010). Effect of *Crocus sativus* on gentamicin induced nephrotoxicity. *Biol. Res.* 43:83–90.

Hemmati Kakhki A; Rahimi S (1994). Extraction of anthocyanin from petals of saffron (*Crocus sativus L.*)

and its stability in a model beverage. Iranian Research Organization for Science.

Harbone J B, Grayer R J (1988). The flavonoids, Advances. Research science: 1-20 p.

Hosseinzadeh H, Shamsaie F, & Mehri S (2009). Antioxidant activity of aqueous and ethanolic extracts of *Crocus sativus* L. stigma and its bioactive constituents, crocin and safranal. *Pharmacognosy Magazine*. 5(20): 419.

Hosseinzadeh H, Molaei M, Shakeri M, Rajabi O, Shamsa A (2009). Evaluation of *Crocus sativus* L. (saffron) on male erectile dysfunction: A pilot study. *Phytomedicine* 16 : 690–693.

Hoshyar R, Mollaei H (2017). A comprehensive review on anticancer mechanisms of the main carotenoid of saffron, crocin. *J. Pharm. Pharmacol.* 69 :1419–1427.

Hawley GG (1971). The Condensed Chemical Dictionary, New York, New York, 8e éd., Van Nostrand Reinhold Co. p: 572-573.

Hassane Makhoul, Mariam Saksouk, Jean Habib, Ramez (2011). Chahine; Determination of antioxidant activity of saffron taken from the flower of *Crocus sativus* grown in Lebanon, Laboratory of Oxidative Stress and Antioxidant, Faculty of Medical Sciences, Lebanese University, Lebanon. 19 May DOI: [10.5897/AJB11.406](https://doi.org/10.5897/AJB11.406)

Harbone J B (1967). Comparative biochemistry of the flavonoids. Academic press. New York, 1-130 p.

Hosseinzadeh H, Ziaee T, Sadeghi A (2008). The effect of saffron, *Crocus sativus* stigma extract and its constituents, safranal and crocin on sexual behaviors in normal male rats. *Phytomedicine*. 15:491-5.

Hosseinzadeh H, Younesi H (2002). Petal and stigma extracts of *Crocus sativus* L. have antinociceptive and anti-inflammatory effects in mice. *BMC Pharmacol.* 2:7.

J

Jadouali, S.M., et al. Chemical characterization and antioxidant compounds of flower parts of Moroccan *Crocus sativus* L.. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences* (2018), <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2018.03.007>

Jamila Hadj Salem (2009). Extraction, identification, caractérisation des activités biologiques de flavonoïdes de *Nitraria retusa* et synthèse de dérivés acylés de ces molécules par voie enzymatique. Autre. Institut National Polytechnique de Lorraine. Français. ffNNT : 2009INPL057Nff. Fftel-01748769

Jan S, AA Wani, A N Kamili, M Kashtwari (2014). Distribution, chemical composition and medicinal importance of Saffron (*Crocus Sativus* L.). *African Journal of Plant Science*. 8(12): 537-545. 751.

JM Brignon, s schucht, c denize; jw Brignon (2015). Dichlorométhane. Données technico-économiques sur les substances chimiques en France. INERIS (<https://substances.ineris.fr/fr/>). Consulté le 23/05/2022 à 18 :4

Jarrige R , Ruchebusch Y , Demarquilly C , Faree M H , Journet M (1995). Nutrition des ruminants domestique. Paris, INRA Edition

Joseph J , Cole G , Head E , Ingram D (2009). Nutrition, brain aging, and neurodegeneration. *J. Neurosci.*

29: 12795–12801. [CrossRef]

Judd, W S, C C S, K E A, S P F, D M J (2002). Plant systematics, a phylogenetic approach. Sinaver Associates, Inc. Publishers, second edition. PP: 241-267.

Julkunen-Titto R (1985). "Phenolic constituents in the leaves of northern willows methods for the analysis of certain phenolics" Journal of Agricultural and Food chemistry, Vol.

Jutiviboonsuk A, Zhang H, Tan T G, Ma C, Van Hung N, Cuong NM, Bunyapraphatsara N, Soejarto D, Fong H H S, (2005). Bioactive constituents from roots of *Bursera tonkinensis*. *Phytochemistry* 66: 2745 -

K

Kiran Kumari SP V, Sridevi MVV, Chandana Lakshmi, M Manasa (2012). Comparative studies and elemental analysis of fertilizer effected medicinal plant samples using Sem-Eds. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 3: 214-222.

Khorasanchi Z , Shafiee M Kermanshahi F , Khazaei M , Ryzhikov M, Parizadeh MR, Kermanshahi B, Ferns GA, Avan A, Hassanian SM (2018). *Crocus sativus* a natural food coloring and flavoring has potent anti-tumor properties. *Phytomedicine* 43, 21–27.

Kumaran, AR, Karunakaran J (2007). In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. *LWT - Food Sci. Technol. (Lebensmittel-Wissenschaft -Technol.)*.

Kalesi M, Behboodi BS, Ebrahimzadeh H (2004). Development and contraction of contractile roots in *Crocus sativus*. *Acta Hort.* 650:55–58. [CrossRef]

Khazdair M.R, Anaeigoudari A, Hashemzahi M, Mohebbati R(2018). Neuroprotective potency of some spice herbs, a literature review. *J. Tradit. Complément. Med.* 9 : 98–105. [CrossRef] [PubMed]

Kafi M, Rashed M, Kocheiki A(2001). Saffron, production and processing. Ferdowsi university of mashhad.

L

LABBANI (2021). L3-BPV-FSNV/UFMC Biochimie végétale / Chp 4: Composés phénoliques

Lahmass, I.; Lamkami, T.; Delporte, C.; Sikdar, S.; Van Antwerpen, P.; Saalaoui, E.; Megalizzi, V (2017). The waste of saffron crop, a cheap source of bioactive compounds. *J. Funct. Foods*, 35, 341–351. [CrossRef]

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

M

MARSDEN C (1963). Solvents guide. Londres, Cleaver Hume Press Ltd pp:240-247.

Mousavi SH, Tavakkol-Afshari J, Brook A, Jafari-Anarkooli I (2009). Role of caspases and Bax protein in saffron-induced apoptosis in MCF-7 cells. *Food Chem. Toxicol.* 47 : 1909–1913.

Mole S, Waterman,PG (1987). Tannins as antifeedants to mammalian herbivores: still

an open question? In: Waller GR (ed) Tannins in allelochemicals in agriculture and forestry.

American Chemical Society, Washington DC.

Murray CJ, Lopez AD (1997). Alternative projections of mortality and disability by cause 1990–2020: Global burden of disease study. *Lancet* 24: 1498–1504. [CrossRef]

MANGAS JJ, RODRÍGUEZ R, SUAREZ B, PICINELLI A, DAPENA E(1999). Study of the phenolic profile of cider apple cultivars at maturity by multivariate techniques. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, October vol. 47, no. 10, p:4046-4052.

Moghaddasi M S (2010). Saffron chemicals and medicine usage. *J. Med. Plants Res.* 4 : 427–430

M.Rahimi (2015). «Chemical and Medicinal Properties of Saffron», *Bull.Env. Pharmacol. Life Sci.* P 69-81.

Munawar Abbas, Farhan Saeed, Faqir Muhammad Anjum, Muhammad Afzaal, Tabussam Tufail, Muhammad Shakeel Bashir, Adnan Ishtiaq, Shahzad Hussain, Hafiz Ansar, Rasul Suleria (2016). Natural Polyphenols: An Overview, *International Journal of Food Properties*, DOI: 10.1080/10942912.2016.1220393

Maiga A, Diallo D, Fane S, Sanogo R, Paulsen B S, Cisse B (2005). A survey of toxic plants on the market in the district of Bamako, Mali: traditional knowledge compared with a literature search of modern pharmacology and toxicology. *Journal of Ethnopharmacology* 96: 183 - 193.

Mousavi, S Z, Bathaie, S Z (2011). Historical uses of saffron : Identifying potential new avenues for modern. 1(2): 57–66.

Murković M (2003). Phenolic compounds. U: *Encyclopedia of food sciences and nutrition*. Caballero, B., Fingla, P., Toldra, F., ured. 2 :4507-4513.

Macheix JJ , Fleuriet A , JAY-allemend C (2005). Les composés phenoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaire d'importance économique. Ed. Presses polytechnologiques et universitaires romandes, France, 192 p.

Mougin I. (1999). "Le safran *Crocus sativus* L. Iridacees". Faculté de médecine et de pharmacie. Besançon

Mzabri I, Charif K, Rimani M, Kouddane N, Boukroute A, Berrichi A (2021). History , biology , and culture of *Crocus sativus* : Overview and perspectives. *Arabian Journal of Chemical and Environmental Research.* 08(01): 1–28.

Mzabri, Ibtissam, Addi M, Berrichi, A (2019). Traditional and modern uses of saffron (*Crocus sativus*). *Cosmetics.* 6(4): 1–11. <https://doi.org/10.3390/COSMETICS6040063>.

Mehta B M, Borkhatriya V N, Boghra V R (2002). “Saffron : the colouring and flavouring agent in dairy and food industry.”. *Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences.* 24 (4): 1038-1049.

N

N K Fahim, F Javad (2012). “Chemical composition of agriproduct saffron (*Crocus sativus* L.) petals and its

considerations as animal feed,” GIDA, vol. 37, no. 4, pp. 197–201.

O

Olatunji G (2000). Diterpene lactone from the heartwood of Daniella Oliveri. *Cellulose chemistry and technology* 34 : 505-507.

Ordoudi S A, Tsimidou M (2007). *Saffron Quality : Effect of Agricultural Practices , Processing and Storage* SAFFRON QUALITY : EFFECT OF AGRICULTURAL PRACTICES , PROCESSING AND STORAGE (Vol. 739568, Issue January 2014). <https://doi.org/10.1007/1-4020-2533-5>.

P

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

Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2(5), 270-278.

Premkumar K, Abraham SK, Santhiya ST, Ramesh A (2003). Protective effects of saffron (*Crocus sativus* L.) on genotoxinsinduced oxidative stress in Swiss albino mice. *Phytother. Res.*17: 614–617. [CrossRef] [PubMed]

Parviz E, A Abbas, A Yaddolahi, M M Maibodi (2004). Productivity, growth and quality attributes of 10 Iranian saffron accessions under climatic conditions of Chahar-Mahal Bakhtiari, Central Iran. *Acta Horticulturae*. 650: 183-188.

Petko Ivanov PENCHEV (2010).tude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions ;THÈSE En vue de l'obtention du DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE Délivré par Institut National Polytechnique de Toulouse Discipline ou spécialité : Génie des Procédés et de l'Environnement.

Prieto P, Pineda M, amp,Aguilar M (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*.

Potì F, Santi D, Spaggiari G, Zimetti F, Zanotti I (2019). Polyphenol Health Effects on Cardiovascular and Neurodegenerative Disorders: A Review and Meta-Analysis. *Int. J. Mol. Sci.* 20:351. [CrossRef] [PubMed]

Podsdek A,Wilka-jeska J,Anders B, Markowski J (2000). Compositional characterization of some apple varieties. *Europea Food Research Technology*, February vol. 210, no 4, p:268-272.

R

Rahimi M (2015). Chemical and medicinal properties of saffron. *Bull. Environ.Pharmacol. Life Sci.* 4: 69-81.

Remler, R. F. (1923). The Solvent Properties of Acetone. *Industrial & Engineering Chemistry*, 15(7), 717-720.

Ribéreau-Gayon, P. (1964). L'acetate c'ethyle dans les vins, son dosage par chromatographie en phase gazeuse. *Qualitas plantarum et materiae vegetabiles*, 11(2), 249-255.

R Kumar, V Singh, K Devi, M Sharma, M K Singh, P S Ahuja (2008). State of Art of Saffron (*Crocus sativus* L.) Agronomy: A Comprehensive Review, *Food Rev. Int.* 25:44-85.

Riverón NL (2002). The combination of natural and synthetic agents: A new pharmacological approach in cancer chemoprevention. *Proc. West. Pharmacol. Soc.* 45, 74–75.

S

Sánchez-Vioque R, Rodríguez-Conde M, Reina-Ureña, J, Escolano-Tercero M, Herraiz-Peñalver, D Santana-Méridas O (2012). In vitro antioxidant and metal chelating properties of corm, tepal and leaf from saffron (*Crocus sativus* L.). *Industrial Crops and Products.*39:149-153.

Schieber A (2017). Side streams of plant food processing as a source of valuable compounds: Selected examples. *Ann. Rev. Food Sci. Technol.* 8: 97–112.

Serrano-Díaz, J., Sanchez Ana, M, Maggi, L., Martinez-Tome, M., Garcia-Diz, L., Antonia Murcia, M., Alonso Gonzalo, L., (2012). Increasing the applications of *Crocus sativus* flowers as natural antioxidants. *J. Food Sci.* 77 (11).

Seidel, T., & Shavelson, R. J. (2007). Teaching effectiveness research in the past decade: The role of theory and research design in disentangling meta-analysis results. *Review of educational research*, 77(4), 454-499.

Sumaira A, Rahman H U (2013). Biological activities of *Prunuspersica* L. batch, *Journal of Medicinal Plants Research.* 7 (11): 987-951.

Singleton, V L, J A Rossi, J A, (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents *Am J Enol Vitic.*

SM Jadouali, H Atifi, Z Bouzoubaa, K Majourhat, S Gharby, F Achemchem, A Elmoslih, A Laknifli R(2018). Mamouni Chemical characterization, antioxidant and antibacterial activity of Moroccan *Crocus sativus* L petals and leaves, *J. Mater. Environ. Sci.* 9 (1) pp. 113-118.

Sainvitu P, Nott K, Richard G, Blecker C, Jérôme C, Wathelet J P, Paquot M, Deleu M (2012). Structure, properties and obtention routes of flaxseed lignan secoisolariciresinol: a review. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ* 16(1) p:115-124.

Sun J, Khtan B, Huang S-H, Whiteman M, Zhu Y-Z (2002). Effects of natural products on Eschismic heart diseases and cardiovascular system. *Acta. Pharmaco* 23 :1142- 1151.

Seidel A - Kirk-Othmer (2007). encyclopedia of chemical technology. 26 volumes. New-York : John Wiley and Sons

SHOJI T, MUTSUGA M, NAKAMURA T, KANDA T, AKIYAMA H, GODA Y (2003). Isolation and structural elucidation of some procyanidins from apple by lowtemperature NMR. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, June vol 51, no. 13, p:3806-3813.

Spencer J P E (2003). Modulation of Pro-survival Akt/Protein Kinase B and ERK1/2 Signaling Cascades by

Quercetin and Its in Vivo Metabolites Underlie Their Action on Neuronal Viability. *Journal of Biological Chemistry* 278:34783-34793.

Shadmehri AA, Namvar F, Miri H, Yaghmaei P, Moghaddam MN (2019). Cytotoxicity, Antioxidant and Antibacterial Activities of Crocus Sativus Petal Extract. *International Journal of Research in Applied and Basic Medical Sciences*. 5: 69- 7.

Sorenson JRJ (2002). Cu, Fe, Mn, and Zn, chelates offer a medicinal chemistry approach to overcoming radiation injury. A review *Curr Med Chem*. 9: 639-662.

Srivastava R, Ahmed H, Dixit R, Dharamveer, Saraf S, Crocus sativus L A (2010). comprehensive review. *Pharmacogn. Rev.* 4 : 200–208.

T

Tabrizi S, Mortazavi SA, Kamalinejad M (2003). An in vitro evaluation of various Rosa damascena flower extracts as a natural antisolar agent. *Int. J. Cosmet. Sci.* 25: 259–265. [CrossRef] [PubMed]

Tamaddonfard E, Erfanparast A, Farshid AA, Imani M, Mirzakhani N, Salighedar R, Tamaddonfard S (2019). Safranal, a constituent of saffron, exerts gastro-protective effects against indomethacin-induced gastric ulcer. *Life Sci.* 224 :88–94. [CrossRef]

Tapiero H, Nguyen Ba G, Tew K D Estrogens, environmental estrogens (2002). *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 56: 36-44.

Tavakkol-Afshari J, Brook A, Mousavi SH (2008). Study of cytotoxic and apoptogenic properties of saffron extract in human cancer cell lines. *Food Chem. Toxicol.* 46: 3443–3447.

Tedjini, R., Ziani, B. E., Casimiro, T., Viveiros, R., Calhelha, R. C., Barros, L., ... & Silva, A. M. (2021). Hemisynthesis of novel (S)-carvone hydrazone from *Carum carvi* L. essential oils: Structural and crystal characterization, targeted bioassays and molecular docking on human protein kinase (CK2) and Epidermal Growth factor Kinase (EGFK). *Journal of Molecular Structure*, 1246, 131220.

Tozanli S (2018). Étude du marché algérien intérieur et import/export de la pistache, de la câpre, de l'amande amère et du safran.

Tsimidou M, Tsatsaroni E (1993). "Stability of saffron pigments in aqueous extracts." *J. Food Sci.*, 58 (5): 1073-1075.

V

Verschoeren K (1983). *Handbook of Environmental Data on Organic Chemicals*, New York, New York, Van Nostrand Reinhold Co.

Verschoren, A. (1983). Exact sequences for relative Brauer groups and Picard groups. *Journal of Pure and Applied Algebra*, 28(1), 93-108.

Vijender Kumar, Bhat ZA*, Dinesh Kumar, Shah MY, Chashoo IA, Khan NA, (2011). Physicochemical

and Preliminary Phytochemical Studies on Petals of *Crocus sativus* 'Cashmerianus' Department of Pharmaceutical Sciences, University of Kashmir, Srinagar-190006, India
10.5530/pj.23.7

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

W

Willard P (2002). *Secrets of Saffron: The Vagabond Life of the World's Most Seductive Spice*. Beacon Press, Boston, MA

W G Gutheil, G Reed, A Ray, S Anant, A Dhar (2012). Crocetin: an agent derived from saffron for prevention and therapy for cancer, *Curr. Pharm. Biotechnol.* 13: 173-179..

Wollgast J, Anklam E (2000). Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International* 33: 423 - 447.

Y

Yanik M, Kocyigit A, Tutkun H, Vural H, Herken H (2004). Plasma manganese, selenium, zinc, copper, and iron concentrations in patients with schizophrenia. *Biol Trace Elem Res*. 98: 109-117.

Z

Zhao ZH (1998). *Principle of Geochemistry*; Chinese Science Press: Beijing.

Zhang Z, Wang C-Z, Wen X-D, Shoyama Y, Yuan C-S (2013). Role of saffron and its constituents on cancer chemoprevention. *Pharm. Biol.* 51:920–924.

Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals.

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

Zubor ÁA , Surányi G, Gyóri Z , Borbély G , Prokisch J (2004). Molecular biological approach of the Systematics of *Crocus sativus* L. and its allies. *Acta Hort.* 650:85–93. [CrossRef]

Site web

Inrs (2021). Dichlorométhane Fiche toxicologique n°34 Fiche Généralités, dernière mise à jour **Décembre 2021** visité le 20/5/2022 à 22 :34 https://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_34

الملخص

تعتبر بتلة الزعفران أرخص ثمناً ويتم إنتاجها بكميات كبيرة مقارنة بوصمات الزعفران، لذلك يمكن اعتبارها مصدرًا مناسبًا لأغراض مختلفة. لهذا، ويهدف تقييم هذه المخلفات الحيوية، نحن مهتمون بإجراء هذه الدراسة في هذه الدراسة تمت دراسة المركبات النشطة بيولوجيا المختلفة (البوليفينول، الفلافونول، الفلافونيدات، التانينات القابلة للتحلل بالماء والعفص المكثف) والقدرة المضادة للأكسدة من ثنائي كلورو ميثان، أسيتات الإيثيل والأسيتون من بتلات الزعفران. تم تحضير الكسور بطرق السوكسليت والنقع. أظهرت النتائج وجود الجزيئات النشطة بيولوجيا التي تمت دراستها في الكسور الثلاثة ولكن بتركيزات متغيرة. كان البوليفينول أكثر تواجداً في جزء أسيتات الإيثيل بينما كانت مركبات الفلافونويد والعفص المكثف أكثر وفرة في جزء ثنائي كلورو ميثان. بالنسبة لجزء الأسيتون، يوجد حمض التانينات والفلافونول القابل للتحلل بالماء بمحتوى مرتفع مقارنة بالكسرين الآخرين. في نهاية دراسة النشاط البيولوجي، قدم جزء الأسيتون أهم قدرة مضادة للأكسدة. أوضحت لنا هذه الدراسة أن بتلات الزعفران غنية بالجزيئات النشطة بيولوجيا وأن جزء الأسيتون من بين الكسور الثلاثة التي تمت دراستها هو الأغنى في الجزيئات المضادة للأكسدة.

Résumé

Le pétale de safran est moins cher et produit en grande quantité par rapport aux stigmates du safran, il peut donc être considéré comme une source appropriée à différentes fins. Pour cela, et dans l'objectif de valoriser ces bio résidus on s'intéresse a réalisé ce travaille.

Dans cette étude, les différents composés bioactifs (les polyphénols, flavonols, flavonoïdes, tanins hydrolysable et tanins condensés) et la capacité antioxydante des fractions dichlorométhane, acétate d'éthyle et acétonique des pétales de safran ont été étudiées. Après délipidation nous avons réalisé un fractionnement par des solvants de polarité croissante. Les résultats mettent en évidence la présence des molécules bioactives étudiées dans les trois fractions mais a des concentrations variables. Les polyphénols étaient présents le plus dans la fraction d'acétate d'éthyle alors que les flavonoïde et les tanins condensés ont été les plus abondante dans la fraction dichlorométhane. Pour la fraction acétonique en trouve les tanins hydrolysables et les flavonols en teneur importante par rapport aux deux autres fractions. En fin pour l'étude d'activité antioxydante la fraction acétonique a présenté la capacité antioxydante la plus importante. Cette étude nous a montré que les pétales du safran sont riches en molécules bioactives et que parmi les trois fractions étudiées la fraction acétonique est la plus riche en molécule antioxydante.

Mots clé : Safran, pétales, capacité antioxydante, dosage des molécules bioactive, polyphénols, extraction, macération, soxhlét.

Abstract

Saffron petal is cheaper and produced in large quantities compared to saffron stigmas, so it can be considered as a suitable source for different purposes. For this, and with the aim of valuing these bio residues, we are interested in carrying out this study.

In this study, the different bioactive compounds (polyphenols, flavonols, flavonoids, hydrolyzable tannins and condensed tannins) and the antioxidant capacity of the dichloromethane, ethyl acetate and acetone fractions of saffron petals were studied. The fractions were prepared by the methods of soxhlet and maceration. The results highlight the presence of the bioactive molecules studied in the three fractions but at variable concentrations. Polyphenols were present the most in the ethyl acetate fraction while flavonoids and condensed tannins were the most abundant in the dichloromethane fraction. For the acetone fraction there are hydrolysable tannins and flavonols in a high content compared to the other two fractions. In the end for the study of biological activity the acetone fraction presented the most important antioxidant capacity. This study showed us that saffron petals are rich in bioactive molecules and that among the three fractions studied, the acetone fraction is the richest in antioxidant molecules.

