



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche scientifique  
Université ABOU BEKR BELKAID-Tlemcen



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de  
l'Univers

Département de Biologie

# Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie

**Option :**

« Science des aliments »

**Thème :**

Contribution à l'étude de la qualité de l'huile de lin (*linum  
usitatissimum*) par des méthodes physico-chimiques

Présenté par : Mlle MESSAOUDI Ahlem

Soutenu le 22/06/2017, Devant le jury composé de :

Mme Chaouche Haddouchi Farah	Maitre de Conférences B	Présidente
Mr Elhaci Imad Abdlhamide	Maitre de Recherche B (CRAPC, Tipaza)	Examinateur
Mr Chaouche Mohammed Tarik	Maitre Assistant B	Encadreur

Année universitaire : 2016/2017

## Dédicaces

### Dédicaces

*Je dédie ce modeste travail à celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, à ma mère ...*

*A mon père, écolé de mon enfance, qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager à me donner aide et protection.*

*Que dieu les garde et les protège.*

*A ma très chère sœur Badra, pour son aide physique et morale qu'elle m'a apporté et que je lui souhaite un avenir radieux pleins de réussite.*

*A mes chers frères Abed Nour, Boumediene, Feth Allah en reconnaissance de l'aide physique qu'ils m'ont apporté.*

*A tout ceux qui m'ont donné un coup de main et à tous les proches de mon cœur : Issam, Zolikha, Souad, Amina, walid*

*Enfin à toute ma promotion de Master2.*

# Remerciements

## Remerciements

Ce travail a été réalisé au Laboratoire des Produits Naturels sous la direction de Monsieur ***CHAUCHE Mohammed Tarik***.

Je tiens particulièrement à remercier mon encadreur Monsieur ***CHAUCHE Mohammed Tarik***, Maître Assistant classe B au département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers, pour son conseil, son commentaire et sa bienveillance. Qu'il soit assuré de ma profonde gratitude pour m'avoir guidée et aidée tout au long de la réalisation de ce mémoire. Son dynamisme pour la recherche des produits a été pour moi une source de motivation.

Je tiens à exprimer ma très grande considération et ma vive reconnaissance à Madame ***CHAUCHE Haddouchi Farah***, Maître de conférences B au département de biologie, faculté des sciences, Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen, de m'avoir fait l'honneur de présider ce jury.

J'exprime mes vifs remerciements à Monsieur ***ELHACI Imad Abdlhamide***, Maître de Recherche B, (CRAPC, tipaza), d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Mes sentiments de reconnaissances et mes remerciements vont également à l'encontre de toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

## Résumé

L'objectif de cette étude est l'extraction et la caractérisation physico-chimique d'huile de graine de lin (*Linum usitatissimum*). L'extraction d'huile de graine de lin par la méthode chimique Soxhlet (extrait à l'hexane) a donné un rendement en huile de l'ordre de 33.54%. Concernant les résultats des caractères physicochimiques on a trouvé que la valeur de l'indice d'acide est de 0.81 mg/g d'huile, l'indice de saponification est de 173.51 mg de KOH /g d'huile, 171.33 g/100 g d'huile pour l'indice d'iode et 0.69 méq d'O<sub>2</sub>/kg d'huile pour l'indice de peroxyde, ainsi que la densité égale à 0.932 à 20 ° C et l'indice de réfraction égale à 1.4735 à 20 ° C.

Ensuite, une extraction des composés phénoliques a été effectuée par une macération à froid du marc. Le rendement en extrait hydro-méthanolique était de 4.33%, suivi par le dosage des phénols totaux de cet extrait qui est donné par une teneur estimée à 1.02 mg équivalent de l'acide gallique par gramme de matière sèche.

Enfin, une étude de l'activité antioxydante de l'huile et de l'extrait hydro-méthanolique a été réalisée par la méthode de piégeage du radical libre DPPH. Les résultats obtenus ont montré l'existence d'une activité antioxydante puissante (IC<sub>50</sub>=15.648 µg/ml) pour huile de grain lin par rapport à l'antioxydant de référence (BHA), par contre l'extrait hydro-méthanolique montre une l'activité antioxydante très faible.

**Mots clés :** *Linum usitatissimum*, Soxhlet, Caractères physicochimique, Composés phénoliques, DPPH, Activité antioxydante.

## Abstract

The objective of this study is to extract the physico-chemical characterization of linseed oil (*Linum usitatissimum*). The extraction of linseed oil by the chemical method Soxhlet (extract with hexane) gave a yield of oil around 33.54%. Concerning the physicochemical characteristics results, it was found that the value of the acid number is 0.81 mg / g of oil, the saponification number is 173.51 mg of KOH / g of oil, 171.33 g / 100 g of oil for the iodine value and 0.69 meq of O<sub>2</sub> / kg of oil for the peroxide number, as well as a density of 0.932 at 20 ° C and a refractive index of 1.4735 to 20 ° C.

Then, extraction of the phenolic compounds was carried out by cold maceration, the yield of hydro-methanolic extract was 4.33%, followed by the determination of total phenol of this extract which is given by an estimated content of 1.02 mg equivalent of gallic acid per gram of dry matter.

Finally, a study of the antioxidant activity of the oil and the hydro-methanolic extract was carried out by the method of trapping the free radical DPPH, the results obtained revealed that there is an existence of a very powerful antioxidant activity (IC<sub>50</sub>=15.648 µg/ml) for linseed oil compared to reference antioxidants (BHA), on the other hand the hydro-methanolic extract shows a very low antioxidant activity.

**Keywords:** *Linum usitatissimum*, Soxhlet, Physico-chemical characterization, Phenolic compounds, DPPH, Antioxidant activity.

## ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو استخراج الخصائص الفيزيائية والكيميائية من زيت بذور الكتان (*Linum usitatissimum*).

استخراج زيت بذور الكتان من خلال الطريقة الكيميائية سوكليت (مستخلص الهكسان) اعطى عائد من الزيت حوالي 33.54%. فيما يتعلق بنتائج الخصائص الفيزيائية والكيميائية وجد أن قيمة المؤشر الحمضي هي 0.81 مغ/غ من الزيت، قيمة التصيين هي 173.51 مغ من KOH/غ من الزيت، 171.33 غ/100غ من الزيت لمؤشر اليود و0.96  $\text{m}^2/\text{g}$  من الزيت لمؤشر البروكسيد، كما ان الكثافة تساوي 0.932 في 20 درجة مئوية ومؤشر الانكسار يساوي 1.4735 في 20 درجة مئوية.

ثم، جرى استخراج المركبات الفينولية من قبل النقع البارد، كان العائد من المستخلص المائية الميثانول 4.33%، يليه تحديد اجمالي الفينولات من هذا المستخلص والتي تعطي من قبل المحتويات المقدره الى 1.02 ملغ تعادل حمض الغاليك في كل غرام من المواد الجافة.

وأخيرا، تم اجراء دراسة النشاط المضاد للاكسدة للزيت والمستخلص المائية الميثانول باستخدام طريقة محاصرة DPPH الجذور الحرة، أظهرت النتائج المتحصل عليها وجود نشاط مضاد للاكسدة قوي جدا ( $\text{IC}_{50}=15.648$ ) ميكروغرام / مل) لزيت بذور الكتان مقارنة مع المواد المضادة للاكسدة المرجعية (BHA)، ويظهر المستخلص الميثلي نشاط مضاد للاكسدة ضعيف جدا.

**كلمات البحث:** *Linum usitatissimum*، سوكليت، الخصائص الفيزيائية والكيميائية، المركبات الفينولية، DPPH، النشاط المضاد للاكسدة.

# Table des matières

Liste des figures	
Liste des photos	
Liste des tableaux	
<b>Introduction générale</b> .....	1
<b>Partie 1 : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
<b>Chapitre 1 : Description de la plante du lin</b>	
1. Historique .....	5
2. Classification .....	5
3. Description générale de lin .....	6
4. Le plan morphologique .....	7
5. Biologie et écologie .....	7
6. La culture du lin .....	7
7. Variété du lin .....	8
8. La composition du lin .....	8
9. Utilisation de lin .....	9
<b>Chapitre 2 : Huile de lin</b>	
1. Introduction .....	10
2. Composition et caractéristique d'huile de lin .....	11
3. Utilisation et bienfait d'huile de lin .....	12
<b>Chapitre 3 : Activité antioxydante et les polyphénols</b>	
1. Activité antioxydante .....	14
1.1. Définition d'un radical libre .....	14
1.2. Définition d'un antioxydant .....	14
1.3. Les principales sources d'antioxydant .....	14
1.3.1. Les antioxydants naturels .....	14
1.3.2. Les antioxydants synthétiques .....	14
1.4. Les types d'antioxydants .....	15
1.4.1. Les antioxydants primaires ou piègeur des radicaux libre .....	15
1.4.2. Les antioxydants secondaires ou préventifs .....	15
1.5. Mécanismes d'action des antioxydants .....	15

2. Les polyphénols .....	15
2.1. Classes des composés phénoliques .....	16
2.2. Propriétés biologiques des polyphénols .....	17

## **Partie 2 : MATERIEL ET METHODES**

1. Extraction de l'huile de lin .....	19
2. Analyses physiques .....	21
2.1. Densité relative .....	21
2.2. Indice de réfraction .....	22
3. Analyses chimiques .....	23
3.1. Indice d'acide .....	23
3.2. Indice de saponification .....	23
3.3. Indice de peroxyde .....	24
3.4. Indice d'iode .....	25
4. Extraction et teneur en composés phénoliques .....	26
4.1. Extraction des composés phénolique .....	26
4.2. Dosage des phénols totaux .....	27
5. Etude de l'activité antioxydante .....	28
5.1. Activité antioxydante des extraits .....	29

## **Partie3 : Résultat et Discussion**

1. Rendement d'extraction de l'huile de lin .....	31
2. Analyse physico-chimiques de l'huile de lin .....	31
2.1. Analyses physiques.....	31
2.1.1. La densité relative .....	31
2.1.2. Indice de réfraction .....	31
2.2. Analyse chimiques .....	32
2.2.1. Indice d'acide .....	32
2.2.2. Indice de saponification .....	32
2.2.3. Indice de peroxyde .....	32
2.2.4. Indice d'iode .....	32
3. Extraction et teneurs en composés phénoliques .....	32
3.1. Rendement en extrait .....	32
3.2. Dosage des phénols totaux .....	33

4. Etude de l'activité antioxydante .....	33
4.1. Activité antioxydante du BHA .....	34
4.2. Activité antioxydante d'extrait hydrométhanolique .....	34
4.3. Activité antioxydante d'huile de lin .....	35
Conclusion .....	37
Références bibliographiques .....	39

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Arrachage du lin, par un dignitaire et sa femme, Tombe de Sennedjem, Der el Medineh, XIXème dynastie .....	5
<b>Figure 2</b> : Planche botanique (a), photographie de capsules et de graines (b) de <i>Linum usitatissimum</i> .....	6
<b>Figure 3</b> : Fruit et graine de lin .....	7
<b>Figure 4</b> : Fleur bleue de <i>Linum Usitatissimum</i> .....	7
<b>Figure 5</b> : Culture du lin en champs (photo 1) et évolution du plant de lin en serre(photo2).....	8
<b>Figure 6</b> : Diagramme de l'utilisation du lin .....	9
<b>Figure 7</b> : Structure des oléosomes .....	10
<b>Figure 8</b> : La courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	33
<b>Figure 9</b> : Activité antioxydante du standard BHA.....	34
<b>Figure 10</b> : Courbe de % d'inhibition du DPPH par l'huile de lin .....	35

## Liste des photos

<b>Photos 1</b> : Montage Soxhlet .....	19
<b>Photos 2</b> : Rotavapeur .....	20
<b>Photos 3</b> : Le pycnomètre .....	21
<b>Photos 4</b> : Réfractomètre électronique .....	22
<b>Photos 5</b> : filtration de l'extrait de lin .....	26

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Classification du lin .....	5
<b>Tableau 2</b> : Composition chimique (%) des grains de lin .....	9
<b>Tableau 3</b> : Composition en acides gras de l'huile de lin .....	11
<b>Tableau 4</b> : Principales classes de composés phénoliques.....	16
<b>Tableau 5</b> : Dilution de la solution d'acide gallique à différente concentration .....	28
<b>Tableau 6</b> : Méthode de dosage des polyphénol totaux .....	28
<b>Tableau 7</b> : Paramètres physico-chimiques de l'huile de lin .....	31
<b>Tableau 8</b> : Taux d'inhibition du DPPH par l'extrait hydro- méthanolique .....	34

**INTRODUCTION**  
ИНТРОДУКЦИОН

**GENERALE**  
ГЕНЕРАЛТЕ

Les plantes ont été de tout temps les alliées de l'homme, d'abord pour se nourrir et aussi pour soulager ses maux. On sait que les plantes constituaient la base de la pharmacopée et de la thérapeutique des civilisations antiques (**Bouguerra, 2011**).

L'utilisation des plantes en phytothérapie est très ancienne et connaît actuellement une région d'intérêt auprès du public, selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (2003), environ 65-80% de la population mondiale à recours à la médecine traditionnelle pour satisfaire ses besoins en soins de santé primaire, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne (**MA et al., 1997**).

Les huiles, de manière générale, occupent une place importante dans le secteur agricole et agroalimentaire. La production d'huile végétale est considérée depuis plusieurs années comme l'une des filières les plus prometteuses pour la diversification des productions agricoles dans le domaine des applications alimentaires et non alimentaires.

Les observations épidémiologiques ainsi que les études nutritionnelles menées sur l'animal et sur l'homme ont montré que les huiles végétales alimentaires disposent de nombreux composants doués d'activités biologiques, nutraceutiques et thérapeutiques (**Belluzzi, 2002**).

Le lin, est considérablement employé dans le quotidien de la santé publique et énormément introduit en nutrition animale. Il n'est pas un nouvel aliment, il est un des plus anciens et peut-être, un des aliments originaux et précieux en raison de ses propriétés de guérison qui ont fait de lui une plante millénaire aux vertus médicinales. D'ailleurs, son nom latin « *Linum usitatissimum* » (lin de tous les usages) est amplement mérité. En outre, L'huile de lin est parmi les huiles les plus hautement insaturées. Elle représente la plus riche source végétale d'acide  $\alpha$ -linoléique, elle contient de l'acide linoléique, ce qui donne le rapport n-3/n-6 le plus élevé parmi toutes les sources végétales (**Tzang et al., 2009**).

Cette huile de lin est utilisée dans de nombreux domaines industriels comme la fabrication de peintures, de revêtement protecteur, de linoléum, d'encres, de savons, de mastics et de lubrifiants. Dans le domaine de l'alimentation, cette huile n'a pu être commercialisée que récemment en petits volumes en raison de son fort degré d'insaturation qui ne permet pas sa conservation sur de longues durées (**Aude tribalat, 2016**).

Notre travail a été divisé en trois parties, nous aborderons dans une première partie une étude bibliographique qui regroupe trois chapitres dont le premier concerne une description de la plante du lin, le deuxième chapitre concerne les principales caractéristiques de l'huile de lin et son effet thérapeutique.

Le troisième chapitre est consacré aux composés phénoliques, leurs classifications et leurs propriétés et aussi l'activité antioxydant, les types d'antioxydants et leurs sources.

La deuxième partie décrit le matériel et les méthodes utilisées dans ce travail qui porte sur :

- ✓ L'extraction d'huile de la plante *Linum usitatissimum*.
- ✓ Une étude physico-chimique qui permettra de caractériser l'huile de lin (*Linum usitatissimum*).
- ✓ L'extraction et le dosage des phénols totaux à partir du l'extrait hydro-méthanolique du lin.
- ✓ Une étude de l'activité antioxydante d'extrait hydro-méthanolique et d'huile de lin de cette plante, par la méthode, du piégeage du radical libre DPPH.

Enfin dans la troisième partie nous présenterons les résultats obtenus et leurs discussions. Notre travail est achevé par une conclusion et des perspectives.

**PARTIE 1**  
ΠΑΡΤΙΕ 1

**SYNTHESE**  
ΣΥΝΤΗΕΣΕ

**BIBLIOGRAPHIQUE**  
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΗΙΟΝΕ

**1- Historique :**

Le lin, plante de la famille des Linacées, fut l’une des premières plantes cultivées par l’homme. Des traces de son existence datant de - 8000 ans avant J.C. Ont ainsi été découvertes dans des cités lacustres suisses. Néanmoins son origine (probablement des hauts plateaux d’Asie) n’est pas connue. Son utilisation a été étendue par l’Egypte des pharaons où les momies étaient entourées de bandelettes de lin. De plus, des fresques retrouvées dans les pyramides illustrent la culture du lin (**Figure 1**) (**Savoire, 2008**).



**Figure 1** : Arrachage du lin, par un dignitaire et sa femme, Tombe de Sennedjem, Der el Medineh, XIXème dynastie. (**Savoire, 2008**)

**2- Classification :**

La famille du Linaceae est géographiquement répandue avec environ 300 espèces dans le monde entier.

Cette famille est positionnée dans le royaume des plantes comme suit (**Tableau 1**) :

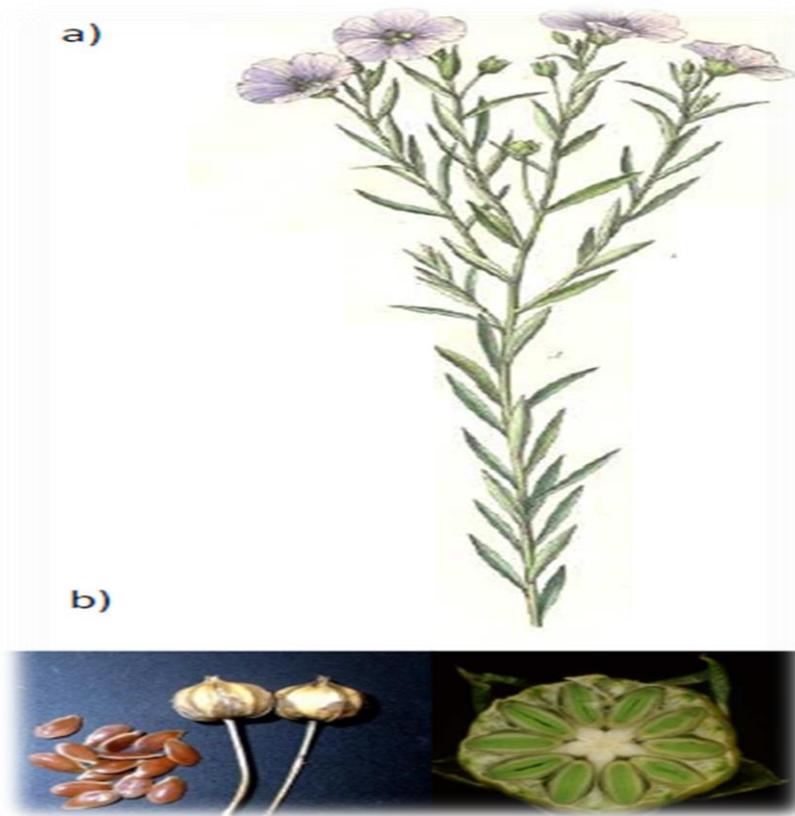
**Tableau 1** : classification du lin (**Diederichsen et Richards, 2003**)

<b>Division</b>	Pteridophyta
<b>Sous-division</b>	Angiospermae
<b>Classe</b>	Dicotyledoneae
<b>Sous-classe</b>	Rosidae
<b>Ordre</b>	Geraniales
<b>La famille</b>	Linaceae
<b>Tribu</b>	Linoideae
<b>Genre</b>	<i>Linum</i>
<b>Espèce</b>	<i>usitatissimum</i> L

### 3- Description générale du lin :

C'est une plante herbacée annuelle. Dressé, avec un système racinaire peu profond et a besoin d'humidité suffisante pendant la saison de croissance (**Hocking et al., 1997**).

- Tige : unique se terminant par une inflorescence en forme de cyme.
- Hauteur : entre 0,8 et 1,2 m.
- Diamètre au collet : de l'ordre de 1 à 2 millimètres.
- Feuilles : allongées et sessiles (entre 80 et 100 feuilles par tige).
- Fleurs : 5 pétales.
- Pollinisation : auto-pollinisation (cléistogamie).
- Durée de floraison : 15 jours (mais seulement quelques heures par fleur).
- Couleur des fleurs : bleues, rouges ou blanches (plus ou moins rosées).
- Fruit : une capsule contenant 10 graines riches en huile.
- Graines : couleur brune (parfois jaune clair), lisses, plates, petites et légères (4 à 7 grammes pour mille graines).
- Génome : compose de 15 paires de petits chromosomes ( $2n=30$ ) (**Figure 2**) (**Renouard, 2011**)



**Figure 2** : Planche botanique (a), photographie de capsules et de graines (b) de *Linum usitatissimum* (**Renouard, 2011**).

#### 4- Le plan morphologique :

L'inflorescence est en forme de cyme qui porte plusieurs fleurs bleues ou blanches (**Figure 4**). Les fleurs sont pour la plupart hermaphrodites, la pollinisation du lin par les insectes est possible mais rare, le pollen étant collant. Les graines en une longueur de 3 à 6,4 mm (**Figure 3**), Le lin possède une courte racine pivotante pourvue de radicules fibreuses de longueur variable allant jusqu'à 120cm. Les feuilles disposées tout le long de la tige dressée sont simples et sessiles et d'une longueur de 25 mm environ (**Casa et al., 1999**).



**Figure 3** : Fruit et graine de lin  
(Heli et al., 2007)



**Figure 4** : Fleur bleue de *Linum Usitatissimum*  
(Heli et al., 2007)

#### 5- Biologie et écologie :

Presque toutes les espèces de *Linum* sont notées pour leur valeur dans les mélanges pour le contrôle de l'érosion et dans l'embellissement. Une longue période de floraison rend la plante plus esthétiquement attrayant mais augmente également la synchronisation florale potentielle avec le lin cultivé (**USDA, 2007**).

#### 6- La culture du lin :

Cultivé dès les premiers âges de l'humanité, le lin aime pour sa culture, une terre légère, fraîche. La récolte du lin s'effectue à sa parfaite maturité, on l'arrache, on le fait sécher en plein air ou à l'abri, on bat les tiges pour en détache les graines. Une soufflée d'air chaud termine le séchage et élimine les fibres ou le feuille restantes (**Figure 5**) (**Pierre et Lis, 2011**).



**Figure 5 :** Culture du lin en champs (photo 1) et évolution du plant de lin en serre(photo2)  
(Rombaut, 2013)

#### 7- Variété du lin :

Les variétés commerciales de lin oléagineux sont différenciées en variétés de printemps et d'hiver, pour une production végétale adaptée aux conditions climatiques, 29 variétés de lin de printemps contre 9 variétés de lin d'hiver sont inscrites au catalogue français de 2012, (Geves, 2012). Les lignées d'hiver sont issues du croisement de lignées de printemps puis sélectionnées pour leur tolérance aux basses températures. Le lin d'hiver est semé en septembre et le lin de printemps en mars. Le lin d'hiver, présente un rendement en graine plus stable, car la variété est plus tolérante au froid et moins sensible aux stress environnementaux. (Labalette *et al*, 2011).

#### 8- La composition du lin :

La composition du lin varie selon la variété et les facteurs environnementaux (Dau *et al*, 2003).

Les graines de lin sont composées majoritairement d'huile (30 à 45 %), de protéines (10 à 30 %) et de fibres alimentaires (25-32 %), mais également de composés secondaires (Daun *et al*, 2003 ; Coskuner *et Karababa* 2007). Les graines de lin présentent également des teneurs élevées en lignane et notamment en SDG (secoisolaricirésinol di-glucoside), 75 à 800 fois plus que dans les autres graines oléagineuses (Nesbitt *et al*, 1999).

Les téguments sont composés majoritairement de polyphénols et de composés glucidiques (mucilage) alors que l'embryon est composé majoritairement d'huile et de protéine (Tableau 2).

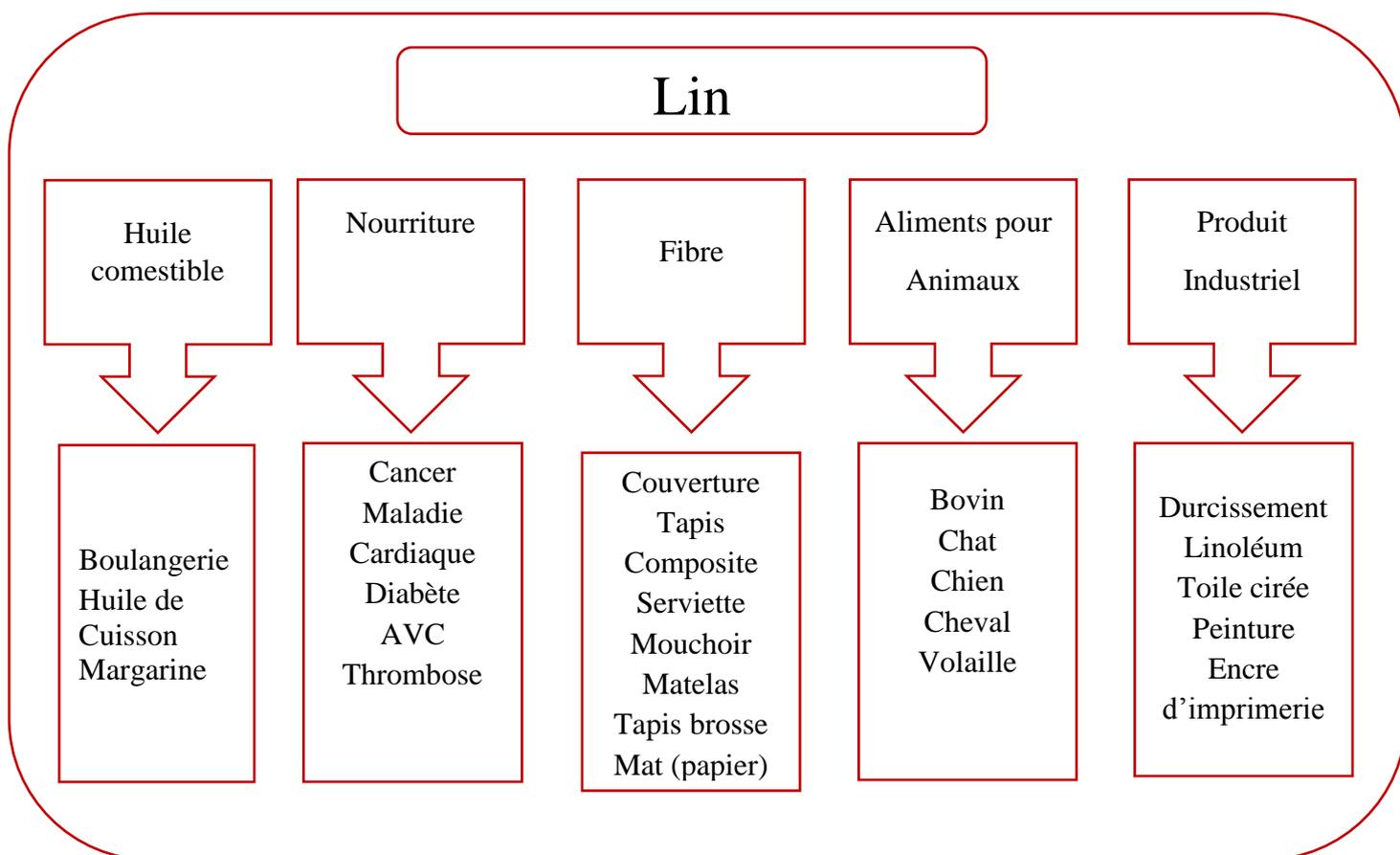
**Tableau 2 :** Composition chimique (%) des grains de lin (Coskuner et Karababa, 2007)

Humidité	Protéine	Lipide	Fibre	Cendre
4-8	20-25	30-40	20-25	3-4

**9- Utilisation de lin :**

Le lin est redécouvert comme de véritable aliment indispensable pour la santé. Il mérite d’être classé parmi les aliments bons pour la vie.

Traditionnellement, le lin et son huile sont utilisés pour divers usage incluant l'usage industriel tels que la fabrication de peintures, vernis et linoléum, nutraceutique, pharmaceutique, l'alimentation animale et comme un aliment humain ou un ingrédient alimentaire dans les aliments transformés (Laiq Khan et al., 2010) cette utilisation est résumée dans le diagramme de l’utilisation de lin (Figure 6).



**Figure 6 :** Diagramme de l’utilisation du lin (Laiq Khan et al., 2010)

### 1- Introduction :

L'huile de lin ou huile de graines de lin est une huile de couleur jaune d'or, tirée des graines mûres du lin cultivé, pressées à froid et/ou à chaud, parfois elle est extraite par un solvant, en vue de l'usage industriel. L'huile de lin a une texture qui va d'épaisse à liquide, sa teinte est claire (Bloedon et Szapary, 2004).

Au niveau cellulaire l'huile est contenue dans des vésicules intracytoplasmiques nommées oléosomes, sphérosomes, globules lipidiques, en un diamètre moyen de 1,34  $\mu\text{m}$ . Ces oléosomes renfermaient 97,58% de lipides neutres (triglycérides), 1,34% de protéines, 0,90% de phospholipides et 0,11% d'acides gras libres.

Ces données reflètent la structure des oléosomes (Figure 7). Ces vésicules contenant l'huile sont entourées par une monocouche de phospholipides principalement de la phosphatidylcholine et de la phosphatidylsérine (la partie hydrophile étant en contact avec le cytosol et la partie hydrophobe avec les lipides). Ces phospholipides peuvent être extraits en même temps que l'huile au cours du procédé d'extraction. Cette « membrane » entourant les oléosomes est stabilisée par un ensemble de protéines les oléosines (INRA, 2007).

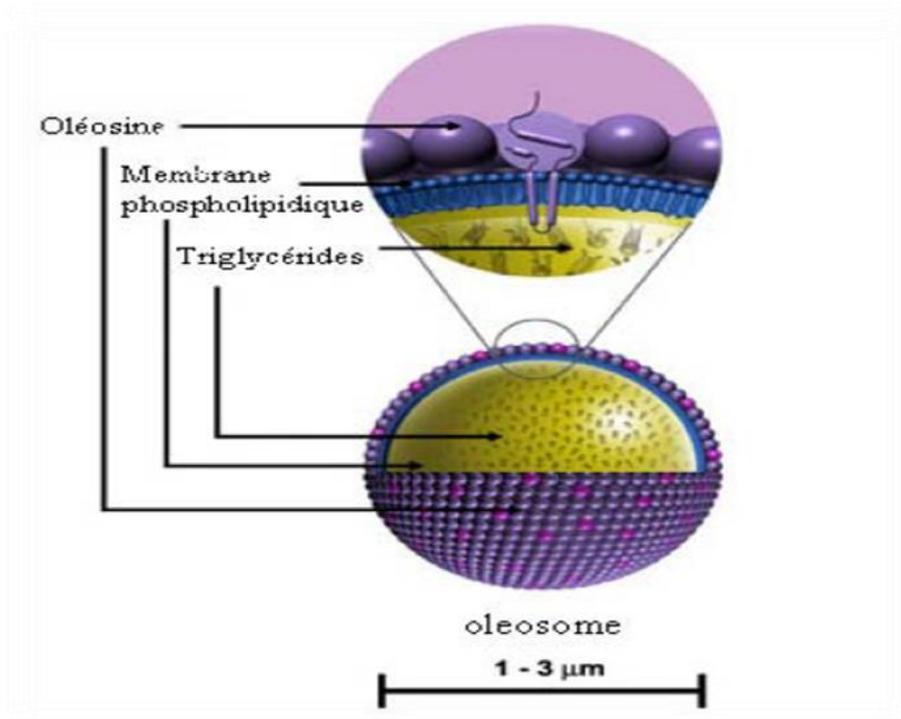


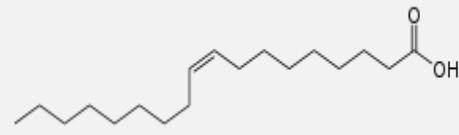
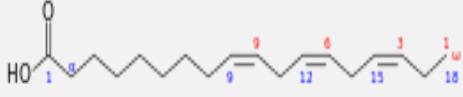
Figure 7 : Structure des oléosomes

**2- Composition et caractéristiques d’huile de lin :**

Les graines de lin contiennent de 35 à 45% d’huile, ce qui permet de classer le lin dans la catégorie des oléagineux (Daun et al., 2003), dont une partie se trouve dans les téguments (10 %) et au niveau des cotylédons (12 %). La majorité des huiles (78 %) est localisée au niveau des cellules de l’embryon, accumulée sous forme de triglycérides (TAGs). Les triglycérides sont constitués de trois acides gras estérifiés à un squelette de glycérol. L’huile de lin est composée majoritairement de 5 types d’acides gras (Tableau 3), l’acide palmitique (C16 :0) (4 à 6 %), l’acide stéarique (2 à 3 %), l’acide oléique (10 à 22 %), l’acide linoléique (12 à 18 %) et l’acide linoléique(ALA) (50 à 62 %). Il est composé aussi de stérols, hydrocarbures, tocophérols et alcools triterpéniques (Sultana, 1992).

La composition chimique de l’huile de lin peut varier selon les lieux de culture et les variétés (Lafond et al., 2008).

**Tableau 3 :** Composition en acides gras de l’huile de lin (Daun et al., 2003).

Nom de l’acide gras	Nomenclature Biochimique	Formule semi-développée	Répartition (%)	% insaturés et saturés
Acide palmitique	C16 :0		4-6	5-15% d’acide gras saturés
Acide stéarique	C18 :0		2-6	
Acide oléique	C18 :1 ω9		10-22	75-95% D’acide gras insaturés
Acide linoléique	C18 :2 ω6		12-18	
Acide α-linolénique	C18 :3 ω3		50-62	

### 3- Utilisation et bienfait d'huile de lin :

L'huile de lin est utilisée pour peindre et vernir, pour saturer la matière des ardoises, pour mettre au point le savon noir et pour protéger les pièces de monnaie de même que l'acier rouillé. Elle est imprégnée et protège le bois à l'intérieur comme à l'extérieur : protection contre l'humidité, les champignons et les insectes et contre la poussière par son caractère antistatique **(Bloedon et Szapary, 2004)**.

Elle est conseillée chez les personnes souffrant de sclérose en plaque ou de diabète. Elle a aussi un effet sur les systèmes hormonal et immunitaire. L'utilisation quotidienne d'huile de lin protège la membrane gastrique et urinaire. Elle convient aussi pour le visage, la peau irritée et le corps, elle reconnue pour ses propriétés adoucissantes et émoullientes.

Elle est employée aussi pour le traitement des cuirs, pour nourrir les sabots des chevaux **(Bloedon et Szapary, 2004)**.

Selon **Kaithwas et al. (2011)** l'huile de lin a montré une activité antimicrobienne contre plusieurs microorganismes ; *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Enterococcus faecalis*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis* et *Candida albicans*.

Des études ont également montré qu'une consommation d'huile de lin permettait une diminution de la pression artérielle, prévention de thrombose, diminution de 48 % de la quantité de protéines réactives C, d'une diminution de 32 % de sérum amyloïdes A **(Massaro et al., 2010)**.

L'huile de lin est également une huile qui présente un grand intérêt dans la consommation humaine par son profil en acides gras et notamment ses teneurs très élevées en  $\alpha$ -linoléique (50-62 %), en acide linoléique (12-18 %), ce sont deux acides gras essentiels non synthétisés par l'homme. Les désaturases et des élongases humaines peuvent convertir le C18 :2 et le C18 :3 en acide eicosapentaénoïque (EPA), acide docosahexaénoïque (DHA) et acide arachidonique longues chaînes (C20 :5  $\omega$ 3 ; C22 :6  $\omega$ 6 ; C20 :4  $\omega$ ) bénéfiques pour la santé humaine **(Massaro et al., 2010)**.

En effet, la consommation de ces oméga-3 est nécessaire pour le développement normal du système nerveux et de l'acuité visuelle au niveau de la rétine.

L'huile de lin a un effet inhibiteur sur les tumeurs, effet lié à la présence des lignanes et de l'acide alpha-linolénique **(Thompson et al., 1996)**.

Les altérations du métabolisme et de la balance redox associées à l'obésité au cours du vieillissement peuvent être corrigées par la consommation de l'huile de lin selon les travaux (*in vivo*) de **Ayad et al. (2013)** et **Laissouf et al. (2013)**.

Les effets bénéfiques d'huile de lin concernent une réduction du poids corporel, une diminution de la glycémie, des teneurs plasmatiques en insuline, adiponectine et leptine ainsi que des teneurs en cholestérol et triglycérides sériques et des lipoprotéines (**Ayad et al., 2013**).

### 1- Activité antioxydante

Présent dans l'air pour environ une partie sur cinq, l'oxygène est indispensable à la vie de la plupart des êtres vivants et permet la respiration, plus généralement les oxygénations. Il est utilisé en thérapeutique, en inhalation contre l'anoxie globale ou cellulaire, les hémorragies, ainsi que dans de nombreuses affections pulmonaires. Mais l'oxygène peut être également une source d'agression pour ces organismes, en effet des dérivés hautement réactifs de l'oxygène (c'est les radicaux libres) peuvent apparaître au cours des réactions enzymatiques ou sous l'effet des rayons U. V, des radiations ionisantes et de métaux de transition. Les conséquences au niveau de l'organisme se font ressentir sur l'ADN, les lipides et les protéines.

#### 1-1- Définition d'un radical libre :

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se ré-apparier, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne (**Dacosta, 2003**).

#### 1-2- Définition d'un antioxydant :

Un antioxydant est toute substance, présente à une concentration inférieure à celle du substrat oxydable, qui est capable de retarder ou de prévenir l'oxydation de ce substrat (**Halliwell et Gutteridge, 1999**).

#### 1-3- Les principales sources d'antioxydants :

##### 1-3-1- Les antioxydants naturels :

Plusieurs substances peuvent agir en tant qu'antioxydants *in vivo*. Celles-ci incluent la vitamine E, la vitamine C, le gallate d'épigallocatechine, les caroténoïdes, les composés phénoliques, les flavonoïdes, l'albumine, l'acide urique, les œstrogènes, les polyamines. (**Svoboda et Hampson, 1999**).

##### 1-3-2- Les antioxydants synthétiques :

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques, tels que le butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT) gallate propylée (PG) et le tétrabutylhydroquinone (TBHQ), sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels. Cependant, leur sécurité est très discutée car ils génèrent un besoin de recherche comme matière de substitution d'après des sources naturelles comme antioxydantes de la nourriture (**Lisu et al., 2003**). Cependant, il a été montré que ces antioxydants de synthèse pouvaient être toxiques.

#### 1-4- Les types d'antioxydants :

Il existe deux types d'antioxydants par rapport à leur mécanisme d'action :

##### 1-4-1- Les antioxydants primaires ou piègeur des radicaux libres :

Ce genre d'antioxydants peut inhiber la réaction d'initiation et la propagation de l'oxydation en participant au processus d'oxydation et en convertissant les radicaux libres vers leurs formes inactives. Les antioxydants primaires sont généralement des composés phénoliques (AH) capables de donner un atome d'hydrogène au radical libre et le convertir en un composé stable non radicalaire (**Huang et al., 2005**).

##### 1-4-2- Les antioxydants secondaires ou préventifs :

Ils englobent une large gamme de différentes substances chimiques qui inhibent l'oxydation des lipides par différents mécanismes et ne transfèrent pas le radical libre sous sa forme non-radicalaire. Avec quelques exceptions, les antioxydants secondaires sont généralement reliés à l'inhibition de facteurs initiant l'oxydation. Ce type d'antioxydants inclut : des chélateurs de métaux pro-oxydatifs, des désactivateurs de l'oxygène singulet, des piègeurs de la molécule d'oxygène, inhibiteurs des enzymes pro-oxydative, enzymes antioxydantes et destructrices des hydroperoxides (**Miller et al., 1996**).

#### 1-5- Mécanismes d'action des antioxydants :

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluant le captage de l'oxygène singulier, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition (**Favier, 2006**).

## 2- Les polyphénols

On distingue deux groupes de métabolites : les métabolites primaires et les métabolites secondaires.

Ces dernières sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes, ils sont divisés principalement en trois grandes familles : Les composés phénoliques, les terpènes, les alcaloïdes (**Lutge et al., 2002**).

Les composés phénoliques ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles. La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) vers les molécules les plus hautement polymérisées (tanins condensés). Avec plus de 8000 structures phénoliques identifiées (**Urquiaga et Leighton, 2000**).

Ces composés peuvent constituer des signaux de reconnaissance entre les plantes, ou bien lui permettant de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes. Ils participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux à des stress variés, donc ces

composés jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel. D'un point de vue thérapeutique, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve dans les plantes médicinales (Macheix *et al.*, 2005).

### 2-1- Classes des composés phénoliques :

Les principales classes de composés phénoliques sont : les acides phénoliques (acide caféique, acide hydroxycinnamique), les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols, les tanins, et les coumarines (Tableau 4) (Mircoli *et al.*, 2008). Les polyphénols sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racine, tiges, feuilles, fleurs, fruits (Boizot et Charpentier, 2006).

**Tableau 4** : Principales classes de composés phénoliques (Mircoli *et al.*, 2008)

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine
<b>C6</b>	Phénols simples	Catéchol	Nombreuses espèces
<b>C6-C1</b>	Acides hydroxybenzoïques	p-hydroxybenzoïque	Epices, fraise
<b>C6-C3</b>	Acides hydroxycinnamiques, Phenylpropenes Coumarines Isocoumarines Chromones	Acide caféique, acide férulique Myristicine, eugénol Scopolétine Myristicine, eugénol Eugénine	Pomme de terre, Pomme, citrus
<b>C6-C4</b>	Naphtoquinones polyphénols	Juglone, plumbagine	Noix
<b>C6-C1-C6</b>	Xanthones	Mangiférine	
<b>C6-C2-C6</b>	Stilbènes Anthraquinones	Resvératrol Anthraquinones	Vigne
<b>C6-C3-C6</b>	Flavonoïdes, isoflavonoïdes	Quercétine, cyanidine, daïdzéine	Fruit, légumes, fleurs, soja, pois
<b>(C6-C3)2</b>	Lignanes Neolignanes	Pinorésinol Eusiderine	Pin
<b>(C6-C3-C6)2</b>	Biflavonoïdes	Amentoflavone	
<b>(C6-C3)n</b>	Lignines		Bois, fruits à noyaux, raisin, kaki
<b>(C6-C3-C6)n</b>	Tanins condensés		

**2-2- Propriétés biologiques des polyphénols :**

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 fonctions principales attribuées à ces composés chez les végétaux sont la protection contre les pathogènes et les herbivores ainsi que la limitation des dommages dus aux radiations UV. Dans ce cas, ils agissent par effet d'écran et par effet antioxydant (**Lebham, 2005**).

Les recherches sur les composés phénoliques en générale et les flavonoïdes en particulier sont très poussées en raison de leurs diverses propriétés physiologiques comme les activités antiallergique, anti-atherogénique, anti-inflammatoire, hépatoprotective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, anticarcinogénique, anti-thrombotique, cardioprotective et vasodilatatoire (**Middleton et al., 2000 ; Ksouri et al., 2007**).

**PARTIE 2**  
BAPLIE 5

**MATERIEL ET**  
WALEBIET EL

**METHODES**  
WELHODES

### 1- Extraction d'huile de lin :

#### ➤ Extraction par Soxhlet :

Un extracteur Soxhlet est une pièce de verrerie utilisée en chimie analytique et en chimie organique qui permet de faire l'extraction par solvant continue d'une espèce chimique contenue dans une poudre solide (**Photo 1**). Cet appareil porte le nom de son inventeur : Franz Von Soxhlet.



**Photo 1 : Montage Soxhlet**

#### ➤ Principe :

Le solvant d'extraction est porté à ébullition. Ces vapeurs qui traversent le Soxhlet, sont condensées au niveau du réfrigérant et s'écoulent à travers l'échantillon dans la cartouche. Ce système de distillation-condensation assure au solvant une circulation en continu dans l'échantillon. Un siphon permet au solvant de s'écouler de la cartouche pour retourner dans le ballon. Le solvant peut donc recommencer un nouveau cycle d'évaporation - condensation. Cette méthode est utilisée pour l'extraction des composés non volatils et semi volatils.

#### ➤ Avantages :

- L'échantillon est en contact de manière répétée avec du solvant frais (décharge des solutés déjà extraits).
- L'extraction est effectuée avec du solvant chaud favorisant la dissolution des composés recherchés.
- Aucune filtration n'est nécessaire après l'extraction (**Luque de Castro et Garcia-Ayuso, 1998**).

➤ **Matériel végétal :**

Les graines de lin utilisées pour extraire l'huile dans le laboratoire sont les graines commercialisées. Ces graines sont broyées en poudre fine à l'aide d'un broyeur électrique.

➤ **Mode opératoire :**

La poudre des graines (45g) est introduite dans la cartouche en papier filtre, cette dernière sera placée dans le soxhlet surmonté d'un réfrigérant.

- En premier lieu, verser 250 ml d'hexane dans le ballon et porté à ébullition (68.75 C°).
- Ouvrir le robinet d'eau passant par le réfrigérante.
- Pendant une heure, on a fait l'extraction.
- La séparation du solvant de la fraction lipidique est faite à l'aide de l'appareil, appelé Rotavapeur (**Photo 2**).
- L'huile obtenue est conservée à 4C° à l'abri de la lumière.



**Photo 2 : Rotavapeur**

➤ **Détermination de rendement en huile :**

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile obtenue et la masse du matériel végétal utilisé pour cent. Après récupération d'huile, le rendement est calculé par la formule suivante :

$$Rdt = \frac{m0}{m1} \times 100$$

Où :

m0 : Masse en grammes de l'huile récupérée.

m1 : Masse en grammes de la prise d'essai (les graines broyées).

**2- Analyses physique :**

**2-1- Densité relative :**

➤ **Définition :**

La densité relative d'une huile est le rapport de la masse d'un certain volume d'huile à 20°C à la masse d'un volume égal d'eau distillée à 20°C (**NF ISO 6883**).

➤ **Principe :**

A l'aide d'un pycnomètre (**Photo 3**), on effectue une suite de pesées de volume égale d'huile et d'eau à la température de 20°C.

➤ **Mode opératoire :**

- Nettoyer le pycnomètre et le sécher.
- On détermine la masse relative de pycnomètre vide.
- On détermine la masse du pycnomètre remplie d'eau distillée récemment refroidie jusqu'à atteindre une température de 20°C.
- Nettoyer et séché le pycnomètre.
- Refroidie l'huile de lin pour qu'elle atteigne les 20°C.
- On détermine la masse de pycnomètre contenant d'huile de lin.



**Photo 3 :** Le pycnomètre

➤ **Méthode de calcul :**

La densité relative se détermine : (NF ISO 6883)

$$D_{20} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$$

$m_0$  : masse du pycnomètre vide.

$m_1$  : masse du pycnomètre rempli d'eau distillée.

$m_2$  : masse du pycnomètre rempli d'huile.

**2-2- Indice de réfraction :**

➤ **Définition :**

L'indice de réfraction est le rapport entre le sinus des angles d'incidence et de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'huile maintenue à une température constante (AFNOR NF ISO280 : 1999 (T75-112)).

➤ **Principe :**

Cet indice est mesuré à l'aide de réfractomètre (**Photo 4**). Il est lié à la température. Il est mesuré à 20°C pour les huiles (Ollé, 2002).

➤ **Mode opératoire :**

- Nettoyer la lame du réfractomètre en utilisant de papier de josph
- On introduit quelques gouttes d'eau distillée pour étalonner l'appareil, la température de l'eau doit être à 20
- Nettoyer la lame du réfractomètre en utilisant de papier de josph
- On dépose quelque goutte de l'huile de lin dans la lame de réfractomètre, l'huile est récemment atteinte une température de 20°C
- On effectue la lecture, la valeur de l'indice de réfraction directement donné.



**Photo 4 :** Réfractomètre électronique

### 3- Analyses chimiques :

#### 3-1- Indice d'acide (IA) :

➤ **Définition :**

L'indice d'acide d'un corps gras est la quantité d'hydroxyde de potassium (KOH) exprimée en milligramme nécessaire pour neutraliser les acides gras libres contenus dans un gramme de corps gras.

C'est un dosage qui nous permet de connaître le degré d'altération de l'huile et d'estimer le taux d'acides gras libres dans l'huile (**Perrin, 1992**).

➤ **Principe :**

Il consiste à neutraliser les acides libres de la matière grasse par une solution alcoolique KOH titré dans l'éthanol en présence de phénolphthaléine (indicateur coloré).

Cette neutralisation se traduit par la réaction chimique suivante :



➤ **Mode opératoire :**

- On pèse 2 g de l'huile de lin et on l'introduit dans un erlenmeyer en verre.
- On ajoute 5 ml d'éthanol à 95% et 5 gouttes de phénophtaléine (PP) à 0,2%.
- On neutralise en ajoutant grâce à une burette la solution éthanolique de KOH (0,1 mole/l) jusqu'à obtention d'une couleur rose.

➤ **Méthode de calcul :**

L'indice d'acide est calculé par la formule suivante (**NF EN ISO 660**) :

$$IA(\%) = \frac{56,1 \times V \times C}{m}$$

56,1 : est la masse molaire (g/moles) de l'hydroxyde de potassium(KOH).

V : est le volume (ml) d'hydroxyde de potassium utilisé.

C : est la concentration exacte, en moles par litre, de la solution titrée d'hydroxyde de potassium utilisée.

m : est la masse en grammes de la prise d'essai.

#### 3-2- Indice de saponification (IS) :

➤ **Définition :**

L'indice de saponification correspond aux nombres de milligrammes de potasse nécessaires pour saponifier les acides gras contenus dans un gramme de matière grasse (**AFNOR, 2013**).

➤ **Principe :**

Il s'agit de traiter l'ester par de la potasse suffisamment concentrée et chaude, ce qui régénère suivant une réaction totale d'alcool et le sel de potassium de l'acide puis on donne naissance à l'ester.

➤ **Mode opératoire :**

- On pèse 2g d'huile de lin dans un ballon puis on ajoute 25 ml de KOH de concentration 0,5 mole/l.
- On adapte le réfrigérant et on place le ballon sur la chauffe ballon et on laisse chauffer pendant une heure.
- On ajoute 0,5 ml de phénolphthaléine à 0,2%.
- Enfin, on titre l'excès de KOH avec la solution d'acide chlorhydrique (HCl) à 0,5 mole/l jusqu'au virage à l'incolore de la phénolphthaléine.
- Parallèlement, on effectue un essai à blanc dans les mêmes conditions.

➤ **Méthode de calcul :**

L'indice de saponification (IS) se détermine ainsi : (NF ISO 3657)

$$IS = \frac{(V_0 - V_1) \times C \times 56.1}{m}$$

V<sub>0</sub> : est le volume d'acide chlorhydrique (ml) nécessaire pour titrer le blanc.

V<sub>1</sub> : est le volume d'acide chlorhydrique (ml) nécessaire pour titrer l'essai.

C : est la concentration exacte, en moles par litre, de la solution titrée d'acide chlorhydrique utilisée.

m : est la masse (g) de la prise d'essai.

### 3-3- Indice de peroxyde (IP) :

➤ **Définition :**

L'indice de peroxyde est le nombre de microgrammes d'oxygène actif contenus dans un gramme de corps gras et susceptibles d'oxyder l'iodure de potassium. Il est exprimé en microgrammes par gramme ou plus souvent en milliéquivalent d'oxygène actif par kilogramme (Ollé, 2002).

➤ **Principe :**

Une prise d'essai est mise en solution dans un mélange d'acide acétique (CH<sub>3</sub>COOH) et de chloroforme, traitée ensuite par une solution d'iodure de potassium (KI). On titre l'iode libéré par une solution de thiosulfate de sodium (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) en présence d'empois d'amidon (indicateur coloré).

➤ **Mode opératoire :**

- On pèse 2g huile de lin dans un erlenmeyer.
- On ajoute 10ml de chloroforme et 15 ml d'acide acétique puis 1 ml solution d'iode de potassium saturée (KI).
- Boucher l'erlenmeyer, bien agiter et laisser pendant 5 min à l'abri de la lumière.
- On ajoute 75 ml d'eau distillée et quelque goutte d'empois d'amidon
- On titre l'iode libéré avec la solution de thiosulfate de sodium  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  (0.002N) en agitant jusqu'à décoloration totale de la solution.

➤ **Méthode de calcul :**

L'indice de peroxyde (IP) s'effectue de la manière suivante :

$$\text{IP} = \frac{N(V_1 - V_n)}{m} \times 1000$$

$V_n$  : est le volume de témoin qui égale à 0.

$V_1$  : est le volume de thiosulfate de sodium (ml) nécessaire pour la détermination.

$N$  : est la concentration exacte, en moles par litre, de la solution titrée de thiosulfate de sodium utilisée.

$m$  : est la masse (g) de la prise d'essai.

### 3-4- Indice d'iode (II) :

➤ **Définition :**

L'indice d'iode appelé aussi indice de Hübl, est la masse en grammes d'iode fixé sur les doubles liaisons présentes dans 100 g de corps gras.

La méthode de Wijs est certainement la plus utilisée (possibilité de trouver dans le commerce du réactif prêt à l'emploi) (Ollé, 2002).

➤ **Principe :**

Addition à une prise d'essai d'une solution de mono chlorure d'iode dans un mélange formé d'acide acétique et de tétrachlorure de carbone. Après un temps donné de réaction, réduction de l'excès de mono chlorure d'iode par addition d'une solution d'iodure de potassium et d'eau et titrage de l'iode libéré par une solution titrée de thiosulfate de sodium ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ).

➤ **Mode opératoire :**

- On pèse 0,13 g d'huile de lin dans une fiole de 500 ml.
- On ajoute 20 ml d'éthanol et 25 ml de réactive de Wijs.
- Boucher, agiter le contenu et placer la fiole dans un endroit sombre pendant une heure.

- On titre avec la solution de thiosulfate de sodium ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) (0,0992 N) jusqu'à obtention d'une couleur jaune.
- On ajoute quelque goutte d'empois d'amidon et poursuivre le titrage jusqu'au moment où la couleur bleue disparaître après avoir agité vigoureusement le contenu.
- On prépare un essai à blanc de la même façon.

➤ **Méthode de calcul :**

L'indice d'iode est donné comme suit : (AFNOR T60 203)

$$II = (12,69C (V1-V2)) / M$$

C : concentration, en moles par litre, de la solution de thiosulfate de sodium utilisée.

V1 : volume, en millilitres, de la solution  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  utilisé pour l'essai à blanc.

V2 : volume, en millilitres, de la solution  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  utilisé pour la détermination.

M : masse, en gramme, de la prise d'essai.

#### 4- Extraction et teneurs en composés phénoliques :

##### 4-1- Extraction des composés phénoliques :

➤ **Préparation d'extrait :**

Une quantité de 3 g de filtrat issu de l'extraction d'huile du plant de lin est macérée dans 30 ml de méthanol-eau (2 : 1 (V/V)) sous agitation magnétique pendant 24 heures. On filtre l'extrait (**Photo 5**), la solution hydro-méthanolique récupérée a mis dans une boîte de pétrie et séchée à l'étuve à 40 °C pendant 24 heures. Les résidus secs pesés sont repris par 3 ml d'eau distillé.



**Photo 5 :** filtration de l'extrait de lin

➤ **Calcul du rendement :**

Le rendement est calculé par la formule suivante :

$$R = M / M_0 \times 100$$

R : Rendement exprimé en %.

M : Masse en gramme de l'extrait sec résultant.

M<sub>0</sub> : Masse en gramme du matériel végétal à traiter.

**4-2- Dosage des phénols totaux :**

➤ **Principe :**

Les polyphénols ont été déterminés par spectrophotométrie selon la méthode de Folin-Ciocalteu (**Singleton et al, 1999**) utilisant l'acide gallique comme standard : ce réactif de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-Ciocalteu en un complexe ayant une couleur bleue constitué d'oxyde de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés.

➤ **Mode opératoire :**

- Dans 3 tubes à essai ont introduite 100 µl de l'extrait hydro-méthanolique dilué.
- On ajoute 2 ml de la solution de carbonate de sodium (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>).
- On agite les tubes bien et on laisse reposer pendant 5 min.
- On ajoute 100 µl du réactif de Folin-Ciocalteu.
- On agite on incube les tubes dans l'obscurité pendant 30 min.
- On prépare 3 essai à blanc dans les mêmes conditions en remplaçant la quantité de l'extrait par le méthanol.
- Après les 30 min d'incubation on fait la lecture de l'absorbance au spectrophotomètre à 750 nm.
- On prépare une gamme d'étalonnage par les même opération en utilisant l'acide gallique à différente concentration :
  - On prépare la solution de l'acide gallique : 10 mg d'acide gallique diluer dans 10ml de méthanol, pour une concentration de 1000 µg/ml
  - On prépare des autres dilutions de différente concentration (**tableau 5**) :

**Tableau 5 :** Dilution de la solution d'acide gallique à différente concentration

Tube	1	2	3	4	5
[ ] µg/ml	50	100	200	300	400
Solution acide gallique µg/ml	50	100	200	300	400
Eau distillé µl	950	900	800	700	600

**Tableau 6 :** Méthode de dosage des polyphénol totaux

Tube	Gamme d'étalonnage					Extrait		
	1	2	3	4	5	6	7	8
[ ] µg/ml	50	100	200	300	400	Essai 1	Essai 2	Essai 3
d'acide gallique µl	100	100	100	100	100	–	–	–
Extrait méthanolique µl	–	–	–	–	–	100	100	100
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> ml	2	2	2	2	2	2	2	2
<b>Incubation pendant 5min avec agitation</b>								
Folin-Ciocalteu µl	100	100	100	100	100	100	100	100
<b>Incubation pendant 30 min à l'obscurité</b>								
<b>Lecture à 750 nm</b>								

➤ **Expression des résultats :**

La quantité des polyphénols totaux est exprimé en mg d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait. Elle est calculée à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage ( $y=ax+b$ ) établie avec les concentrations d'acide gallique.

**5- Etude de l'activité antioxydante**

➤ **Test DPPH :**

Dans ce test les antioxydants réduisent le DPPH de couleur violette en un diphényl picryl-hydrazine de couleur jaune, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle

à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Sanchez-Moreno, 2002).

➤ **Principe :**

Elle est basée sur la capture des radicaux libres fournis par le 1-1-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH).

**5-1- Activité antioxydant des extraits :**

➤ **Mode opératoire**

- Préparation de la solution DPPH par solubilisation de 0.0025 g de DPPH dans 100 ml de méthanol.
- On prépare les extraits à différentes concentrations.
- On prend 50 µl de chaque extrait.
- On ajoute 1950 µl de la solution méthanolique de DPPH.
- Pour chaque concentration on prépare un blanc, en remplaçant la quantité de la solution méthanolique de DPPH par le méthanol (extrait hydrométhanolique) et l'éthanol (huile).
- En parallèle on prépare deux contrôles, en mélangeant dans chaque un 50 µl du méthanol (extrait hydrométhanolique) et l'éthanol (huile) avec 1950 µl d'une solution méthanolique de DPPH.
- Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à la température ambiante, on fait la lecture des absorbances à 515 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

➤ **Expression des résultats :**

Les résultats de l'activité antioxydante sont exprimés en pourcentage d'inhibition, calculés suite à la diminution de l'intensité de la coloration du mélange, selon la formule :

$$\text{PI} = (\text{DO}_{\text{contrôle}} - \text{DO}_{\text{échantillon}} / \text{DO}_{\text{contrôle}}) \times 100$$

PI : pourcentage d'inhibition.

DO contrôle : absorbance du témoin négatif.

DO échantillon : absorbance de l'échantillon.

L'étude de la variation de l'activité antiradicalaire en fonction de la concentration des échantillons permet de déterminer la concentration qui correspond à 50% d'inhibition (CI<sub>50</sub>). Une valeur de CI<sub>50</sub> faible correspond à une grande efficacité de l'échantillon.

**PARTIE 3**

ΠΑΡΤΙΕ 3

**RESULTATS ET**

ΚΕΣΥΓΛΑΤΣ ΕΛ

**DISCUSSION**

ΔΙΣΚΥΣΣΙΟΝ

### 1- Rendement d'extraction de l'huile de lin :

L'huile de graines de *Linum usitatissimum* a été extraite par la méthode soxhlet en utilisant l'hexane comme solvant. Dans notre travail le rendement, obtenu après une heure d'extraction est de 33.54 %. Ce rendement est inférieure de celui obtenu par **Amrouche (2013)** qui est de 39.96 %.

### 2- Analyse physico-chimiques de l'huile de lin :

Les résultats obtenus des analyses physico-chimiques sont représentés dans le **tableau 7**.

**Tableau 7** : Paramètres physico-chimiques de l'huile de lin

Paramètres physico- chimiques	Valeurs
Densité à 20 ° C	0.932
Indice de réfraction à 20 ° C	1.4735
Indice d'acide (mg de KOH/g d'huile)	0.81
Indice d'iode (g/100 g 'huile)	171.33
Indice de saponification (mg de KOH /g d'huile)	173.51
Indice de peroxyde méqd'O2/kg d'huile	0.69

#### 2-1-Analyse physique :

##### 2-1-1- La densité relative :

La détermination de la densité d'une huile nous renseigne sur sa pureté, elle est en fonction de la composition chimique des huiles et de la température (**Karleskind, 1992**).

L'huile de lin possède une densité (0.932) similaire à celle trouvée par **Amrouche (2013)** (0.9320), et elle est comprise entre 0.925-0.935 selon la norme donnée par le codex alimentarius.

##### 2-1-2- Indice de réfraction :

L'indice de réfraction représente aussi un critère de pureté de l'huile. Il dépend de la composition chimique des huiles et de la température. Généralement, l'indice augmente avec l'insaturation ou la présence de produit secondaire (**Karleskind, 1992**).

La valeur de l'indice de réfraction de notre huile est de 1.4735. cette valeur est en accord avec d'autres auteurs **Mirela Popa et al. (2012)** et **Amrouche (2013)** qui donnent une valeur de l'indice de réfraction est respectivement de l'ordre de 1.469 et 1.4594, et elle comprise dans l'intervalle donnée par le codex alimentarius ( 1.4720-1.4750).

## 2-2- Analyse chimique :

### 2-2-1- Indice d'acide :

La connaissance d'indice d'acides d'un corps gras est un bon moyen pour déterminer son altération par hydrolyse, c'est un critère de pureté de l'huile. **Les normes**

L'huile de lin présente un indice d'acide (0.81) qui est inférieur à celui obtenu par **Amrouche (2013)** (3.08) et comparable de celle obtenu par **Mirela Popa et al. (2012)** (0.80).

### 2-2-2- Indice saponification :

L'indice de saponification est en relation avec la longueur des acides gras constituants de l'huile.

L'indice de saponification de notre huile (173.51) est inférieur de celui trouvé par **Amrouche (2013)** et **Mirela Popa et al. (2012)** qui est de 191.1 et 190 respectivement, et il est proche de l'intervalle de la norme du le codex alimentarius qui les a fixés entre 187 et 197.

### 2-2-3- Indice de peroxyde :

L'indice de peroxyde est un critère de qualité, il permet de voir l'état d'oxydation des huiles et de contrôler les premières étapes de l'altération oxydative. L'indice de peroxyde est lié aux conditions de conservation et aux modes d'extraction.

La valeur de l'indice de peroxyde trouvée dans cette étude est de l'ordre de 0.69 méq O<sub>2</sub>/Kg d'huile, cette valeur est inférieure de celle trouvé par **Amrouche (2013)** qui est de 4.74, et elle est proche de celle trouvé par **Mirela Popa et al. (2012)** qui est de 0.95.

### 2-2-4- Indice d'iode :

L'indice d'iode met en évidence le degré d'insaturation de l'huile.

La valeur trouvée dans cette étude est de l'ordre de 171.33 (g/100g huile), valeur comparable à celle trouvé par **Mirela Popa et al. (2012)** (177 g/100g huile) et inférieur à celle trouvé par **Amrouche (2013)** (191.80 g/100g huile). La valeur d'indice d'iode de notre huile montre qu'il est conforme à la norme établie par le codex alimentarius qui les a fixés entre 170 et 203.

## 3- Extraction et teneurs en composés phénoliques :

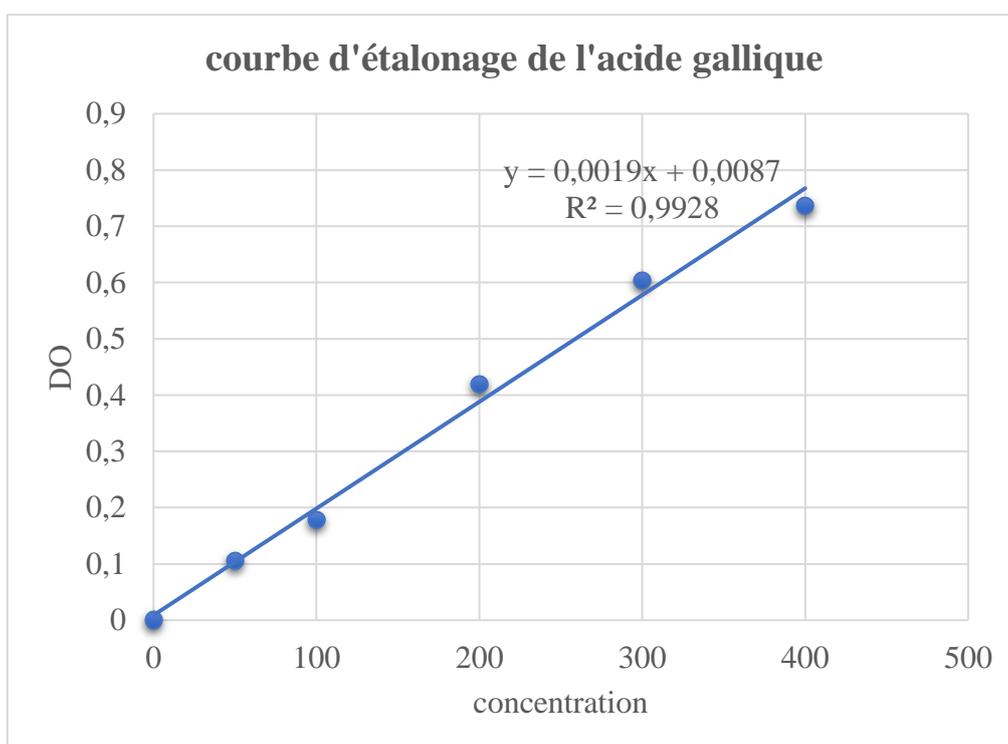
### 3-1- Rendement en extraits :

L'opération de l'extraction par macération de filtrat de *Linum usitatissimum* dans le mélange eau- méthanol a permis d'obtenir un résidu sec d'extrait qui est repris par l'eau distillée avec un rendement de 4.33 %.

### 3-2- Dosage des phénols totaux :

Le dosage des phénols totaux a été effectué par la méthode spectrophotométrique adaptée avec le réactif de Folin-Ciocalteu. Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme de la matière végétale sèche (mg GAE/g), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique.

La courbe d'étalonnage de l'acide gallique est représentée dans la **Figure 8**.



**Figure 8** : La courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

La teneur en polyphénols totaux de notre extrait est de 1.02 mg EAG/g de matière sèche, cette quantité est équivalente à une concentration de 23.68 mg EAG/ml dans 1 mg d'extrait.

Selon l'étude réalisée par **Acket, (2015)** sur le dosage des polyphénols dans les graines de lin a donné une teneur estimée à 0.90 g/100 g de matière sèche, la courbe d'étalonnage utilisée dans cette étude est celle de l'acide férullique. Ces résultats ont permis de dire que la teneur en polyphénols trouvée dans notre travail (0.102g/ 100g) est inférieure à celle trouvée par **Acket, (2015)**.

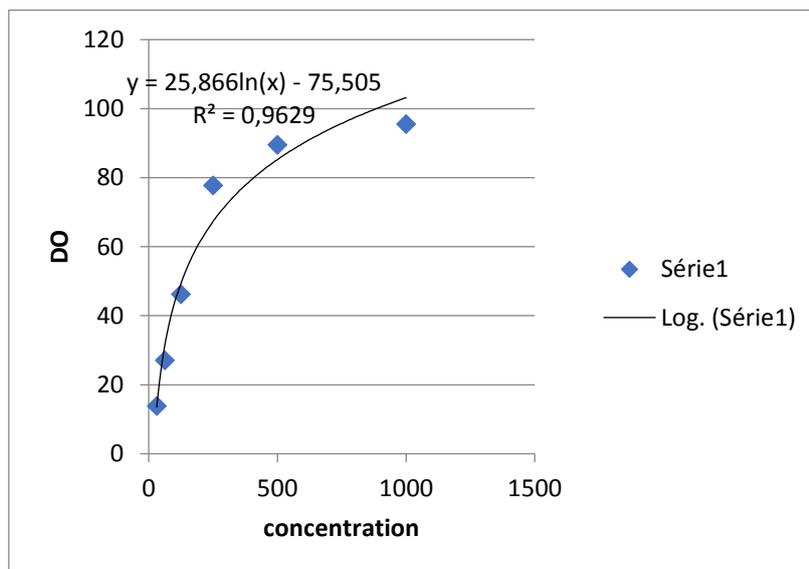
### 4- Etude de l'activité antioxydante :

L'activité antioxydante pour les extraits vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée spectrophotométriquement en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 515nm.

Dans cette partie, on a étudié l'activité antioxydante de l'extrait hydro-méthanolique et de l'huile de lin par la technique de piégeage de radical DPPH, in vitro, afin de mesurer les valeurs de  $CI_{50}$ . Les résultats sont souvent comparés à des antioxydants de synthèse, comme le BHA.

#### 4-1- Activité antioxydante du BHA :

Comme le montre la **Figure 9** ci-dessus, l'antioxydant standard BHA à une valeur de  $CI_{50}$  est de l'ordre de  $128.131 \mu\text{g/ml}$ .



**Figure 9 :** Activité antioxydante du standard BHA.

#### 4-2- Activité antioxydant d'extrait hydro-méthanolique :

Selon les mesures effectuées sur l'extrait on calcule le pourcentage d'inhibition de DPPH selon la formule indiquée dans la partie précédente. Les pourcentages d'inhibition sont présentés dans le **tableau 8**.

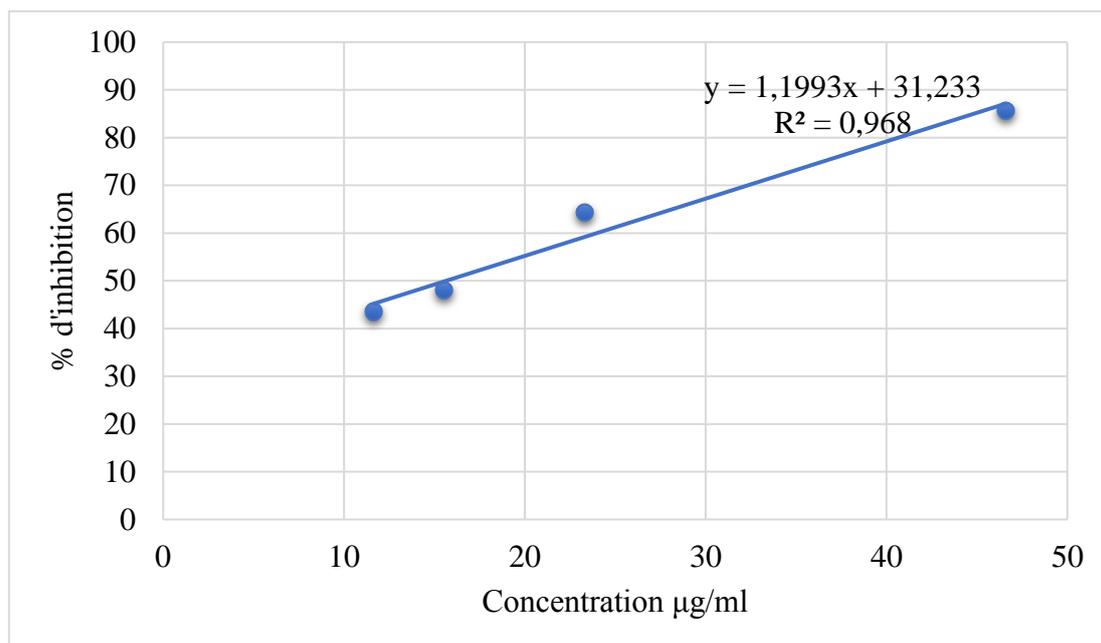
**Tableau 8 :** Taux d'inhibition du DPPH par l'extrait hydro-méthanolique.

Concentration	% Inhibition
125	1.856
250	5.891
500	8.402
750	10.073
1000	13.570

Les résultats obtenus montrent que le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH de l'extrait est estimé à 13.570 % à la concentration de 1mg/ml, donc la valeur de  $CI_{50}$  n'est pas atteinte à cette concentration. En conclusion, ces résultats montrent que notre extrait possède une activité antioxydante très faible. Cela peut être dû à la faible teneur en composés phénoliques.

#### 4-3-Activité antioxydant d'huile de lin :

L'activité antioxydant d'huile de lin a été évaluée par le test au DPPH, les résultats exprimés en % d'inhibition, sont représentés dans la **Figure 10**.



**Figure 10** : courbe de % d'inhibition du DPPH par l'huile de lin.

L'activité antioxydante de l'huile de lin est exprimée en  $CI_{50}$ . Cette  $CI_{50}$  est déterminée à partir de la courbe **Figure 10**, dont l'abscisse représente la concentration de l'huile et l'ordonnée l'activité antioxydante en pourcentage. Elle est de 15.648 µg/ml pour cette huile, plus cette concentration est faible plus l'effet antioxydant est très élevé.

Par rapport aux résultats de BHA ( $CI_{50}=128.131$  µg/ml) notre huile a une activité antioxydante très puissante.

**CONCLUSION**  
CONCLUSION

L'idée directrice de notre étude a consisté à extraire l'huile de *Linum usitatissimum* dite le lin, à déterminer ses propriétés physico-chimiques, à extraire les composés phénoliques et calculé la teneur de ces composés à partir de marc de la plante, ainsi que l'activité antioxydante d'huile et de l'extrait.

Le rendement d'extraction de l'huile de lin par la méthode Soxhlet en utilisant l'hexane comme solvant, est de l'ordre de 33.54 %. En effet, le rendement d'extraction d'une l'huile varie selon la méthode et le solvant utilisé. La valeur obtenue est proche à celles rapporté par la bibliographie.

La détermination des propriétés physico-chimiques (la densité, l'indice de réfraction, l'indice d'acide, l'indice de saponification, l'indice d'iode et l'indice de peroxyde) d'huile recueillie nous a conduits à des valeurs conformes aux normes établies par le codex alimentarius et proche de certains travaux antérieurs.

L'extraction des composées phénolique a été mise au point par une méthode de macération à froid de marc du plant de lin, qui après calcule du rendement en extrait hydro-méthanolique et du dosage de leur contenu phénolique nous permettent d'obtenir les résultats suivants :

- Le rendement pour l'extrait hydro-méthanolique est de 4.33 %, tandis que le dosage des phénols totaux est de 1.02 mg EAG/g de matière sèche, pour le même extrait.

Concernant l'activité antioxydante de cet extrait elle est très faible et qui est de 13.570 % à la concentration de 1mg/ml.

En outre, les résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante d'huile de lin révèlent que cette huile possède un pouvoir antioxydant puissant en le comparant à l'antioxydant de référence qui est le BHA.

Le travail réalisé représente une initiation à la recherche des huiles naturelles à intérêt biologique et avec un large domaine d'utilisation.

Nous nous sommes fixés comme perspectives à ce travail :

- ✓ D'analyser l'huile de lin par CPG/SM (chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse), puis d'affiner l'analyse sur l'insaponifiable car il pourrait renfermer de nombreuses molécules « intéressantes ».
- ✓ De tester l'huile de lin sur des souches bactériennes et des champignons, mais aussi tenter de l'émulsifier avec d'autres produits.
- ✓ D'effectuer une étude toxicologique de l'huile de lin pour pouvoir la valoriser comme huile végétale comestible ou thérapeutique.

**REFERENCES**  
КЕЕКЕИЦЕΣ

**BIBLIOGRAPHIQUES**  
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΗΙΟΝΕΣ

- ❖ **Acket S. 2015.** *Implication du métabolisme carboné pour une production différentielle d'huile chez les plantes oléagineuses-Lin : modélisation des systèmes*, Thèse de doctorat (Université de Technologie, Compiègne).
- ❖ **AFNOR Association Française de Normalisation, norme NF EN ISO 3657. 2013.** Corps gras d'origines animale et végétale. Détermination de l'indice de saponification.
- ❖ **AFNOR NF ISO280 (T75-112). 1999.** Huiles essentielles. Détermination de l'indice de réfraction (homologuée le 5 septembre 1994). *Journal officiel* du 23 février 1999, Num. 147 : Avis relatifs à l'homologation et à l'annulation de normes. NOR : ECOI9910009V.
- ❖ **Amrouche A. 2013.** *Etude in vitro de l'effet antifongique des huiles extraites de plantes médicinales et leurs effets chez des rats wistar contaminés par les mycotoxines*, Thèse de doctorat (Université Abou - Bekr belkaid –Tlemcen).
- ❖ **Aude tribalat M. 2016.** *Etude métabolomique de lin (*Linum usitatissimum*) mutant pour la voie de biosynthèse des lignanes*, Thèse de Doctorat en Pharmacie (Université de Picardie Jules Verne), p12-13.
- ❖ **Ayad A, Merzouk H, Merzouk S.A, Narce M. 2013.** Blood oxidant / antioxidant status in overfed aging rats: comparative effects of sunflower, olive and linseed oil rich diets. *Biomedical and Environmental Sciences*, 26,390-393.
- ❖ **Belluzzi A. 2002.** Fatty Acids for the treatment of Inflammatory Bowel Diseases. *Proceedings Nutrition Society*, 61(3), 391-395.
- ❖ **Bloedon L.T, Szapary P.O. 2004.** Flaxseed and cardiovascular risk. *Nutrition Review*, 62(1),18-27.
- ❖ **Boizot N, Charpentier J.P. 2006.** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. *Le cahier des techniques de l'Inra*, p79-82.
- ❖ **Bouguerra A. 2011.** *Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de *Foeniculum vulgare* Mill. En vue de son utilisation comme conservateur alimentaire*, p10.
- ❖ **Casa R, Russell G, Cascio B. L, Rossini F. 1999.** Environmental effects on linseed (*Linum usitatissimum* L.) yield and growth of flax at different stand densities. *European journal of agronomy*, 11(3), 267-278.
- ❖ **Coşkuner Y, Karababa E. 2007.** Some physical properties of flaxseed (*Linum usitatissimum* L.). *Journal of Food Engineering*, 78(3), 1067-1073.

- ❖ **Dacosta Y. 2003.** *Les phytonutriments bioactifs : 669 références bibliographiques.* Edition. Yves Dacosta, Paris, p 317.
- ❖ **Daun J, Barthet V, Chornick T, Duguid S. 2003.** Structure, composition and variety development of flaxseed. In: *Thompson, L., Cunanne, S. edition. Flaxseed in Human Nutrition. Second Edition Champaign, Illinois*, p1-40.
- ❖ **Diederichsen A, Richards K. 2003.** Cultivated flax and the genus *Linum* L. *Flax: the genus Linum*, p32-38.
- ❖ **Favier A. 2006.** Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 64(6), 390-396.
- ❖ **Fleuriet A, Jay-Allemand C, Macheix J.J. 2005.** Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. *Presses polytechniques et universitaires romandes*, p 121-216.
- ❖ **GEVES. 2012.** Centre d'Etudes et de Contrôle des Variétés et des Semences. Site consulté le 13 mars 2012, <http://cat.geves.info/page/ListeNationale>.
- ❖ **Halliwell B, Gutteridge J.M.C. 1999.** *Free radicals in biology and medicine*, Oxford, UK.
- ❖ **Heli Jroy R.D, Shanna Lundy M.S, Chad Eriksen B.A, Beth K. 2007.** Flaxseed: A Review of Health Benefits. *Pennington Nutrition N°5, P 4*
- ❖ **Hocking P.J, Kirkegaard, J.A, Angus J.F. 1997.** Comparison of canola, Indian mustard and linola in two contrasting environments. I. Effects of nitrogen fertilizer on dry matter production, seed yield and seed quality. *Field Crops Research*, 49, 2-3.
- ❖ **Huang D, Ou B, Prior R.L. 2005.** The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (6), 1841-1856.
- ❖ **INRA S. P. (page mise à jour le 27 février 2007).** Comprendre la graine des oléagineux pour en extraire l'huile  
[http://www.inra.fr/presse/comprendre\\_la\\_graine\\_des\\_oleagineux\\_pour\\_extraire\\_huile](http://www.inra.fr/presse/comprendre_la_graine_des_oleagineux_pour_extraire_huile).
- ❖ **Kaithwas G, Mukerjee A, Kumar P, Majumdar D.K. 2011.** *Linum usitatissimum* (linseed/flaxseed) fixed oil: antimicrobial activity and efficacy in bovine mastitis. *InflammoPharmacology*, 19, 45-52
- ❖ **Karleskind A. 1992.** Manuel des corps gras Tome II. *Edition. Technique et document.* Paris, 1992, p1-1565.

- ❖ **Ksouri R, Megdiche W, Debez A, Falleh, H, Grignon, C, Abdelly C. 2007.** Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 45, 244-249.
- ❖ **Labalette F, Landé N, Wagner D, Roux-Duparque M, Saillet E. 2011.** La filière lin oléagineux française : panorama et perspectives. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 18(3), 113-122.
- ❖ **Lafond G.P, Irvine B, Johnston A.M, May W.E, Mcandrew D.W, Shirtliffe S.J, Stevenson F.C. 2008.** Impact of agronomic factors on seed yield formation and quality in flax. *Canadian Journal of Plant Science*, 88(3), 485-500.
- ❖ **Laiq Khan M, Sharif M, Sarwar Sameea M, Ameen M. 2010.** Chemical composition of different varieties of linseed. *Pakistan Veterinary Journal*, 30(2), 79-82.
- ❖ **Laissouf A, Mokhtari-Soulimane N, Merzouk H, Benhabib N. 2013.** Dietary flaxseed oil supplementation improves the Oxidant/antioxidant status in obese aged rats. *International Journal of Medicine and Pharmaceutical Sciences*, 3, 87-94.
- ❖ **Lebham. 2005.** Thèse au laboratoire d'Ecophysiologie et de Biotechnologie des Halophytes et des Algues au sein de l'Institut Universitaire Européen de la Mer. (IVEM) (Université de Bretagne Occidentale (UBO)).
- ❖ **Lisu W, Jui-Hung Y, Hsiao-Ling L, Ming-Jiuan W. 2003.** Antioxydant effect of methanol extracts from Lotus Plumule and Blossom (*Nelumbo nucifera* Gertn). *Journal of food and drug analysis*, 11(1), 60-66.
- ❖ **Luque de castro M.D, Garcia-Ayuso L.E. 1998.** Soxhlet extraction of solid materials: An outdated technique with a promising innovative future. *Analytica Chimica Acta*, 369,110.
- ❖ **Lutge U, Kluge M, Bauer G. 2002.** Botanique 3ème Edition : Technique et documentation, *Lavoisier. Paris*. p211.
- ❖ **Ma W.G, Tan R.X, Fuzzati N, Li Q.S, Wolfender J.L, Hostettmann K. 1997.** Natural occurring and synthetic polyene glycosides. *Phytochemistry*, 45(2),411-415.
- ❖ **Macheix J.J, Fleuriet A, Jay-Allemand C. 2005.** *Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique*. Edition. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, p4-5.
- ❖ **Massaro M, Scoditti E, Carluccio M.A, De Caterina R. 2010.** Nutraceuticals and prevention of atherosclerosis: focus on omega-3 polyunsaturated and prevention of

- atherosclerosis: focus on omega-3 polyunsaturated fatty acids and Mediterranean diet polyphenols. *Cardiovascular therapeutics*, 28, 13-19.
- ❖ **Middleton E, Kandaswami C, Theoharides T.C. 2000.** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol Review*, 52, 673-839.
  - ❖ **Miller N.J, Sampson J, Candeias L.P, Bramley P.M, Rice-Evans C.A. 1996.** Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS letters*, 384(3), 240-242.
  - ❖ **Mircoli L, Negrini M, Turri C, Protasoni G, Brusoni B, Seregini R. 2008.** *Nutrition. Metabolism. Cardiovascular. Diseases*, 18, Supplement S51-S52.
  - ❖ **Mirela Popa V, Gruia A, Nicoleta Raba D, Dumbrava D, Moldovan C, Bordean D, Mateescu C. 2012.** Fatty acids composition and oil characteristics of linseed (*Linum Usitatissimum* L.) from Romania. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 18 (2), 136-140.
  - ❖ **Nesbitt P.D, Lam, Y, Thompson L.U. 1999.** Human metabolism of mammalian lignan precursors in raw and processed flaxseed. *The American journal of clinical nutrition*, 69(3), 549-555.
  - ❖ **Ollé M. 2002.** Analyse des corps gras. *Bases documentaires : techniques d'analyses ; Référence P3325 ; Edition. Techniques de l'ingénieur. <http://www.techniques-ingenieur.fr>*
  - ❖ **Perrin J.L. 1992.** Manuel des Corps Gras, tome 2. Edition. Technique et documentation. *Lavoisier, Paris*.
  - ❖ **Pierre L, Lis L. 2011.** Secrets des plantes. France. *Artémis*.
  - ❖ **Renouard S. 2011.** *Régulation transcriptionnelle de la biosynthèse des lignanes du lin (linum usitatissimum et linum flavum) et amélioration de l'extraction de Lignanes. Science du vivant, Thèse de doctorat (Université d'Orléans), p231.*
  - ❖ **Rombaut N. 2013.** *Etude comparative de trois procédés d'extraction d'huile : aspects qualitatifs et quantitatifs : application aux graines de lin et aux pépins de raisin, Thèse de doctorat (Université de Technologie Compiègne), p22.*
  - ❖ **SANCHEZ-MORENO C. 2002.** Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems, *International Journal of Food Science and Technology*, 8, 121-137.
  - ❖ **Savoire R. 2008.** *Etude multi-échelles de la séparation solide-liquide dans la trituration du lin oléagineux, Thèse de doctorat (Université de Technologie, Compiègne), p11.*

- ❖ **Singleton V.L, Ortofer R, Lamuela-Raventos R.M. 1999.** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxydant by means of Folin Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
- ❖ **Sultana C. 1992.** Le lin oléagineux. *Dans : Manuel des corps gras. Karleskind A. edition., Lavoisier Technique et documentation, Paris, France, vol. 1, p154-157.*
- ❖ **Svoboda K.P, Hapson J.B. 1999.** Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants antibacterial, antioxydant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities. Ayr(Scotland), *Plant Biology Department.*
- ❖ **Thompson L.U, Rickard S.E, Orcheson L.J, Seidl M.M. 1996.** Flaxeed and its ligan and oil components reduce mammary tumor growth at a late stage of carcinogenesis. *Carcinogenesis*, 17, 1373-1379.
- ❖ **Tzang B. S, Yang S. F, Fu S. G, Yang H.C, Sun H. L, Chen Y.C. 2009.** Effects of dietary flaxseed oil on cholesterol metabolism of hamsters. *Food Chemistry*, 114, 1450-1455.
- ❖ **Urquiaga I, Leighton F. 2000.** Plant Polyphenol Antioxidants and Oxidative Stress. *Biological research*, 33(2), 55-64.
- ❖ **USDA. 2007.** United States Department of Agriculture. National Genetic Resources Program. Germplasm Resources Information Network—(GRIN). Available at: <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/taxon.pl?22326>; accessed February/8, 2007; verified 20 Feb. 2008. National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, MD.