



UNIVERSITÉ MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI
BORDJ BOU ARRERIDJ

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج

Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi- B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون

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

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques



UNIVERSITÉ MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI
BORDJ BOU ARRERIDJ

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Science biologique

Spécialité : Biochimie

Intitulé

**Dosage des composés phénoliques et détermination de
l'activité antioxydante de *Linum usitatissimum* L**

Présenté par : Bentoumi Ilhem
Boukhalfa Sarra

Soutenu : septembre 2019;

Devant le jury :

Président :

M^r Djenidi Redha

Pr (Univ. Bordj Bou Arreridj)

Encadrant :

M^{me} Siouda Wafa

MCB (Univ. Bordj Bou Arreridj)

Examineur :

M^r Touati Noureddine

MCA (Univ. Bordj Bou Arreridj)

Année universitaire : 2018/2019

Dédicaces

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, à toi mon père.

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; maman que j'adore.

A mon mari pour ton amour, ta compréhension, ta confiance, et ta patience. Tu es et tu resteras toujours ma source d'encouragement.

A ma petite fille Razane, avant même que mes yeux ne te voient ma chérie, mon amour et mon affection pour toi n'ont pas cessé de s'accroître de jour en jour. Ta naissance illumine ma vie et la rend plus joyeuse et pleine de sens.

A tous mes frères et mes sœurs et ma grande famille.

Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes côtés, et qui m'ont accompagné durant mon chemin d'études supérieures.

Ilhem

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

A mes parents .Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour Dont ils ne cessent de me combler. Que dieu leur procure bonne santé et longue vie.

A celui que j'aime beaucoup et qui m'a soutenue tout au long de ce projet : mon mari et bien sûr à mes frères et ma sœur.

A toute ma famille, et mes amis, et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.

Sarah

Remerciements

En premier lieu, nous remercions notre dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

Tout d'abord, Nous exprimons nos profonds remerciements aux président du jury M^r Djenidi d'avoir accepté d'évaluer notre modeste travail.

Nous tenons à remercier notre promoteur pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.

Nous tenons à remercier l'examineur M^r Touati d'avoir accepté d'examiner notre mémoire.

Nos remerciements s'adressent à Mr Bellik Y et M^r Makhokh N pour leur aide pratique, leur soutien moral et leur encouragements.

Nos derniers remerciements et ce ne sont pas les moindres, vont à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin, directement ou indirectement pour l'aboutissement de ce travail.

Résumé

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'effet de la méthode d'extraction: macération et Soxhlet sur le rendement, teneur des substances bioactives (polyphénols et flavonoïdes) et sur l'estimation de l'activité antioxydante des graines de lin commercialisées. Dans ce travail deux extraits ont été préparés, à partir des graines de cette plante, un solvant (éthanol) et deux méthodes (macération et Soxhlet) ont été testées sur l'activité antioxydante *Linum usitatissimum*. Les résultats obtenus montrent que la méthode d'extraction affecte significativement les rendements et la teneur en métabolites secondaires (polyphénols et flavonoïdes), ainsi que, l'activité antioxydante. Le meilleur rendement a été enregistré par l'extrait éthanolique de Soxhlet de 42,2%. Pareillement, cet extrait plus efficace pour l'extraction des composés phénoliques ($14,67 \pm 0,98$ mg EAG/g EX), ainsi que, pour les flavonoïdes ($7,48 \pm 0,212$ mg EQ/g EX). L'évaluation du pouvoir antioxydant qui a été réalisée en utilisant la méthode du piégeage du radical libre DPPH et celle de la réduction du fer a indiqué que l'extrait éthanolique par Soxhlet a montré une bonne activité antioxydante à 83,42% à la concentration 0,1g/ml(extrait brut), est doté du pouvoir réducteur le plus élevé que l'autre extrait. Cette étude démontre que la plante étudiée possède des activités antioxydantes considérables.

Mots clés: *Linum usitatissimum* L., activité antioxydante, Soxhlet, macération.

Abstract

The objective of this study is to evaluate the effect of the extraction method: maceration and Soxhlet on the content of bioactive substances (polyphenols and flavonoids) and on the estimation of the antioxidant activities of flaxseeds marketed. In this study two extracts were prepared, from the seeds of this plant, with ethanol as a solvent and two methods (maceration and Soxhlet) were tested on the antioxidant activity of *Linum usitatissimum*. The results obtained showed that the extraction method significantly affects the secondary metabolite content (polyphenols and flavonoids), as well as the antioxidant activity. The best yield was checked by the ethanolic Soxhlet extract of 42.2%. Similarly, this extract is more effective for the extraction of phenolic compounds (14.67 ± 0.98 mg EAG / g EX), as well as for flavonoids (7.48 ± 0.212 mg EQ / g EX). The evaluation of the antioxidant power which was carried out using the DPPH free radical scavenging method and that of the reduction of iron indicated that the ethanolic extracts by Soxhlet presented a good antioxidant activity at 83.42% at concentration 0,1 g/ml (raw extract), and has the highest reducing power that the other extract. This study demonstrates that the plant under study has considerable antioxidant activity.

Key words: *Linum usitatissimum* L., antioxidant activity, Soxhlet, maceration.

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم تأثير طريقة الاستخلاص: macération و Soxhlet على قيمة عديدات الفينول، وتقييم نشاط مضادات الأكسدة. في هذا العمل تم إعداد مستخلصين من بذور هذا النبات بطريقتين كيميائيتين مختلفتين (macération, Soxhlet) باستعمال مذيب الإيثانول واختبار تأثيرهم على النشاط المضاد للأكسدة لهذه البذور المسوقة. أظهرت النتائج المتحصل عليها ان طريقة الاستخلاص تؤثر بشكل ملحوظ على عائدات المركبات الفينولية (البوليفينول والفلافونويد) وكذلك على النشاط المضاد للأكسدة. تم الحصول على افضل عائد من المستخلص الإيثانول للسوكسليت بنسبة 42,2%. وكذلك هذا المستخلص هو الاكثر فعالية من حيث استخراج المركبات الفينولية ($14,67 \pm 0,98$ مغ EAG/غ مستخلص) والفلافونويد ($7,48 \pm 0,212$ مغ EQ/غ مستخلص) و اخيرا تم اجراء دراسة النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصين باستخدام طريقة محاصرة الجذور الحرة DPPH وتقليل الحديد حيث تبين من خلالها ان المستخلص الإيثانول للسوكسليت اظهر نشاط مضاد للأكسدة جيد عند التركيز 0,1 غ /مل(مستخلص خام)و المقدر ب 83,42% و قدرة عالية على خفض الحديد. من خلال هذه الدراسة تبين ان النبات المدروس له نشاط مضاد للأكسدة معتبر.

الكلمات المفتاحية: *Liium usitatissimum* L. ، نشاط مضاد الأكسدة ، Soxhlet, macération

Résumé

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'effet de la méthode d'extraction: macération et Soxhlet sur le rendement, teneur des substances bioactives (polyphénols et flavonoïdes) et sur l'estimation de l'activité antioxydante des graines de lin commercialisées.

Dans ce travail deux extraits ont été préparés, à partir des graines de cette plante, un solvant (**éthanol**) et deux méthodes (**macération et Soxhlet**) ont été testées sur l'activité antioxydante *Linum usitatissimum*. Les résultats obtenus montrent que la méthode d'extraction affecte significativement les rendements et la teneur en métabolites secondaires (polyphénols et flavonoïdes), ainsi que, l'activité antioxydante.

Le meilleur rendement a été enregistré par l'extrait éthanolique de Soxhlet de 42,2%. Pareillement, cet extrait plus efficace pour l'extraction des composés phénoliques ($14,67 \pm 0,98$ mg EAG/g EX), ainsi que, pour les flavonoïdes ($7,48 \pm 0,212$ mg EQ/g EX). L'évaluation du pouvoir antioxydant qui a été réalisée en utilisant la méthode du piégeage du radical libre DPPH et celle de la réduction du fer a indiqué que l'extraits éthanolique par Soxhlet a montré une bonne activité antioxydante à 83,42% à la concentration 0,1g/ml(extrait brut), est doté du pouvoir réducteur le plus élevé que l'autre extrait.

Cette étude démontre que la plante étudiée possède des activités antioxydantes considérables.

Mots clés: *Linum usitatissimum* L., activité antioxydante, macération, Soxhlet.

Abstract

The objective of this study is to evaluate the effect of the extraction method: maceration and Soxhlet on the content of bioactive substances (polyphenols and flavonoids) and on the estimation of the antioxidant activities of flaxseeds marketed. In this study two extracts were prepared, from the seeds of this plant, with ethanol as a solvent and two methods (maceration and Soxhlet) were tested on the antioxidant activity of *Linum usitatissimum*. The results obtained showed that the extraction method significantly affects the secondary metabolite content (polyphenols and flavonoids), as well as the antioxidant activity. The best yield was checked by the ethanolic Soxhlet extract of 42.2%. Similarly, this extract is more effective for the extraction of phenolic compounds (14.67 ± 0.98 mg EAG / g EX), as well as for flavonoids (7.48 ± 0.212 mg EQ / g EX). The evaluation of the antioxidant power which was carried out using the DPPH free radical scavenging method and that of the reduction of iron indicated that the ethanolic extracts by Soxhlet presented a good antioxidant activity at 83.42% at concentration 0,1 g/ml (raw extract), and has the highest reducing power that the other extract. This study demonstrates that the plant under study has considerable antioxidant activity.

Key words: *Linum usitatissimum* L., *Linaceae*, antioxidant activity, maceration, Soxhlet.

ملخص:

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم تأثير طريقة الاستخلاص: macération و Soxhlet على قيمة عديدات الفينول، وتقييم نشاط مضادات الأكسدة . في هذا العمل تم إعداد مستخلصين من بذور هذا النبات بطريقتين كيميائيتين مختلفتين (macération, Soxhlet) باستعمال مذيب الايثانول واختبار تأثيرهم على النشاط المضاد للأكسدة لهذه البذور المسوقة.

أظهرت النتائج المتحصل عليها ان طريقة الاستخلاص تؤثر بشكل ملحوظ على عائدات المركبات الفينولية (البوليفينول والفلافونويد) و كذلك على النشاط المضاد للأكسدة. تم الحصول على افضل عائد من المستخلص الإيثانول للسوكسلت بنسبة 42.2% وكذلك هذا المستخلص هو الاكثر فعالية من حيث استخراج المركبات الفينولية ($0,98 \pm 14,67$ مغ EAG/غ مستخلص) والفلافونويد ($0,212 \pm 7,48$ مغ EQ/غ مستخلص و اخيرا تم اجراء دراسة النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصين باستخدام طريقة محاصرة الجذور الحرة DPPH وتقليل الحديد حيث تبين من خلالها ان المستخلص الإيثانول للسوكسلت اظهر نشاط مضاد للأكسدة جيد عند التركيز 0,1 غ /مل(مستخلص خام)و المقدر ب 83,42% و قدرة عالية على خفض الحديد.

من خلال هذه الدراسة تبين ان النبات المدروس له نشاط مضاد للأكسدة معتبر.

الكلمات المفتاحية: *Lium usitatissimum L* ، نشاط مضاد الأكسدة ، macération, Soxhlet

Sommaire

Introduction	1
Chapitre I Partie bibliographique	
1.1 Présentation de la plante.....	2
1.1.1 Historique.....	2
1.1.2 Monographie de lin.....	2
1.1.2.1 Caractéristique botanique.....	2
1.1.2.2 Classification scientifique de lin.....	3
1.1.3 Culture et récolte.....	4
1.1.4 La composition du lin.....	5
1.1.5 Usage traditionnelle.....	5
1.1.6 Utilisation pharmacologique.....	5
1.1.7 Toxicité.....	7
1.2 Caractéristique phytochimique.....	7
1.2.1 L'huile de lin.....	7
1.2.2 graine de lin.....	8
1.2.2.1 protéines.....	8
1.2.2.2 composés glucidiques.....	9
1.2.2.3 composés phénoliques.....	9
1.2.2.3.1 acides phénoliques dans les graines de lin.....	9
1.2.2.3.2 flavonoïdes.....	10
1.3 Activité antioxydante.....	11
1.3.1 radicaux libres.....	12
1.3.2 Stress oxydatif.....	12
1.3.3 Métabolites secondaires.....	13

1.3.3.1 polyphénols.....	13
1.3.3.2 Flavonoïdes.....	13
1.3.4 Activité antioxydant des polyphénols.....	14
1.3.5 Activités antioxydante des flavonoïdes.....	14

Chapitre II Matériel et méthodes

2.1 Matériel végétal.....	16
2.2 Extraction.....	16
2.2.1 Extraction par macération.....	16
2.2.2 Extraction par Soxhlet.....	17
2.3 Evaporation.....	18
2.3.1 L'évaporation au Rotavapeur.....	18
2.4 Détermination de rendement d'extraction.....	19
2.5 Dosage.....	19
2.5.1 Dosage des composés phénoliques totaux	19
2.5.2 Dosage des flavonoïdes.....	20
2.6 Mesure du pouvoir antioxydant des extraits étudiés.....	20
2.6.1 Piégeage du radical DPPH.....	20
2.6.2 Pouvoir réducteur.....	22
2.7 Analyse statistique.....	22

Chapitre III Résultats et discussion

3.1 Rendement.....	23
3.2 Teneur en polyphénols.....	23
3.3 Teneur en flavonoïdes.....	25
3.4 Activité antioxydante des extraits de <i>Linum usitatissimum</i> L.....	25
3.4.1 Test de piégeage du DPPH.....	26

3.4.2 Pouvoir réducteur du fer.....	28
Chapitre IV Conclusion.....	30
Références bibliographiques.....	31
Annexe	

Liste des figures

Figure 01: Planche botanique du lin cultivé (<i>Linum usitatissimum L</i>).....	3
Figure 02 : Fruit et graine de lin	4
Figure 03: Structure de base de flavonoïdes	14
Figure 04 : Piégeage des radicaux libres par les flavonoïdes.....	15
Figure 05 : Les graines de <i>Linum usitatissimum L</i> utilisés.....	16
Figure 06 : Processus de broyage et tamisage des graines de Lin.....	16
Figure 07: Processus d'agitation et filtration de l'extrait des graines de Lin.....	17
Figure 08: Montage de l'extracteur Soxhlet.....	17
Figure 09 : Montage de L'évaporateur rotatif de laboratoire.....	19
Figure 10: Réduction du radical DPPH par un antioxydant.....	21
Figure 11 : Teneurs en polyphénols totaux dans les deux extrait macération/ Soxhlet en équivalent d'acide gallique.....	24
Figure 12 : Teneurs en flavonoïdes dans les deux extraits macération/ Soxhlet en équivalent de quercétine.....	25
Figure 13 : Résultats du test DPPH.....	27
Figure 14: Résultats du test de pouvoir réducteur	28
Figure 15: L'activité réductrice du fer de l'extrait et les standards utilisés	29

Liste des abréviations

AA: Activité Antioxydante.

ADN: Acide désoxyribonucléique.

DO: Densité Optique.

DPPH: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazine.

EAG: Equivalents en Acide Gallique.

EQ : Equivalent en quercétine.

ERO: Espèce Réactive de l'Oxygéné.

EX: Extrait.

Fe²⁺ : Fer ferreux.

Fe³⁺ : Fer Ferrique.

FeCl₃ : Chlorure Ferrique.

GSH: Glutathion

H (%): Taux d'Humidité.

IC₅₀: La concentration qui correspond à 50% d'inhibition.

K₂ Fe : Ferricyanure de Potassium.

MS: Matière sèche.

Na₂CO₃ : carbonate de sodium.

OMS : l'Organisation Mondiale de la Santé.

PI (%): Pourcentage d'Inhibition.

RE (%):Rendement en extrait (%).

SD: Déviation Standard

TCA : Acide Trichloracétique

Liste des tableaux

Tableau I	Description botanique de <i>Linum usitatissimum</i> L.....	2
Tableau II	Classification scientifique de <i>Linum usitatissimum</i> L.....	4
Tableau III	Composition chimique (%) des grains de lin.....	5
Tableau IV	Propriétés thérapeutique de <i>Linum usitatissimum</i> L.....	6
Tableau V	Composition en acides gras de l'huile de lin	8
Tableau VI	Composition en acides aminés des graines de lin et de soja.....	9
Tableau VII	Structure des principaux acides phénoliques	10
Tableau VIII	Teneurs des différents flavonoïdes dans les graines de lin.....	11
Tableau IX	Les principales espèces ERO générée dans les systèmes biologiques.....	12
Tableau X	les couleurs de l'extrait par macération et Soxhlet.....	23
Tableau XI	Rendements des extraits végétaux après l'évaporation des solvants.....	23
Tableau XII	le pouvoir antioxydant (exprimé par IC50) de standard et des extraits testés.....	26

Introduction

Dans presque toutes les cultures, L'utilisation des plantes médicinales par l'homme est une pratique antique. Les remèdes à base des plantes sont à nouveau obtenir une attention substantielle. Selon un sondage menée dans l'Union européenne, près de 1400 plantes médicinales sont utilisées pour le traitement de nombreuses maladies inflammatoires et dégénératives (**Uma et al., 2010**). Le mécanisme d'action des plantes n'est pas clair pour la plupart des produits, bien que les avantages de ces plantes sont dues à la présence des constituants phytochimiques biologiquement actives (**Alasalvar et al., 2006**), dont les polyphénols qui forment une classe de molécule très importante, et sont connus par leurs nombreuses activités biologiques, comme l'activité antivirale, anti-inflammatoire, antioxydante, et anticancéreuse...etc (**Bahorun, 1997**).

La plupart des effets médicinaux des extraits sont liés aux activités antioxydantes, qui ont le potentiel de réduire le processus de l'oxydation cellulaire, en réagissant avec les radicaux libres, et diminuant ainsi les risques des maladies cardiaques, maladies neurodégénératives, cancer et vieillissement (**Astley, 2003**).

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 (**Palla et al., 2016**).

La graine de lin contient des protéines, des fibres alimentaires, des polysaccharides, des composés polyphénoliques et des acides gras essentiels bénéfiques pour la santé qui pourraient aider à prévenir certaines maladies. Sa teneur en acide alpha-linolénique (ALA, un acide gras oméga-3 essentiel) en fibres alimentaires et en lignanes présente un intérêt spécial pour les consommateurs (**Vaisey-Gaiser et al., 2003**), les oméga-3 favorisent une meilleure communication entre les cellules du cerveau, régularisent le rythme cardiaque et agissent également comme puissant anti-inflammatoire (**Béliveau, 2006**).

Dans ce contexte, l'objectif de la présente étude est :

La préparation des extraits à partir des graines de *Linum usitatissimum* L; Démontrer la richesse de notre plante en polyphénols, et en flavonoïdes; L'étude du pouvoir antioxydant des extraits de la plante par le test au DPPH, et le test de pouvoir réducteur.

1.1 Présentation de la plante

1.1.1 Historique

Le lin est une plante annuelle herbacée faisant partie de la famille des Linacées (Beard & Comstock, 1980). Cette famille présente plus de 200 espèces de lin, dont la plus répandue et la plus cultivée est *Linum usitatissimum* (Bolsheva *et al.*, 2015). Cette famille de 200 variétés cultivées dans la liste de l'organisation du commerce et développement économique (OCDE), destinée au commerce international (Jhalla & Hall, 2010). Le lin fut l'une des premières plantes cultivées par l'homme. Des traces de son existence datant de - 8000 ans avant J.C. Néanmoins son origine probablement des hauts plateaux d'Asie, de l'Ouest et de la Méditerranée (Millam *et al.*, 2005). Son utilisation a été étendue par l'Égypte des pharaons. La culture du lin a été introduite en Europe par Charlemagne au cours du premier millénaire après J.C. C'est une ancienne plante signalé dans toutes les vieilles civilisations (Debuigne & Couplan, 2013).

Son nom botanique a été donné par Linnaeus en 1857 dans son livre "Species Plantarum" (Jhalla & Hall, 2010). Il était cultivé principalement en vue de l'utilisation de ses fibres et pour son huile depuis au moins 5000 ans avant J.C. (Oomah, 2001).

1.1.2 Monographie de lin

1.1.2.1 Caractéristique botanique

C'est une plante dicotylédone autogame (Bloedon & Szapary, 2004) annuelle, bisannuelle ou vivace, d'une extrême finesse, assez peu profondément enracinée (racine pivotante) car le lin est arraché, il n'est pas fauché (Roberto, 1982 ; Bernard, 2001). (Tableau I).

Tableau I : Description botanique de *Linum usitatissimum* L (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	Autopollinisation
Durée de floraison	15 jours (mais seulement quelques heures par fleur)

période de floraison	juin-juillet
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), longues de 4 à 6 mm et larges de 3mm.
Génome	composé de 15 paires de petits chromosomes. Génome séquencé accessible depuis début 2011.

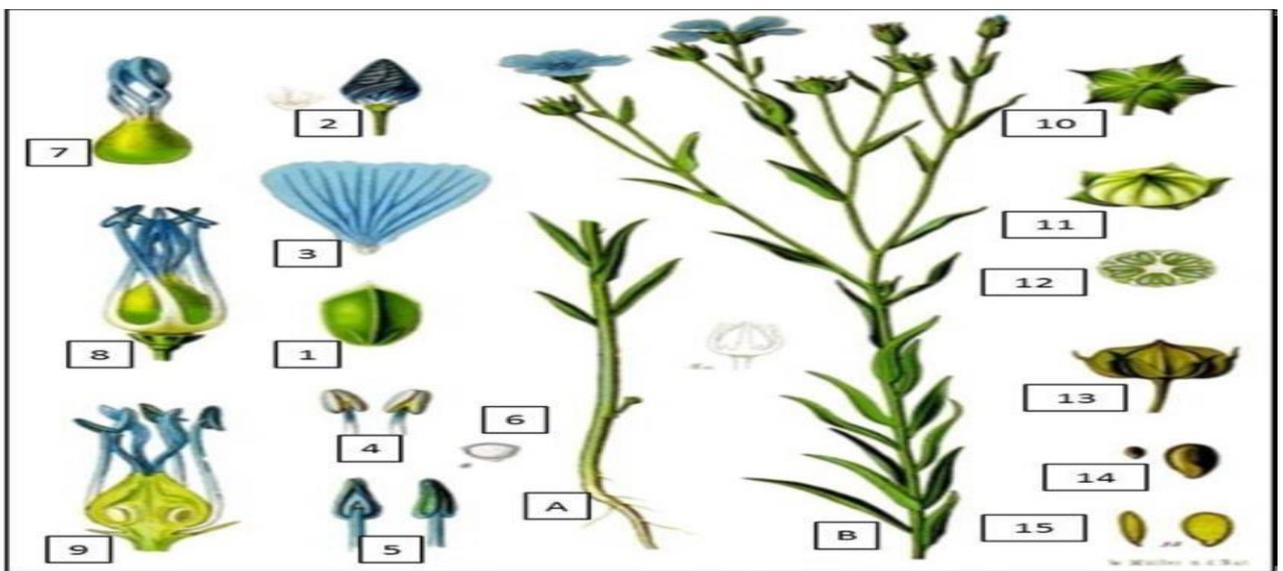


Figure 01: Planche botanique du lin cultivé (*Linum usitatissimum* L) (Sébastien, 2015).

A, B : plante; **1**: sépales; **2**: bourgeons sans calice; **3**: pétale; **4** et **5**: étamines; **6**: graine pollen ; **7**: pilon avec 5 colonnes; **8** et **9**: Fleur sans calice, corolle et étamines ; **10, 11**: fruit non mur (capsule) ; **12**: coupe transversale d'une capsule de lin ; **13**: fruit mature ; **14**: Graine de lin brune ; **15**: coupe longitudinale des graines de lin brune.

1.1.2.2 Classification scientifique de lin

La famille du Linaceae est géographiquement répandue plus de 200 espèces dans le monde entier.

Cette famille est positionnée dans le royaume des plantes comme suit (**Tableau II**) (Messaoudi, 2017).

Tableau II: Classification scientifique de *Linum usitatissimum* L (Diederichsen & Richards, 2003).

Classification	Nom scientifique
Règne	Plantae
Sous règne	Tracheobionta
Division	Ptéridophyte
Sous-division	Angiospermae
Classe	Dicotyledoneae
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Geraniales
La famille	Linaceae
Tribu	Linoideae
Genre	<i>Linum</i>
Espèce	<i>Linum usitatissimum</i> L.



Figure 02 : Fruit et graine de lin (Heli *et al.*, 2007)

1.1.3 Culture et récolte

Le lin est une très bonne culture de rotation puisqu'il a de très faibles besoins en azote et n'appauvrit donc pas le sol. Il aime pour sa culture, une terre légère et 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 (Pierre & Lis, 2011).

1.1.4 La composition du lin

La composition du lin varie selon la variété et les facteurs environnementaux. 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 & Karababa, 2007**). Les graines de lin présentent également des teneurs élevées en lignane et notamment en SDG (secoisolaricirésinoldi-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 III**).

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

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

1.1.5 Usage traditionnelle

L'usage du lin par l'homme est attesté depuis plus de 30 000 ans. Son nom latin de *Linum usitatissimum* : « lin de tous les usages » est amplement mérité (**Wilson, 1988**). Les Hippocratiques utilisent les graines, tant à l'intérieur qu'à l'extérieure, contre les catarrhes, les douleurs abdominales, la diarrhée et la leucorrhée, en faisant des cataplasmes adoucissants. Quant à Dioscoride, il reconnaît aux elles les mêmes propriétés qu'à celles de fenugrec contre les inflammations de toutes natures, interne et externe, comme laxatives, béchiques expectorantes et adoucissantes. Dès cette époque le lin commençait à supplanter la laine pour le vêtement. Au moyen Age, la graine est utilisée contre les douleurs hépatiques, celles de la rate, de la poitrine, contre la fièvre, la chute des cheveux et sur les brûlures. Aux XV et XVI siècle, commençant sur l'usage de l'huile de lin tant externe qu'interne. Fournier, lui, la préconisait dans toutes les maladies en ite : gastrite, entérite, cystite, bronchite (**Debuigne & Couplan, 2013**).

1.1.6 Utilisation pharmacologique

Les graines de lin et l'huile de lin sont redécouvertes comme de véritables aliments indispensables pour la santé. Le lin n'est pas un nouvel aliment, Il est en fait un des plus anciens et peut-être, un des aliments originaux «précieux en raison de ses propriétés de

guérison », c'est une plante millénaire aux vertus médicinales (Halligudi, 2012). Ils sont utilisés pour divers usage (Laiq Khan *et al.*, 2010) résumée dans le diagramme suivant :

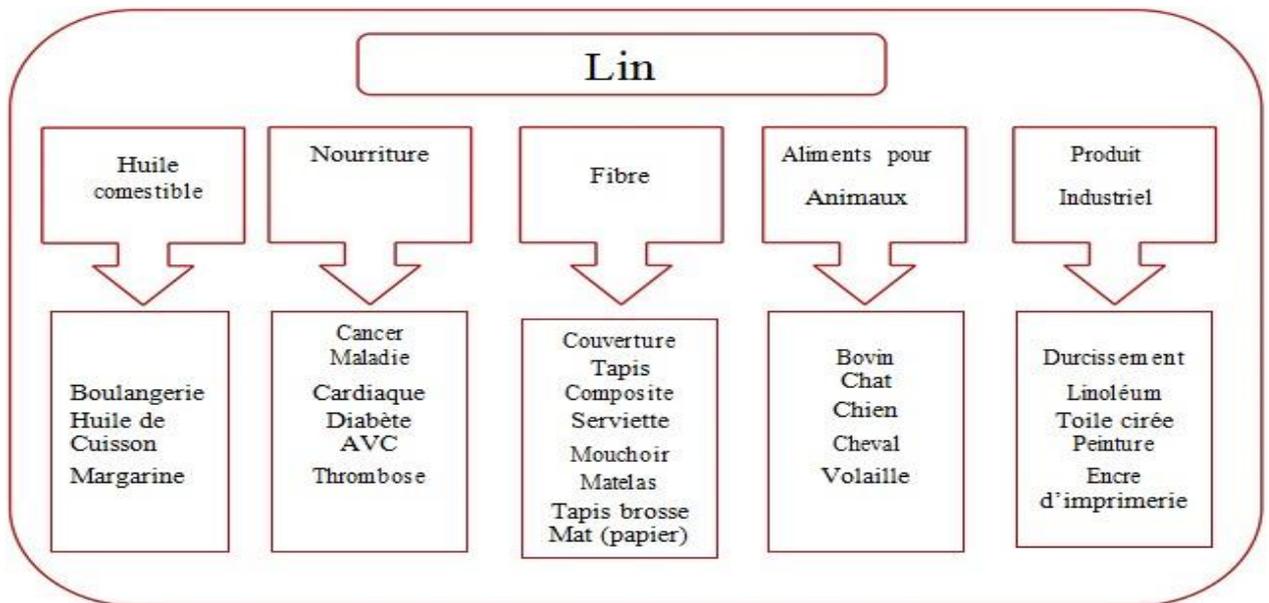


Diagramme qui représente l'utilisation du lin (Laiq Khan *et al.*, 2010)

Les applications thérapeutiques de lin sont résumées dans le tableau suivant (tableau IV):

Tableau IV : Propriétés thérapeutique de *Linum usitatissimum L*

Propriétés Thérapeutiques	Actions	Références
Constipation chronique	<ul style="list-style-type: none"> - Ses graines absorbent les liquides intestinaux. - Favorisent le drainage du colon et contribuent à ramollir les selles et à faciliter leur évacuation 	(Blumenthal <i>et al.</i>, 2000). (Iserin, 2001 ; Halligudi, 2012).
Activité anticancéreuse	<ul style="list-style-type: none"> -L'ingestion de la graine comme prévention du cancer du sein, utérin, de la prostate. - La farine de lin réduit la prolifération des cellules épithéliales et les aberrations nucléaires dans les glandes mammaires 	(Halligudi, 2012). (Serraino & Thompson, 1991).
Anti tumoral	<ul style="list-style-type: none"> - La lignane de lin réduit la croissance des tumeurs mammaires. - Huile de lin diminue significativement la multiplicité et la taille de tumeur chez l'intestin grêle et le colon. 	(Thompson <i>et al.</i>, 1996) (Bommareddy <i>et al.</i>, 2009).
Agents chimio-préventifs	La farine de lin et l'huile sont efficaces agents chimio-préventifs	(Bommareddy <i>et al.</i>, 2009).

Amélioration des lipides sanguins	-Diminution du cholestérol plasmatique total. -Une réduction des taux sériques de TG et de LDL-cholestérol sans aucune altération de l' HDL	(Ratnayake <i>et al.</i> , 1992). (Bierenbaum <i>et al.</i> , 1993). (Youn Young Shima <i>et al.</i> , 2014).
Suppression de développement de l'athérosclérose	-Réduction significative de la pression artérielle systolique et diastolique. -Abaissement l'athérosclérose hypercholestérolémique	(Rodriguez-Leyva <i>et al.</i> , 2013). (Prasad <i>et al.</i> , 1998). (Yang <i>et al.</i> , 2005).
Effet sur l'inflammation (médiateurs et marqueurs)	Diminué les niveaux de facteur de nécrose tumorale- α (TNF- α), interleukine-6 (IL-6). et d'IL-10.	(Caughey <i>et al.</i> , 1996). (Chavali <i>et al.</i> , 1998).
Tension artérielle	- Protéines de lin sont riches en arginine, un acide aminé qui, lorsqu'il est présent dans l'endothélial vasculaire, peut abaisser la tension artérielle.	(Udenigwe <i>et al.</i> , 2012). (Marambe <i>et al.</i> , 2008). (Allman-Farinelli <i>et al.</i> , 1999). (Paschos <i>et al.</i> , 2005 ; 2007)
Activité antioxydant	Peptide linière efficace pour piéger les radicaux hydroxyles.	(Udenigwe & Aluko, 2010)
Le système nerveux	Huile de lin est riche en oméga-3 qui est nécessaire pour le développement normal du système nerveux.	(Uauy <i>et al.</i> , 1996).

1.1.7 Toxicité

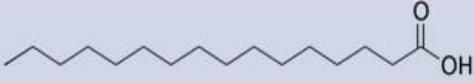
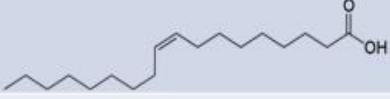
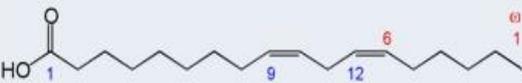
L'huile des graines de lin s'oxyde rapidement et a été longtemps interdite pour cette raison, autorisée à nouveau à la consommation depuis 2010, elle est très riche en oméga-3 et oméga-6. Il faut éviter d'avaler les graines au risque d'une occlusion intestinale (Debuigne & Couplan, 2013).

1.2 Caractéristique phytochimique

1.2.1 L'huile de lin

Les graines de lin sont majoritairement composées d'huile (30 à 45 %) 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. Chez les graines de lin, les huiles sont composées majoritairement de 5 acides gras (Tableau V), l'acide palmitique (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 (50 à 62%). La composition chimique de l'huile de lin peut varier selon les lieux de culture et les variétés (Lafond *et al.*, 2008).

Tableau V : Composition en acides gras de l'huile de lin (Gutiérrez *et al.*, 2010 ; 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'Acides gras saturés
Acide stéarique	C18:0		2-6	
Acide oléique	C18:1 ω9		10-22	75-95 % d'Acides gras insaturés
Acide linoléique	C18:2 ω6		12-18	
Acide α-linolénique	C18:3 ω3		50-62	

1.2.2 La graine de lin

1.2.2.1 Les protéines

Les graines de lin sont composées de protéines qui sont accumulées dans les cotylédons (76%) et une partie minoritaire au niveau de l'endosperme (16%) (Oomah, 2003). Elles sont composées de 66 % de globulines, 35 % d'albumine (Oomah & Mazza, 1993 ; Venglat *et al.*, 2011). Les graines de lin contiennent des teneurs élevées en acides aminés essentiels comme la leucine, la phénylalanine, la valine, l'isoleucine, la lysine ou la thréonine. Les teneurs en acides aminés sont similaires à celles trouvées dans les protéines de soja (Tableaux VI). Ces proportions leur confèrent un très grand intérêt pour l'apport d'acides aminés essentiels dans l'alimentation humaine.

Tableau VI: Composition en acides aminés des graines de lin et de soja, d’après **Morris (2007)**.

*Acides aminés essentiels pour l’homme.

Acides aminés (g/100g protéines)	Lin	Soja
	Lin (graine marron)	Soja
Alanine	4,4	4,1
Arginine	9,2	7,3
Acide Aspartique	9,3	11,7
Cystine	1,1	1,1
Acide Glutamique	19,6	18,6
Glycine	5,8	4,0
Histidine*	2,2	2,5
Isoleucine*	4,0	4,7
Leucine*	5,8	7,7
Lysine*	4,0	5,8
Méthionine*	1,5	1,2
Phénylalanine*	4,6	5,1
Proline	3,5	5,2
Sérine	4,5	4,9
Thréonine*	3,6	3,6
Tryptophane*	1,8	NR
Tyrosine	2,3	3,4
Valine*	4,6	5,2

1.2.2.2 Les composés glucidiques

Deux types de sucres entrent dans la composition des graines de lin:

L’amidon (<1%), constituant de réserve des graines, est composé d’amylose et d’amylopectine. Ce composé est localisé dans les embryons et les téguments des graines de lin.

Les fibres alimentaires (25-32%) (Acket *et al.*, 2011) sont composées de polysaccharides complexes qui ne sont pas digérés et absorbés par l’intestin de l’homme, majoritairement de mucilage (6 à 8 % du poids de la graine), et de composés pariétaux tels que la cellulose et la lignine (Morris, 2007 ; Basch *et al.*, 2007; Jhalla & Hall, 2010).

1.2.2.3 Les composés phénoliques

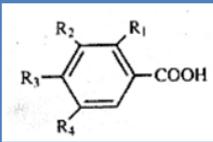
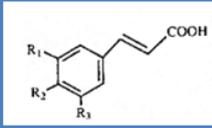
1.2.2.3.1 Les acides phénoliques dans les graines de lin

Dans les graines de lin, les acides phénoliques sont présents en faible quantité, ils sont constitués de 72% d’acides hydroxycinnamiques (acide férulique: 48,8%, acide sinapique: 17,2%, acide-p-coumarique: 3,9%, acide cinnamique:1,9%) et de 28% d’acides hydroxybenzoïques (acide gallique : 9,1 %, acide syringique:9,2 %, protocatéchique : 4,5%,

hydroxybenzoïque: 4,0%, acide vanillique: 1,3%) (Alu'datt *et al.*, 2013). Les acides hydroxycinnamiques sont des précurseurs nécessaires à la synthèse des lignanes, de la lignine, et des flavonoïdes (Strack & Mock, 1993) (Tableau VII).

Tableau VII: Structure des principaux acides phénoliques.

Abréviations : H : Hydrogène ; O : Oxygène ; OH : radical Hydroxy ; OCH3 : groupement Méthoxy (Sébastien, 2015)

Acides Hydroxybenzoïques		Acides hydroxycinnamiques	
			
Composés	Structure	Composés	Structure
Acide p-hydroxybenzoïque	R1=R2=R4=H, R3=O	Acide p-coumarique	R1=R3=H, R2=O
Acide protocatéchique	R1=R4=H, R2=R3=OH	Acide caféique	R1=R2=OH, R3=H
Acide vanillique	R1=R4=H, R2=OCH3, R3=OH	Acide férulique	R1= OCH3, R2=OH, R3= H
Acide syringique	R1=H, R2=R4=OCH3, R3=O	Acide sinapique	R1=R3=OCH3, R2=OH
Acide gallique	R1=H, R2=R3=R4=O	Acide cinnamique	R1=R2=R3=H

1.2.2.3.2 Les flavonoïdes

Les graines de lin sont constituées majoritairement de flavonols (Oomah *et al.*, 1996). Ils sont composés de kaempférol, de quercétine et d'herbacétine. Ces composés se retrouvent sous la forme glycosylée (Qiu *et al.*, 1999 ; Zuk *et al.*, 2011 ; Kasote, 2013 ; Fliniaux *et al.*, 2014). Les graines de lin accumulent également des anthocyanidines, des flavanones et des proanthocyanidines (Zuk *et al.*, 2011, 2012) (Tableau VIII).

Tableau VIII: Teneurs des différents flavonoïdes dans les graines de lin d'après (Zuk *et al.*, 2011, 2012 ; Fliniaux *et al.*, 2014).

Classe	Molécules	Teneur en mg/100g de graine* ou de tourteaux**	Références
Flavonols	Kaempférol	0,5*	(Zuk <i>et al.</i> , 2011)
	Quercétine	0,4*	(Zuk <i>et al.</i> , 2011)
	Herbacétine	576**	(Fliniaux <i>et al.</i> , 2014)
Flavanones		0,8*	(Zuk <i>et al.</i> , 2011)
Anthocyanines		0,4*	(Zuk <i>et al.</i> , 2011)
Proanthocyanidines (polymère de flavanols) (tannins condensés)		3,00	(Zuk <i>et al.</i> , 2012)

1.3 Activité antioxydante

L'oxygène est un élément essentiel pour les organismes multicellulaires dans la production d'énergie « ATP » et par conséquent dans leurs vitalités. En revanche, une partie de cet oxygène peut s'échapper à ces mécanismes et se métaboliser en espèces toxiques dites radicaux libres (Favie, 2003 ; Desceemaaeker, 2004).

1.3.1 Les radicaux libres

Un radical libre (RL) est un espèce chimique possède sur sa couche externe un ou plusieurs électrons célibataires, cet électron lui confère une haute réactivité (demi-vie courte) (Ortiz *et al.*, 2013). Ce composé peut réagir avec les molécules les plus stables pour appairer son électron (André, 1998 ; Beckman& Ames, 1998) (Tableau IX).

Tableau IX: Les principales espèces ERO générée dans les systèmes biologiques (Bartosz, 2003)

Nom	Symbole
Anion superoxyde	O ₂ ⁻
Radical hydroxyle	OH [•]
Monoxyde d'azote	NO
Peroxyde d'hydrogène	H ₂ O ₂
Acide hypochlorique	HOCl
Peroxynitrite	ONOO ⁻
Oxygène singulet	O ₂ ¹
Radical alcoxy	RO [•]
Radical peroxy	OO [•]

1.3.2 Stress oxydatif

Le stress oxydant est un syndrome résultant d'un déséquilibre entre les systèmes de défense antioxydants et la production de radicaux libres oxygénés (Favier, 1997).

Les conséquences du stress oxydant seront extrêmement variables selon la dose et le type cellulaire. De légers stress augmenteront la prolifération cellulaire et l'expression de protéines d'adhésion, des stress moyens faciliteront l'apoptose, alors que de forts stress provoqueront une nécrose et des stress violents désorganiseront la membrane entraînant des lyses immédiates (Favier, 2003).

Toutes les tissus et tous leurs composants peuvent être touchés : lipides, protéines, et ADN (Aurousseau, 2002 ; Valko *et al.*, 2007) Toutes ces altérations augmentent le risque de plus de 30 processus de différentes maladies (Aruoma, 1998). Parmi les, nous citons : les maladies d'Alzheimer (Smith *et al.*, 1996), de Parkinson (Bolton *et al.*.,2000), de méningo-céphalites et le cancer (Ali *et al.*., 2008) . La plus part des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydant et augmente la production mitochondriale des radicaux libres (Favier, 2003).

1.3.3 Métabolites secondaires

Les plantes photosynthétiques convertissent le dioxyde de carbone (CO₂) en métabolites primaires, qui sont nécessaires pour leur vitalité. En outre, elles possèdent des métabolites dits "secondaires", ces derniers ce sont des composés chimiques formés lors des processus métaboliques des végétaux (Guessoum & Lecheheb, 2015). Ces composés sont définis comme étant des molécules bioactives non- nutritives qu'on trouve dans les fruits, les légumes, les graines et autres plantes comestibles (Hai, 2004 ; Magee & Rowland, 2004; Altameme *et al.*, 2015; Hamed *et al.*,2015).

Les métabolites Secondaires sont classés essentiellement en trois grandes familles : Les polyphénols ou bien les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes (Lutgeetal., 2002 ; Abderrazak & Joël, 2007).

1.3.3.1 Les polyphénols

Les polyphénols sont des métabolites secondaires présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs: racine, tiges, feuilles, fleurs et, fruits (Boizot & Charpentier, 2006). En effet les composés phénoliques, constituent le groupe le plus grand nombre et le plus largement distribué dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques connus (Lugasi *et al.*,2003).

Les principales classes de composants phénoliques sont: les acides phénoliques (acide caféique, acide hydroxycinnamique, acide chlorogénique), les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols, les tanins, et les coumarines (King & Young, 1999 ; Tapiero *et al.*, 2002).

1.3.3.2 Flavonoïdes

Ce sont des composés qui appartenant à la famille des polyphénols (Seyoum *et al.*, 2006). Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux, dont plusieurs sont responsables de couleur vive des fleurs, des fruits et des feuilles (Midoun , 2011).

Les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes des molécules dont les plus

importants sont les flavones, les flavonols, les flavanols, les flavanones, les dihydroflavanols, les isoflavones, les isoflavanones, les chalcones, les aurones et les anthocyanes. Ces divers composés se rencontrent à la fois sous forme libre ou sous forme de glycosides. On les trouve d'une manière très générale, dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organe : racine, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits (**D. Kone, 2008**).

Les flavonoïdes présentent une structure de base commune du diphenyle propane C6-C3-C6 à toutes les classes qui les représentent qui est constituée de deux noyaux aromatiques désignés par les lettres A et B qui sont reliés par un hétérocycle oxygéné, désigné par la lettre C (**Dacosta, 2003**).

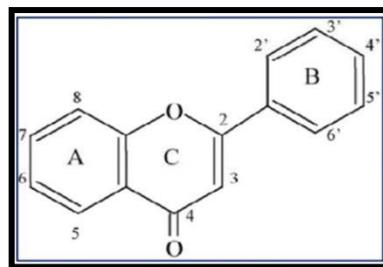


Figure 03: Structure de base de flavonoïdes (**Di Carlo et al., 1999**)

1.3.4 Activité antioxydant des polyphénols

De nombreuses revues confèrent que les polyphénols sont des excellents piègeurs d'espèces réactives directement issues de l'oxygène provenant de biomolécules telles que les lipoprotéines, les protéines et les acides nucléiques (ADN, ARN). Cette faculté, tant étudiée et si reconnue, est fréquemment citée comme étant une clé pour la prévention et/ou la réduction du stress oxydatif en lien direct avec des maladies chroniques comme les maladies cardiovasculaires, la carcinogénèse et les maladies neurodégénératives. (**Quideau et al., 2011**).

Les composés phénoliques qui présents dans les graines de lin, tels que l'acide p-coumarique et les glucosides d'acide férulique, possèdent des propriétés antioxydants et présentent un intérêt particulier en pharmacologie (**Yuan et al., 2008**).

1.3.5. Activités antioxydante des flavonoïdes

Les flavonoïdes jouent un rôle de protection contre les effets néfastes des rayons ultraviolets en agissant comme antioxydant (**Havsteen, 2002**). Ils parviennent à capturer les espèces réactives de l'oxygène associées au stress oxydatif, les empêchant ainsi de créer des dommages cellulaires. En effet, ils sont capables d'inactiver et de stabiliser les radicaux libres grâce à leur groupement hydroxyle fortement réactif. Ils inhibent aussi l'oxydation des LDL et, de ce fait, peuvent prévenir l'athérosclérose et diminuer les risques de maladies cardiovasculaires (**Tu et al., 2007**).

Les flavonoïdes sont capables d'exercer en plus des propriétés antioxydantes, des propriétés anti-inflammatoires, antiallergiques et antiulcérogènes (Di Carlo *et al.*, 1999).

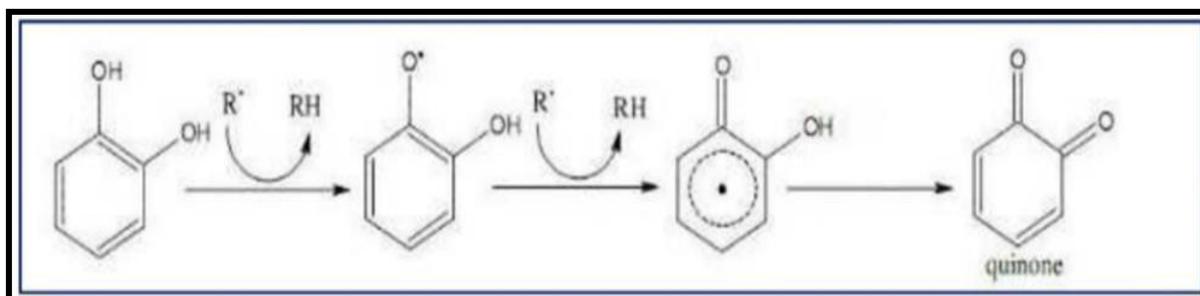


Figure 04 : Piégeage des radicaux libres par les flavonoïdes (Marfak, 2003).

2.1 Matériel végétal

Les graines de lin utilisées (*Linum usitatissimum* L.) pour l'extraction dans le laboratoire sont les graines commercialisées (figure 05). Ces graines (250g) sont broyées à l'aide d'un broyeur électronique de type SAVOMIX (Chine), puis tamiser (figure 06) jusqu'à l'obtention d'une poudre fine qui est conservée au congélateur pour servir aux analyses chimiques.



Figure 05 : Les graines de *Linum usitatissimum* L utilisés



Figure 06 : Processus de broyage et tamisage des graines de Lin

2.2 Extraction

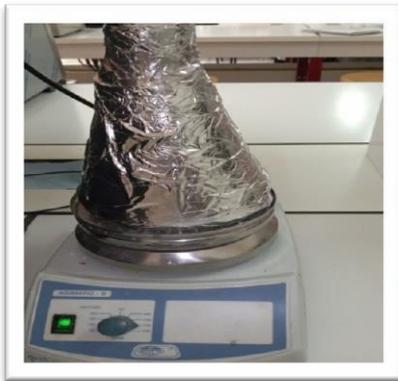
2.2.1 Extraction par macération

➤ Principe

La macération consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec un solvant pour en extraire les principes actifs. C'est une extraction qui se fait à température ambiante et qui a l'avantage de préserver les substances thermosensibles (Bouchouka, 2016).

Mode opératoire

Le solvant utilisé est l'éthanol (70%), Un poids déterminé de poudre de la plante (10g) est mélangé à 300ml du solvant. Le mélange obtenu est agité pendant 24h à température ambiante à l'aide d'un agitateur magnétique, puis filtré à travers le papier filtre WATTMAN (figure 07) (Rajan & Thangaraj, 2013).



Agitation



Filtration

Figure 07:Processus d'agitation et filtration de l'extrait des graines de Lin

2.2.2 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. Cet appareil porte le nom de son inventeur : Franz Von Soxhlet.

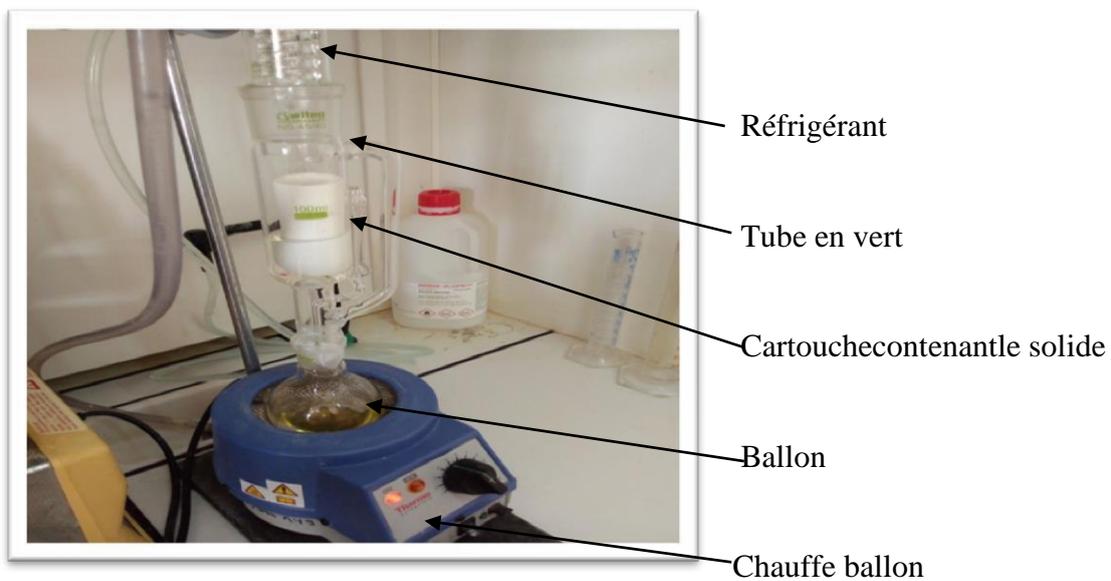


Figure 08:Montage de l'extracteur Soxhlet

➤ 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.

Mode opératoire

La poudre des graines de Lin (10g) est introduite dans la cartouche en papier filtre, cette dernière sera placée dans le Soxhlet surmonté d'un réfrigérant.

- En premier lieu, verser 300 ml d'éthanol (100%) dans le ballon et porté à ébullition (78,37C°).
- Ouvrir le robinet d'eau passant par le réfrigérante.
- Pendant 4 heures, on a fait l'extraction. (Amirah & Reddy, 2012).

2.3 Evaporation

Le filtrat obtenu par la macération et la fraction obtenu par Soxhlet ont été évaporé à sec à l'aide d'un rota vapeur en fixant la température de l'évaporation, Cette dernière dépend de la température d'ébullition de chaque solvant. Cette opération a pour but d'éliminer les solvants extractifs utilisés.

2.3.1 L'évaporation au Rotavapeur

Dans cet appareil représente dans la **figure 09**. On a réalisé une évaporation sous vide en utilisant une pompe à vide avec une vanne de contrôle. Pendant l'évaporation le ballon est mis en rotation et plongé dans un bain liquide chauffé. L'appareil est muni d'un réfrigérant avec un ballon-collecteur de condensat. La rotation du ballon crée une surface d'échange plus grande et renouvelée permettant donc d'effectuer une évaporation rapide. L'abaissement de la pression permet d'évaporer le solvant à température réduite, évitant ainsi la dégradation thermique éventuelle des composés. C'est une méthode d'évaporation simple, utile, douce et rapide.



Figure 09 : Montage de L'évaporateur rotatif de laboratoire

L'extrait sec (visqueux) est reprise dans du éthanol absolu (10ml) puis conservé à -2 C° jusqu'à l'utilisation.

2.4.1 Détermination de rendement d'extraction

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse d'extrait obtenue et la masse de la matière végétale sèche (**Belyagoubi, 2006**).

Le rendement est calculé par la formule suivante :

$$\text{Rdt} = (m_0/m_1) \times 100$$

Où :

m₀ : Masse en grammes de l'extrait récupérée.

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

2.5 Dosage

2.5.1 Dosage des composés phénoliques totaux

Principe

La quantification des composés phénoliques totaux a été déterminée par la méthode colorimétrique au réactif de Folin-Ciocalteu ; mélange de l'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀), est réduit en présence des phénols totaux en un mélange d'oxydes bleu de tungstène (W₈O₂₃) et de molybdène (Mo₈O₂₃). La coloration bleu produite est proportionnelle au taux des composés phénoliques présents dans le milieu réactionnel. Cette coloration possède une absorption maximum aux environs de 750 à 760 nm (**Singleton et al., 1999**).

Mode opératoire

Le dosage des composés phénoliques est effectué selon la méthode de Folin-Ciocalteu décrite par (**Velioglu et al., 1998**); on mélange 1,5ml de réactif de Folin- Ciocalteu, dilué 10 fois avec 250µl de chaque extrait. Après 3min d'incubation à l'obscurité, on ajoute 1,5ml de carbonates de sodium (6 %). Le mélange est agité puis incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant une heure. L'absorbance est mesurée à 760nm contre un blanc.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique par gramme de matière végétale sèche en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (mg EAG/g de MS) (Annexe I).

2.5.2 Dosage des flavonoïdes**Principe**

Le dosage des flavonoïdes est basé sur la formation de complexes flavonoïdes-métaux tel que l'aluminium utilisé sous forme de chlorures d'aluminium (AlCl₃). La liaison des atomes d'oxygène présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes forme avec les chlorures d'aluminium des complexes jaunâtres (**Ribereau-Gayan, 1868**).

Mode opératoire

La méthode de **Djeridane et al. (2006)** est adoptée pour doser les flavonoïdes dans les extraits de *Linum usitatissimum* L Pour cela, on ajoute 1,5ml de chlorure d'aluminium (2%) à 1,5ml de chaque extrait. Après 30min d'incubation, l'absorbance est mesurée à 430nm contre un blanc.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent quercétine par gramme de matière végétale sèche en se référant à la courbe d'étalonnage de la quercétine (mg EQ/g de MS) (Annexe II).

2.6 Mesure du pouvoir antioxydant des extraits étudiés

La capacité antioxydante des extraits étudiés a été évaluée dans ce travail par 02 testes visant la détermination du piégeage du radical 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl(DPPH), et du pouvoir réducteur.

2.6.1 Piégeage du radical DPPH

La méthode de piégeage du radical de 1,1-diphényl-2-picrylhydrazine (DPPH) a été décrite pour la première fois par **Blois (1958)**.

Principe

A température ambiante, le radical DPPH présente, en solution alcoolique, une intense coloration violette qui est changée par la couleur jaune au contact d'une substance donneuse de protons H^+ . Cette couleur est l'indicateur du pouvoir antioxydant d'un échantillon par sa capacité à piéger le radical libre et se traduit par une diminution de l'absorbance à 517 nm (Moon & Shibamoto, 2009).

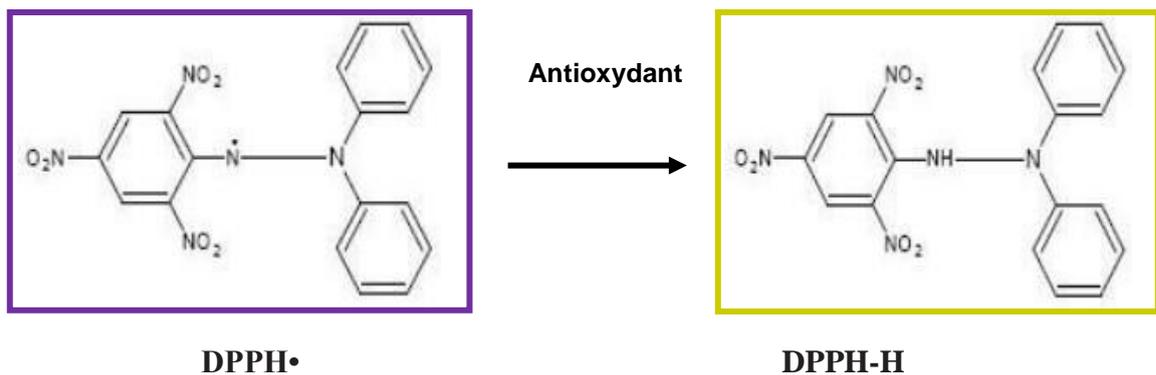


Figure 10: Réduction du radical DPPH par un antioxydant (Endo *et al.*, 2006).

Mode opératoire

Après la préparation des dilutions ou des concentrations différentes des extraits dans le méthanol, on prend 100 μ l de chaque extrait et de chaque concentration qu'on met dans un tube à essais et on additionne 1000 μ l de la solution de DPPH contre un control négatif (contenant du méthanol au lieu de l'extrait) et on prépare aussi le blanc qui contient 100 μ l de chaque extrait et 1000 μ l du méthanol. Les mélanges réactionnels est immédiatement agités avant d'être placés pendant 30 min à l'obscurité et à la température ambiante du laboratoire. L'absorbance du milieu réactionnel a été mesuré à 517 nm en utilisant un spectrophotomètre. Chaque test est répété trois fois, en suivant la méthode décrite par Ait Braham et Belhame (2016). Le pourcentage d'inhibition du radical de DPPH a été calculé suivant la formule:

$$PI = [(A0 - A1)/A0] \times 100$$

Avec :

PI: pourcentage d'inhibition.

A0 : absorbance du control (sans extrait).

A1 : absorbance de l'extrait après 30 min.

L'étude de la variation de l'activité antiradicalaire en fonction de la concentration des extraits permet de déterminer la concentration qui correspond à 50% d'inhibition (IC50). Une faible valeur d'IC50 correspondant à une grande efficacité de l'extrait.

2.6.2 Pouvoir réducteur

Le fer est un élément essentiel pour le bon fonctionnement physiologique, mais l'excès de cet élément peut causer des dommages à la cellule. En raison de sa forte réactivité, le fer est connu pour son grand rôle pro-oxydant vis-à-vis de l'oxydation des lipides (**Gülçin et al., 2012**).

Principe

L'analyse du pouvoir réducteur est basée sur la réduction du fer ferrique (Fe^{3+}) du complexe ferricyanure Fe^{3+} en fer ferreux (Fe^{2+}), en présence d'antioxydants réducteurs (**Bijoy et al ; 2008**). La forme réduite donne une couleur verte qui est proportionnelle au pouvoir réducteur de l'extrait (**Gülçin et al., 2003**).

Mode opératoire

Le pouvoir réducteur a été estimé par la méthode de (**Yildirim et al., 2001**), un ml d'extrait est additionné dans un tube à essai avec 1 ml d'un tampon phosphate à (pH 6,6) et un ml de ferricyanure de potassium [K_3Fe]. On met le mélange au bain marie à $50^\circ\text{C}/20$ min, puis on lui ajoute 1 ml d'acide trichloracétique TCA et on centrifuge à 3000 g pendant 10 min. Un ml du surnageant est prélevé puis additionné à 1ml d'eau distillée et 0,3ml de chlorure ferrique (FeCl_3), enfin on mesure l'absorbance à 700 nm.

Les courbes d'étalonnages ont été obtenues, en utilisant comme étalon l'acide gallique et le quercétine. Les résultats sont exprimés en mg Equivalent en les deux standards par g de la matière sèche.

2.7 Analyse statistique

Les courbes et les histogrammes sont tracés par le Microsoft Excel 2007. Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne \pm écart-type, $n = 3$. Les valeurs d'IC50 (concentration inhibitrice à 50%) sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [%inhibition= f (concentrations)].

3.1 Rendement

L'extraction et la préparation des phases éthanoliques (solvant polaire), à partir des graines de lin a permis d'obtenir deux extraits de différentes couleurs (**Tableau X**) qui sont conservés au réfrigérateur dans des flacons ombrés jusqu'à leur utilisation.

Tableau X : Les couleurs de l'extrait par macération et Soxhlet.

	Macération	Soxhlet
Ethanol	Jaune orangé claire	Jaune orangé foncé

Les résultats de rendement des deux extraits de *Linum usitatissimum* obtenus sont mentionnés dans le tableau suivant (**Tableau XI**):

Tableau XI : Rendements des extraits végétaux après l'évaporation des solvants.

L'extrait	Extrait de macération	Extrait de Soxhlet
Masse de l'extrait (g)	1.08	4.22
Rendement d'extraction %	10,8%	42,2%

Les essais réalisés avec ces deux techniques nous ont permis de conclure l'influence des paramètres de la méthode d'extraction sur le rendement en extractibles. Donc, le Soxhlet est la méthode qui permet l'obtention du meilleur rendement.

3.2 Dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes

Afin de caractériser les extraits préparés à partir des graines de *Linum usitatissimum*, un dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes a été effectué. La raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que la majorité des propriétés antioxydantes des plantes sont attribuées par ces métabolites secondaires.

3.2.1 Teneur en polyphénols

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par la méthode spectrophotométrique de Folin-Ciocalteu, en utilisant comme standard l'acide gallique. Les teneurs en polyphénols totaux sont exprimées en mg EAG/g d'extrait. Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique (annexe I).

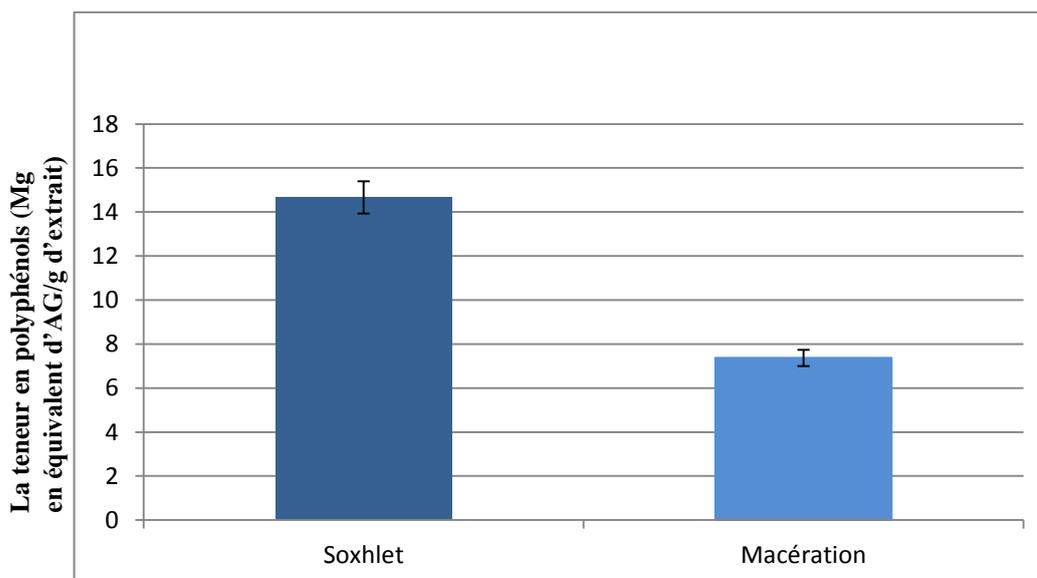


Figure 11 : Teneurs en polyphénols totaux dans les deux extrait macération/ Soxhlet en équivalent d'acide gallique.

La **figure 11** montre que l'extrait éthanolique obtenue avec Soxhlet possède la plus haute teneur en polyphénols (**14,67 ± 0,98 mg EAG/g EX**) par rapport à la macération (**7,37 ± 0,26 mg EAG/g EX**). Ces résultats sont plus élevés par rapport à celui trouvé par **El Abdali Youness en (2017) (7,24 mg EAG/g d'extrait)** et **Veliouglu et al, en 1998 (5 mg EAG/g)** dans l'extrait hydrométhanolique 80% des graines de lin, alors que **3 mg EAG/g** de polyphénols sont trouvés par **Anwar et Przybylski (2012)** lorsque l'éthanol éthylique à 80% est utilisé. Ainsi que l'étude réalisée par **Acket (2015)** sur le dosage des polyphénols dans les graines de lin a donné une teneur estimée à 9 mg EAG/ 10g de matière sèche et celle réalisée par **Ahlem en 2017** a donné 10.2mg EAG/10g EX.

Maintenant, il est largement admis que les polyphénols attirent beaucoup d'intérêt public et scientifique en raison de leurs multiples activités biologiques, mais la teneur phénolique d'une plante dépend d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétique) et extrinsèques (origine géographique, conditions climatiques, les pratiques culturelles, la maturité à la récolte et les conditions de stockage) (**Amaral et al., 2010**).

D'après **Kasote et al. (2011)**, la comparaison de nos données avec la littérature publiée est assez difficile car des variations ont été observées pour le contenu phénolique total qui pourrait être attribué aux différentes variétés de graines de lin, à l'extraction du solvant, à la température d'extraction et à la technique utilisée.

3.2.2 Teneur en flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes dans les extraits éthanoliques du lin a été réalisé selon la méthode utilisant l' AlCl_3 . Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent de quercétine par g de l'extrait (mg EQ/g EX).

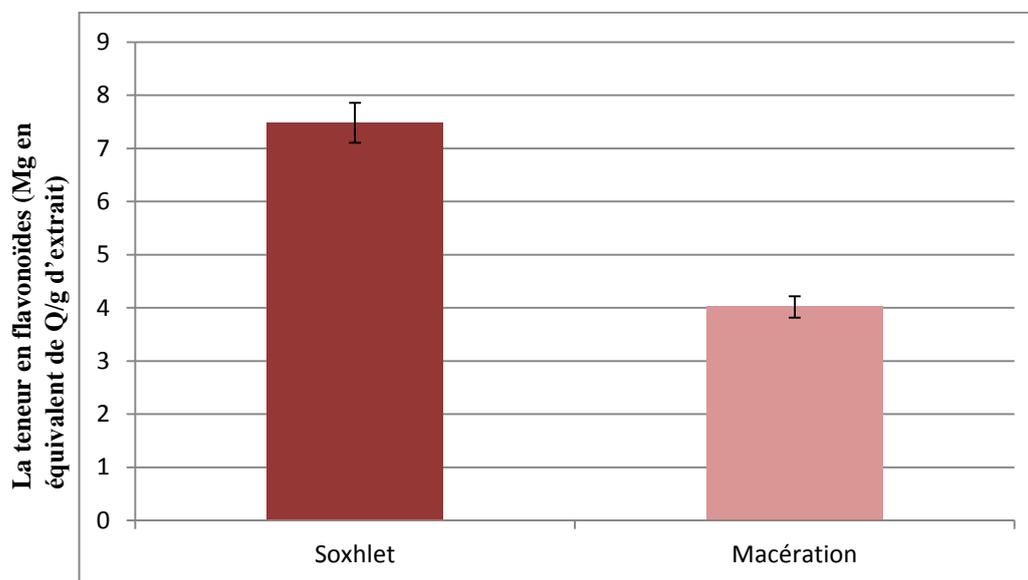


Figure 12 : Teneurs en flavonoïdes dans les deux extraits macération/ Soxhlet en équivalent de quercétine.

La **figure 12** montre que l'extrait éthanolique obtenue avec Soxhlet possède la plus haute teneur en flavonoïdes ($7,48 \pm 0,212$ mg EQ/g EX), par rapport à la macération ($4,017 \pm 0,224$ mg EAG/g EX). Notre résultat est largement supérieur à celui trouvé par **Oomah et al. (1996)** variant de $0,302$ à $0,835$ mg /g EX. **Anwar et Przybylski (2012)** qui ont trouvé dans l'extrait méthanolique du lin des teneurs entre $1,9$ et $4,8$ mg EC/g EX en utilisant la catéchine comme standard.

3.4 Activité antioxydante des extraits de *Linum usitatissimum*

L'évaluation de l'activité antioxydante exprimé en équivalence d'acide ascorbique, et d'acide gallique; la méthode consiste à comparer l'absorbance de nos échantillons à celle d'une droite d'étalonnage qui relie l'absorbance à la concentration en l'un des étalons. Les deux types de tests que nous avons utilisés pour évaluer l'activité antioxydante de nos extraits sont: piégeage du radical DPPH et le test pouvoir réducteur.

3.4.1 Test de piégeage du DPPH

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 (**figure 13**) mesurable à 517nm. La forme non radicalaire DPPH-H est formée, d'où l'évaluation de l'activité antioxydante en fonction de l'équivalence en acide ascorbique.

La capacité antioxydant des extraits a été déterminée à partir de l'IC50, c'est la concentration nécessaire pour réduire 50% du radicale DPPH. Plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande (**Hobi et Eddouks, 2016**).

Nous avons déterminés pour chaque extrait, la concentration nécessaire pour réduire 50% du radical libre DPPH ou IC50. À partir des équations des régressions linéaires des graphes.

Les valeurs sont représentées dans le tableau suivant :

Tableau XII : le pouvoir antioxydant (exprimé par IC50) de standard et des extraits testés.

	IC50
Acide ascorbique	1,23mg/ml
Extrait éthanolique de Soxhlet	7,15g/ml
Extrait éthanolique de macération	17,57g/ml

D'après les résultats présentés dans le **tableau XII**, l'IC50 obtenu pour l'acide ascorbique (1,23mg/ml), est utilisé comme référence, est bien plus inférieur à ceux des extraits et donc, une activité antioxydante très élevé.

L'extrait éthanolique avec Soxhlet présent un IC50 (7,15 g /ml) inférieur à l'extrait éthanolique de macération qui présent un IC50 (17,57g/ml), qui sont supérieurs à celle de standard utilisé.

L'analyse des résultats du test DPPH a montré une différence significative entre les extraits éthanoliques pour chaque technique d'extraction et pour chaque concentration testée.

En comparaison de nos résultats avec les résultats des graines de *Nigella sativa*, on retrouve que l'activité anti radicalaire des différents extraits des graines de *Nigella sativa* (l'extrait du chloroforme représente l'extrait le plus actif avec une IC50 de l'ordre 106,56 µg /ml. Par contre, l'activité antiradicalaire la plus faible a été exprimée par l'extrait aqueux (IC50 = 447,76 µg/ml) est plus supérieur à celle des graines de lin. (**Meziti, 2009**).



Figure 13 : Résultats du test DPPH.

La technique du radical DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl) est l'une des méthodes la plus couramment employée. Elle est rapide, facile à mettre en œuvre et s'effectue à température ambiante, ce qui permet l'élimination de tous risques de dégradation thermique des molécules testées (**Katalinic et al., 2006**).

Une diminution de l'absorbance pour un mélange est due à la décoloration des réactifs impliqués dans la réaction en indiquant une activité élevée de l'effet scavenger du radical DPPH par les antioxydants mis en réaction.

L'efficacité d'un antioxydant peut être définie comme sa capacité à fixer des radicaux libres, donc à arrêter la propagation de la réaction en chaîne et prévenir le stress oxydatif (**Molyneux, 2004**).

En conclusion, ces résultats montrent que notre extraits (Soxhlet /macération) possèdent une activité antioxydante très faible. Cela peut être dû à :

- La faible teneur en composés phénoliques.
- Propriétés génétiques des graines ainsi qu'à l'origine géographique.
- Les conditions et la durée de stockage, et de la récolte (des graines commercialisées) L'analyse des résultats a montré que le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est influencé par la méthode d'extraction. Donc Soxhlet est la meilleure méthode d'extraction dans notre étude (**Meziti, 2009**).

3.4.2 Pouvoir réducteur du fer

Les métaux de transition comme le fer sont des catalyseurs importants pour la génération des radicaux et peuvent ainsi stimuler la peroxydation lipidique, donc tous les ions des métaux de transition ayant deux ou plusieurs états de valence sont de puissants prooxydants (Pitchaon, 2011)

Le pouvoir réducteur est la capacité d'un extrait à donner un électron et à réduire le fer ferrique en fer ferreux. De nombreux auteurs considèrent la capacité réductrice d'un composé comme indicateur significatif de son pouvoir antioxydant (Huang *et al.*, 2005; Li *et al.*, 2009).



La couleur jaune de la solution de ferricyanure de potassium vire vers une couleur bleue verte dont l'intensité dépend du pouvoir réducteur de chaque extrait. L'augmentation de l'absorbance indique une augmentation du pouvoir réducteur (Ozsoy *et al.*, 2008).

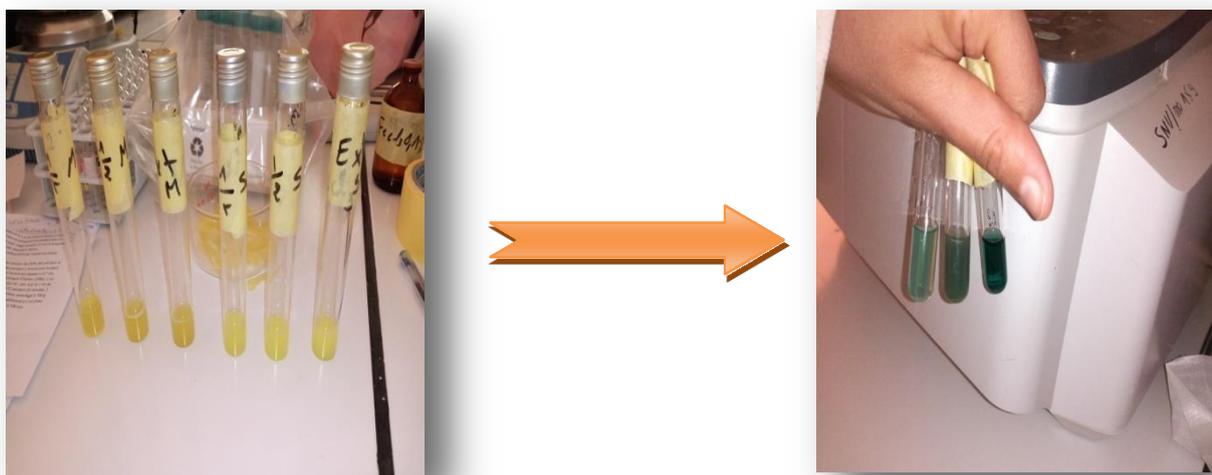


Figure 14 : Résultats du test de pouvoir réducteur

Les résultats de l'étude de la capacité des extraits de *Linum usitatissimum* à réduire le fer selon la concentration testée (10 mg/ml) On utilise deux standards l'acide gallique et la quercétine avec une seule concentration (10 mg/ml), dont les résultats sont présents dans la **figure 15**

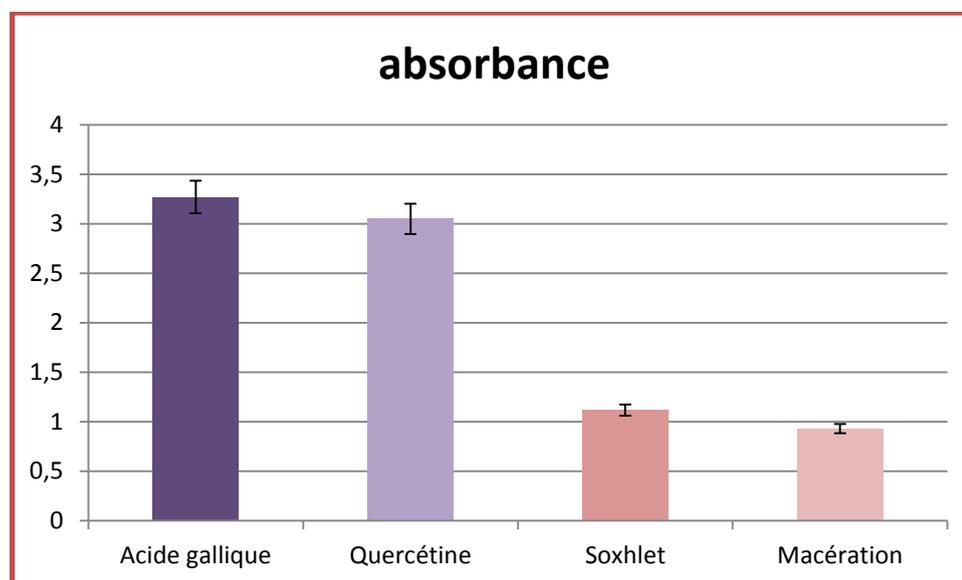


Figure 15: L'activité réductrice du fer de l'extrait et les standards utilisés

Les résultats obtenus montrent que la capacité des extraits de réduire le Fer est largement inférieure à celle des standards. A la concentration de 10 mg/ml, le pouvoir réducteur est beaucoup plus important dans l'acide gallique avec (DO = 3,27), suivi par la quercétine (DO= 3,05)

Les résultats ainsi obtenus montrent clairement et toujours que l'extrait éthanolique de Soxhlet présente l'activité la plus élevée avec une forte absorbance $1,117 \pm 0,03$ supérieur à la valeur obtenue par macération qui présente une absorbance plus inférieure qui est de $0,931 \pm 0,05$, donc nos résultat montre toujours que le Soxhlet est la méthode la plus efficace.

Les variations de l'activité réductrice des radicaux libres sont en général, directement liées aux taux des composés phénoliques présents dans la plante récoltée (**Yesilyurt et al., 2008**). L'activité antioxydante marquée des graines de lin qui peut être dû à la présence de polyphénols pouvant convertir les radicaux libres en produits plus stables et terminer la réaction en chaîne des radicaux libres (**Amarowicz et al., 2004**). **Anwar et Przybylski (2012)** ont utilisé le test FRAP pour la détermination de l'activité antioxydante des extraits de graines de lin. Ils ont constaté que le pouvoir réducteur dépend de la concentration d'extrait utilisé.

Conclusion

Aujourd'hui, les plantes médicinales retrouvent leur endroit dans notre vie quotidienne et elles ont toujours occupé une place importante en médecine. Cette grande valeur des plantes médicinales fait l'objet des différentes études.

Dans le présent travail, on s'est intéressé à la valorisation d'une plante médicinale très utilisées en médecine traditionnelle, il s'agit des gaines de *Linum usitatissimum*. Pour cela l'objectif assigné dans cette étude est axé sur le dosage des composés phénoliques, flavonoïdes ainsi d'évaluer l'activité antioxydante des différents extraits obtenus à partir des graines commerciales du lin.

Cette étude est réalisée sur deux extraits éthanolique à partir des graines de lin obtenues par deux méthodes d'extraction des molécules bioactives : la première par macération en utilisant l'éthanol à 70% et la deuxième par Soxhlet en utilisant l'éthanol pure à 100%.

Différentes analyses sont appliquées, dosage des polyphénols et flavonoïdes, aussi que l'évaluation des effets antioxydants des extraits de ces graines par deux moyens; l'activité antiradicalaire à l'égard du DPPH d'une part et le pouvoir réducteur d'autre part.

Les résultats ont montré que l'extrait éthanolique de Soxhlet permet d'obtenir un rendement plus fort (**42,2%**) que l'extrait éthanolique de macération (**10,8%**) et qui est le plus efficace pour l'extraction des composés phénoliques, et en flavonoïdes.

La meilleure activité antioxydante (activité antiradicalaire avec le radical DPPH et le pouvoir réducteur) est obtenue avec l'extrait éthanolique de Soxhlet.

L'évaluation de l'activité antioxydante des graines de lin révèle que ces graines possèdent un pouvoir antioxydant peut puissant en le comparant à l'antioxydant de référence qui est l'acide ascorbique.

En perspectives, la confirmation de la capacité antioxydante par des tests in vivo, ainsi que l'évaluation d'autres activités biologiques intéressantes telle que l'activité antimicrobienne, anti inflammatoire, anti tumorale... , autre méthodes d'extraction (ultrason, par micro-ondes) et la toxicité des huiles essentielles et des extraits des graines de cette plante sont recommandées afin de le valoriser d'avantage.

Références bibliographiques

A

Acket S., Blondiaux M., Bouton S., Pageau K., Pau-Roblot C., Lequart M., Marcelo P., Fournet F. & Van Wuytswinkel O. (2011). Formation et structure du mucilage séminal chez le lin, Poster Réseaux Français des Parois (6-8 juin), Lille.

Alu'datt M. H., Rababah T., Ereifej K. & Alli I. (2013). Distribution, antioxidant and characterisation of phenolic compounds in soybeans, flaxseed and olives. *Food Chem***15**, 93-99.

Amirah D. M. & Reddy P. (2012). Comparison of extraction techniques on extraction of Gallic acid from stem bark of *Jatropha curcas*. *Applied Sciences* **12**(11)

André R. (1998). La maladie de Parkinson. Ed. Masson. 16-19.

Aurousseau B. (2002). Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage : conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits. *INRA Prod. Anim* **15**(1), 67-82.

Ali S. S., Kasoju N., Luthra A., Singh A., Sharanabasava H., Sahu A. & Bora U. (2008). Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. *Food Res Int***41**, 1-15.

Aruoma O. I. (1998). Free radicals, oxidative stress and antioxidants in human health and disease. *J. Am. Oil Chem. Soc***75**, 199-212.

Anwar F. & Przybylski R. (2012). Effect of solvents extraction on total phenolics and antioxidant activity of extracts from flaxseed (*Linum usitatissimum* L.). *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria***11**(3), 293-302.

Amaral J. S., Valentão P., Andrade P. B., Martins R. C. & Seabra R. M. (2010). Phenolic composition of hazelnut leaves: Influence of cultivar, geographical origin and ripening stage. *Scientia Horticulturae***126**(2), 306-313.

Alasalvar C., Karamac M., Amarowicz R. & Shahidi F. (2006). Antioxidant and antiradical activities in extracts of hazelnut kernel (*Corylus avellana* L.) and hazelnut green leafy cover. *J. Agr. Food Chem***54**, 4826-4832.

Astley S. B. (2003). Dietary antioxidant-past, present and future. *Trends Food Sci. Tech* **14**, 93-98.

Al Tameme H. J., Hadi M. Y., Hameed I. H. (2015). Phytochemical analysis of *Urtica dioica* leaves by Fourier transform-infrared spectroscopy and gas chromatography-mass spectrometry **7**(10), 238-252.

Ait Braham S. & Belhamel C. (2016). Propriétés antioxydantes d'extraits d'une plante médicinale : *Urtica dioica* L. Thèse de Master Sciences alimentaires, Université A. MIRA- Bejaia, 29p.

Références bibliographiques

Amič D., Davidovic'-Amic D., Beslo D. &Trinajstic N. (2003).Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids.*CroaticaChemicaActa***76**, 55-61.

Amarowicz R., Pegg R. B., Rahimi-Mohaddam P., Barl B. & Weil J. A. (2004). Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairie.*Food Chemistry* **84**, 551- 562.

Anwar F &Przybylski R. (2012).Effect of solvents extraction on total phenolics and antioxidant activity of extracts from flaxseed (*Linum usitatissimum* L.).*ACTA ScientiarumPolonorumTechnologiaAlimentaria***11**(3), 293-301.

Allman-Farinelli M. A., Hall D., Kingham K., Pang D., Petocz P. &Favaloro E. J. (1999).Comparison of the effects of two low fat diets with different α -linolenic:linoleic acid ratios on coagulation and fibrinolysis. *Atherosclerosis* **142**, 159-168.

B

Basch E., Mphil D., Bent S., Collins J., Dacey C., Hammerness P., Harrisson M., Smith M., SzaparyP., Ulbricht C., Vora M. &Weissner W. (2007). Flax and flaxseed oil (*Linum usitatissimum*): a review by the Natural Standard Research Collaboration. *J. Soc. Int. Onc***5**,92-105.

Beard B. H. &Comstock V. E. (1980). Flax Hybridization of Crop Plants.*American Society of Agronomy- Crop Science Society of America*, 357-366.

Bernard B. (2001). Plantes médicinales du monde.2ieme Edition.

Bierenbaum M. L., Reichstein R. & Watkins T. R. (1993). Reducing Atherogenic risk in hyperlipemichumans with flax seed supplementation: apreliminary report. *Journal of the American College of Nutrition* **12**, 501-504.

Bloedon L.T. &Szapary P. O. (2004).Flaxseed and cardiovascular risk.*Nutrition Review*, **62**(1), 18-27.

Blumenthal M. A., Goldberg J., &Brinckmann EDS. (2000).Herbal Medicine: Expanded Commission E Monographs, American Botanical Council, Austin, TX, USA, p85.

Bommareddy A., Zhang X., Schrader D., Kaushik R. S., Zeman D. &Matthees D. P. (2009). Effects of dietary flaxseed on intestinal tumorigenesis in Apc Min mouse. *Nutrition and Cancer*, 61p.

Références bibliographiques

- Bolsheva N. L., Alexander V., Zelenin., Inna V., Nosova., Alexandra V. & Muravenko. (2015).** The Diversity of Karyotypes and Genomes within Section Syllinum of the Genus Linum (Linaceae). *Revealed by Molecular Cytogenetic Markers and RAPD Analysis*.
- Beckman K. B. & Ames B. N. (1998).** The free radical theory of aging matures. *Physiol. Rev* **78**, 574-581.
- Bolton J. L., Trush M. A., Penning T. M., Dryhurst G. & Monks T. J. (2000).** Role of quinones in toxicology. *Chem. Res. Toxicol* **13**, 135p .
- Bartosz G. (2003).** Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments on Toxicology* **9**(1), 5-21.
- Béliveau R. (2006).** La graine de lin, un aliment anticancéreux polyvalent. *Le journal de Montréal*, 46p.
- Berroua Y. & Berroua Z. (2016).** Détermination des propriétés antioxydantes de *Putoria calabrica* de la commune de Barbacha « Bejaia ». mémoire master 2. Université Abderrahmane Mira Bejaia.
- Bouchouka E. (2016).** Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes. Thèse Doctorat. Université Badji Mokhtar – Annaba
- Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Vasseur J., Cazin M., Cazin J. C. & Pinkas M. (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-Forschung* **46**, 1086-1089.
- Boizot N. & Charpentier J. P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre fustier. *Le cahier des techniques de l'Inra*, 79-82.
- Belyagoubi Larbi. (2006).** Effet de quelques essences végétales sur la croissance des moisissures de détérioration de la céréale. Thèse de magister. Université d'Abou Bekr Belkaid-Tlemcen.
- Blois M. S. (1958).** Antioxidant determinations by the use of stable free radical, 1199-1200.
- Bijoy M., Jayati S. & Probir K. S. (2008).** Antioxidant activities of soybean as affected by bacillus-fermentation to kinema. *Food research international* **1**, 586-593.
- Bougandoura N. & Bendimerad N. (2012).** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calaminthasp. Nepeta (L.) Briq.* *Nature & Technologie* **9**, 14 – 19.

Références bibliographiques

C

Caughey G. E., Mantzioris E., Gibson R. A., Cleland L. G. & James M. J. (1996). The effect on human tumor necrosis factor and interleukin 1b production of diets enriched in n-3 fatty acids from vegetable oil or fish oil. *American Journal of Clinical Nutrition* **63**, 116-122.

Chavali S. R., Zhong W. W. & Forse R. A. (1998). Dietary alpha-linolenic Acid increases TNF-alpha, and decreases IL-6, IL-10 in response to LPS: effects of sesamin on the delta-5 desaturation of omega-6 and omega-3 fatty acids in mice. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* **58**, 185-191.

Chun Hu., Yvonne V. Yuan., David D. & Kitts. (2007). Antioxidant activities of the flaxseed lignin secoisolariciresinol diglucoside, its aglycon secoisolariciresinol and the mammalian lignan enterodiol and enterolactone in vitro. *Science direct*.

Coşkun Y. & Karababa E. (2007). Some physical properties of flaxseed (*Linum usitatissimum* L.). *Journal of Food Engineering* **78**(3), 1067-1073.

D

Desceemaeker K. (2004). Nutri- & Phytothérapie : développements récents. Ed. Garant, 41-51.

Diederichsen A. & Richards K. (2003). Cultivated flax and the genus *Linum* L. Flax: the genus *Linum*, p32-38.

Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P. & Vidal P. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*. **97**, 654-660.

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

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

D. Kone. (2008). Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes, extraction, identification d'alcaloïdes, caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leur activité antioxydante. Thèse doctorat chimie organique, université de Bamako.

Di Carlo G., Mascolo N., Izzo A. A. & Capasso F. (1999). Flavonoids : Old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life. Sci* **65**(4), 337-53.

Références bibliographiques

E

El Abdali Y. (2017). Caractérisation phytochimique et activité antioxydante et immunostimulante de *Lavanduladentataet Linum usitatissimum*. Mémoire de fin d'étude. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah ,Maroc.

Endo T., Fukunaga T., Yoshimura T. &Esumi K. (2006). Scavenging DPPH radicals catalysed by binary noble metal-denderimernanocomposites. *Journal colloid interf.Science* **302**, 516-21.

Elmastaş M., Gülçin İ., Işildak Ö., Küfrevioğlu Ö. İ., İbaoglu K. &Aboul-Enein H. Y. (2006). Radical scavenging activity and antioxidant capacity of bay leaf extracts. *Journal of the IranianChemical Society* **3**, 258-266.

F

Favier A. (1997). Le stress oxydant : intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix d'un marquer, 9-16.

Favier A. (2003). le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*, 108-115.

Fliniaux O., Corbin C., Ramsay A., Renouard S., Beejmohun V., Doussot J., Falguières A., Ferroud C., Lamblin F., Lainé E., Roscher A., Grand E., Mesnard F. &Hano C. (2014). Microwave-Assisted Extraction of Herbacetin Diglucoside from Flax (*Linum usitatissimum L*) Seed Cakes and Its Quantification using an RP-HPLC-UV System. *Molecules***19**, 3025-303.

G

Guessoum D. &Lecheheb H. (2015). Contribution à l'étude phytochimique des flavonoïdes chez *Urticadioica L.* et évaluation de leur pouvoir antibactérien. Thèse de Master. Université des Frères Mentouri- Constantine ,45p.

Gulçin I., Oktay M., Kireççi E. &Küfrevioğlu O. I. (2003). Screening of antioxydant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinellaanissum L*) seed extracts. *Food chemistry* **83**(3),371-382.

Gulcin I., Kufrevioğlu O. I., Oktay M. &Buyukokuroglu ME. (2012). Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urticadioica L.*). *J Ethnopharmacol***90** (2-3), 205-215.

Gutiérrez C., Rubilar M., Jara C., Verdugo M., Sineiro J. &Shene C. (2010). Flaxseed and flaxseed cake as a source of compounds for food industry. *J. Soil Sci. Plant Nutr***10**, 454-463.

Références bibliographiques

H

Hai L. R. (2004). Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanisms of action. *J. Nutr* **134**, 3479-3485.

Halligudi N. (2012). Pharmacological properties of flax seed Review Hygeia. *Journal for drugs and medicines* **4**(2), 70-77.

Hameed I. H., Hussein H. J., Kreem M. A. & Hamad N. S. (2015). Identification of five newly described bioactive chemical compounds in methanolic extract of *Mentha viridis* by using chromatography-mass spectrometry (GC-MS). *J. Phacogn. Phytother* **7**(7), 107-125.

Havsteen B. H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol. Therapeutics* **96**, 67-202.

HeliJroy 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

HobiM .&Eddouks M. (2016). Evaluation de l'activité antioxydante de *Steviarebaudiana*. *Phytothérapie* **14**, 17 – 22.

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., Chen H. J., Lin C.D. & Lin Y.H. (2005). Antioxidant and antiproliferative activities of water spinach (*Ipomoea aquatica* Forsk) constituents. *Bot. Bull. Acad. Sin* **46**, 99-106

I

Iserin P. (2001). Encyclopedie des plantes médicinales, identification, préparation, soin. 2ème édition Ed Larousse/ VUEF, p13- 16, p250, p291- 296.

J

James C. Lee., FaizBhora., MelpoChristofidou-Solomidou. (2007). Dietary flaxeedchanges antioxidant defenses and is protective in a mouse model of lung ischemia/reperfusion injury.

Jhala A. J. & Hall L. M. (2010). Flax (*Linum usitatissimum* L.): current uses and future applications. *Aust J Basic ApplSci* **4**(9), 4304-4312.

Références bibliographiques

K

Kasote D. M., Hegde M. V. & Deshmukh K. K. (2011). Antioxidant activity of phenolic components from n- butanol fraction (PC-BF) of defatted flaxseed meal. *Am J Food Tech* **6**(7), 604- 612.

Kasote D. M. (2013). Flaxseed phenolics as natural antioxydants. *Int. Food Res. J.* **20**, 27-34.

Katalinic V., Milos M., Kulisic T. & Jukic M. (2006). Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chemistry* **94**, 550-557.

King A. & Young G. (1999). Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *J of the American dietetic association* **99**, 213-218.

Kitts D. D., Yuan Y. V., Wijewickreme A. N. & Thompson L. U. (1999). Antioxidant activity of the flaxseed lignin secoisolariciresinoldiglycoside and its mammalian lignin metabolite senterodiol and enterolactone.

Molecular and Cellular Biochemistry **202**, 91–100.

Kone D. (2008). Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes, extraction, identification d'alcaloïdes, caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leur activité antioxydante. Thèse doctorat chimie organique. Université de Bamako.

L

Lafond G. P., Irvine B., Johnston A. M., May W. E., Mcandrew D. W., Shirliffe 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.

Lamblin F., Hano C., Fliniaux O., Mesnard F., Fliniaux M. A. & Lainé E.

(2008). Interest of lignans in prevention and treatment of cancers. *Med Sci* **24**, 511-520.

Lepiniec L., Debeaujon I., Routaboul J. M., Baudry A., Pourcel L., Nesi

N. & Caboche M. (2006). Genetics and Biochemistry of Seed Flavonoids. *Annu Rev Plant Biol* **57**, 405-430.

Li H., Wang X., Li Y., Li P. & Wang H. (2009). Polyphenolic compounds and antioxidant properties of selected China wines. *Food Chemistry* **112**, 454–460.

Références bibliographiques

Lugasi A., Hovari J., Sagi K. & Biro L. (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *J. Acta. biologica. szegediensis* **47** (1-4), 119-125.

Lutge U., Kluge M. & Bauer G. (2002). Botanique 3ème Ed : technique et documentation. Lavoisier, Paris, 211p.

M

Magee P. G. & Rowland I. R. (2004). Phyto-oeustrogens, their mechanism of action: current evidence for a role in breast and prostate cancer. *Brit. J. Nutr* **91**, 513- 531.

Marambe H. K., Shand P. J. & Wanasundara J. P. D. (2008). An in vitro investigation of selected biological activities of hydrolysed flaxseed (*Linum usitatissimum L*) proteins. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society* **85**, 1155-1164.

Marfak A. (2003). Radiolyse Gamma des flavonoides; étude de leur activité avec des radicaux issus des alcools, Thèse de doctorat, pp : 6- 7- 10.

Marouf A. & Reynaud J. (2007). La botanique de A à Z. Ed. Dounod .Paris, 177 p.

Messaoudi A. (2017). Contribution à l'étude de la qualité de l'huile de lin (*Linum usitatissimum*) par des méthodes physico-chimiques. Mémoire de fin d'étude. Université Abou Bekr Belaid, Tlemcen.

Meziti A. (2009). Activité antioxydante des extraits des graines de Nigella sativa L Étude in vitro et in vivo. Thèse de magister. Université d' El-haj Lakhdar Batna.

Midoun T. (2011). Extraction Des Composés Phénoliques Et Etude Leurs Activités Antioxydante Par La Voltamétrie Cyclique. Mémoire Présenté pour l'obtention du diplôme de Master, Spécialité : *chimie appliquée*. Université Kasdi Merbah Ouargla. 53p.

Millam S., Bohus O. & Anna P. (2005). Plant cell and biotechnology studies in *Linum usitatissimum* - A review, *Plant Cell Tissue Organ Culture* **82**, 93-103.

Molyneux P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J Sci Technol* **26**, 211-219.

Moon J. K. & Shibamoto T. (2009). Antioxidant assays for plant and food components. *J. Agric. Food Chem.*, **57**(5), 1655-1666.

Morris H. M. (2007). Flax: A health and nutrition primer. Flax Council of Canada, Winnipeg, Canada **15**, 140p

Références bibliographiques

N

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.

O

Oomah B. D. & Mazza G. (1993). Flaxseed proteins—a review. *Food Chemistry* **48**, 109-114.

Oomah B. D., Mazza G. & Kenaschuk E. O. (1996). Flavonoid content of the flaxseed, influence of cultivar and environment. *Euphytica* **90**, 163-167.

Oomah B. D. (2001). Flaxseed as a functional food source. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **81**(9), 889-894.

Oomah B. D. (2003). Processing of flaxseed fiber, oil protein, and lignan. Flaxseed in Human Nutrition, Second Edition. Eds **Thompson, L. U., Cunnane S. C., AOCS Press, Champaign, Illinois, USA** **20**, 363-387.

Ortiz G. G., Pacheco-Moisés F. P., Bitzer-Quintero O. K., Ramirez-Anguiano A. C., Flores-3 Alvarado L. J., Ramirez-Ramirez V., Macias-Islas M. A. & Torres-Sánchez E. D. (2013). Immunologie and oxydative stress in multiple sclerosis: Clinical and basic approach. *Clinical and Developmental Immunologie*, 1-14.

Ozsoy N., Can A., Yanardag R. & Akev N. (2008). Antioxidant activity of Smilax excelsa L. leaf extracts. *Food Chemistry* **110**, 571-583.

P

Palla A. H., Iqbal N. T., Minhas K. & Gilani A. H. (2016). Flaxseed extract exhibits mucosal protective effect in acetic acid induced colitis in mice by modulating cytokines, antioxidant and antiinflammatory mechanisms. *International Immunopharmacology* **38**, 153–166.

Paschos G. K., Yiannakouris N., Rallidis L. S., Davies I. & Griffin B. A. (2005). Apolipoprotein E genotype in dyslipidemic patients and response of blood lipids and inflammatory markers to alpha-linolenic acid. *Angiology* **56**, 49-60.

Paschos G. K., Magkos F., Panagiotakos D. B., Votteas V. & Zampelas A. (2007). Dietary Supplementation with flaxseed oil lowers blood pressure in dyslipidaemic patients. *Eur. J. Clin. Nutr* **61**, 1201-1206.

Références bibliographiques

Pierre L. & Lis L. (2011). Secrets des plantes. France. Artémis.

Pitchaon M. (2011). Antioxidant capacity of extracts and fractions from mango (*Mangifera indica* Linn.) seed kernels. *International Food Research Journal* **18**, 520-525.

Prasad K. (1997). Hydroxyl radical-scavenging property of secoisolariciresinol diglucoside (SDG) isolated from flax-seed. *Molecular and cellular Biochemistry* **168**, 117–123.

Prasad K., Mantha S. V., Muir A. D. & Westcott N. D. (1998). Reduction of hypercholesterolemic atherosclerosis by CDC-flaxseed Withverylow alpha-linolenic acid. *Atherosclerosis* **136**, 367-375.

Q

Quideau S., Deffieux C. D., Douat-Casassus. & Pouységu L. (2011). "Plant polyphenols: Chemical properties, biological activities, and synthesis." *Angewandte Chemie - International Edition* **50**(3), 586-621.

Qiu S., Lu Z., Luyengi L., Lee S. K., Pezzuto J. M., Farnsworth N. R., Thompson L. U. & Fong H. S. (1999). Isolation and characterization of flaxseed (*Linum usitatissimum*) constituents. *Pharm. Biol* **37**, 1-7.

R

Ratnayake W. M. N., Behrens W. A., Fischer P. W. F., L'Abbe M. R., Mongeau R. & Beare-Rogers J. L. (1992). Chemical and Nutritional studies of flaxseed (variety Linott) in rats. *The Journal of Nutritional Biochemistry* **3**, 232-240.

Rajan M. & Thangaraj P. (2013). Comparative evaluation of different extraction methods for antioxidant and anti-inflammatory properties from *osbeckiaparvifolia* Arn. An in vitro approach. *King sauduniversity* **26**, 267-275

Ribereau G. (1968). Notions générales sur les composés phénoliques. In « Les composés phénoliques des végétaux ». Ed Dunod, 1-27.

Roberto C. (1982). Les plantes médicinales. *Guide vert. Solar, Paris, 500p.*

Rodriguez-Leyva D., Weighell W., Edel A. L., LaVallee R., Dibrov E., Pinneker R., et al. (2013). Potent antihypertensive action of dietary flaxseed in hypertensive patients. *Hypertension* **62**, 1081-1089.

Références bibliographiques

S

Sébastien A., (2015). Implication du métabolisme carbone pour une production différentielle d'huile chez les plantes oléagineuses – lin : modélisation des systèmes. Thèse doctorat. Université de Technologie de Compiègne, France.

Serraino M. & Thompson L. U. (1991). The effect of flaxseed supplementation on early risk markers for mammary carcinogenesis. *Cancer Letters* **60**, 135-142.

Seyoum A., Asres K. & El- Fiky F.K. 2006. Structure- radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Phytochemistry* ,67: 2058- 2070.

Singleton V. L., Orthofer R., Lamuela-Raventós R. M. (1999).[14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent, in: *Methods in Enzymology*. Elsevier, pp: 152–178.

Smith M. A., Perry G., Richey P. L., Sayre L. M., Anderson V. E., Beal M. F., et al. (1996). Oxidative damages in Alzheimer's] letter[. *Nature*, 382-120.

Strack D & Mock H. P. (1993).Hydroxycinnamic acids and lignins.*Methods in Plant Biochemistr.*9, 45-49.

Stracke R., Werber M. &Weisshaar B. (2001).The R2R3–MYB gene family in *Arabidopsis thaliana*.*CurrOpin Plant Bio* **4**, 447-456.

Suresh Kumar K., Ganesan K. &SubbaRao P.V. (2008).Antioxidant potential of solvent extracts of *Kappaphycusalvarezii*(Doty) Doty - an edible seaweed.*Food Chemistry* **107**, 289-295.

T

Tapiero H., Tew K. D., Nguyen B.G. & Mathé G. (2002). Polyphenol do they play a role in the prevention of the human pathologies? *Biomed.pharmacother***56**, 200-207.

Thompson L. U., Seidl M. M., Rickard S. E., Orcheson L. J. & Fong H. H. (1996). Antitumorogenic effect of a mammalian lignan precursor from flaxseed. *Nutrition and Cancer* **26**, 159-165.

Tu Y. C., Lian T.W., Yen J. H., Chen Z.T. & Wu M. J. (2007). Antiatherogenic effects of kaempferol and rhamnocitrin.*J. Agric. Food Chem***55**(24), 9969-9976.

U

Uauy R. P., Perano D., Hoffman P., Mena D. & Birch E. (1996). Role of essential fatty acids in the function of the developing nervous system. *Lipids, Suppl***10**, 167-176.

Références bibliographiques

Udenigwe C. C. & Aluko R. E. (2010). Antioxidant and angiotensin converting enzyme-inhibitory properties of a flaxseed protein derived high Fischer ratio peptide mixture. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58**, 4762-4768.

Udenigwe C. C., Adebisi A. P., Doyen A., Li H., Bazinet L. & Aluko R. E. (2012). +Low molecular weight flaxseed protein-derived arginine-containing peptides reduced blood pressure of spontaneously hypertensive rats faster than amino acid form of arginine and native flaxseed protein. *Food Chemistry* **132**, 468-475.

Uma D. B., Ho C.W. & Wan Aida W. M. (2010). Optimization of Extraction Parameters of Total Phenolic Compounds from Henna (*Lawsonia inermis*) Leaves. *Sains Malays* **39**(1), 119-128.

V

Vaisey-Gaiser M. & Morris D. H. (2003). In: Flax: The genus *Linum*. **Muir A.D. & Westcott N.D.** (éditeurs). Taylor et Francis, New York, NY, pp 1-21.

Valko M., Dieter Leibfritz., Jan Moncola., Mark T. D. Cronin., Milan Mazura. & Joshua Telsler.(2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & Cell Biology* **39**, 44-84.

Velioglu S., Mazza G., Gao L. & Oomah D. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruit, vegetables, and grain products. *Journal of agricultural and Food Chemistry* **46**, 4113-4117.

Velioglu Y. S., Mazza G., Gao L. & Oomah B. D. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of agricultural and food chemistry* **46**(10), 4113-4117.

Venglat P., Xiang D., Qiu Q., Stone L. S., Tibiche C., Cram D., Altling-Mees M., Nowak J., Cloutier S., Deyholos M., Bekkaoui F., Sharpe A., Wang E., Rowland G., Selvaraj G. & Dalta R. (2011). Gene expression analysis of flax seed development. *BMC Plant Biology* **11** (74), 11-14.

W

Wilson H. (1988). Egyptian Food and drink. Shire Publication, Princes Risborough Buckinghamshire, 48 p.

Y

Yang L., Leung K. Y., Cao Y., Huang Y., Ratnayake W. M. N. & Chen Z. Y. (2005). α -Linolenic acid but not conjugated linolenic acid is hypocholesterolaemic in hamsters. *British Journal of Nutrition* **93**, 433-438.

Références bibliographiques

Yesilyurt V., Halfon B., Öwtürket M. & Topçu G. (2008). Antioxidant potential and phenolic constituents of *Salvia cedronella*. *Food chemistry* **108**, 31-39.

Yildirim A., Mavi A. & Kara A. (2001). Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **49**, 411-420.

Youn Young Shima., Bo Guia., Paul G. Arnisonb., Yong Wangcand Martin J.T. & Reaney. (2014). Flaxseed (*Linum usitatissimum* L) bioactive compounds and peptide nomenclature: A review *Trends in Food Science & Technology* **38**, 5-20.

Yuan JP. X., Li SP Xu., JH Wang X. & Liu.(2008). Cinétique d'hydrolyse des oligomères diglucosides de sécoisolaricirésinol de graines de lin. *J. Agric. Food Chem* **56**, 10041-10047.

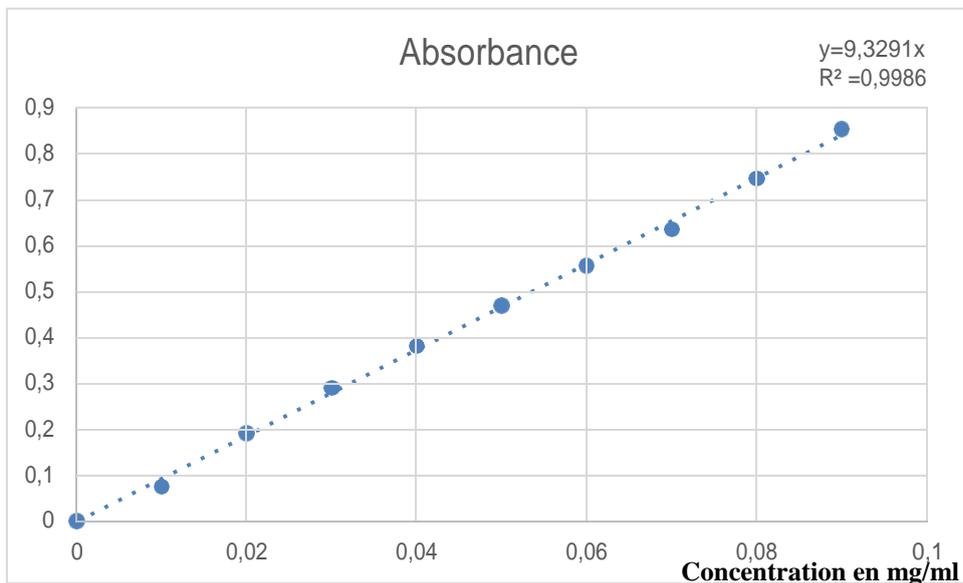
Z

Zuk M., Kulma A., Dymińska M., Szoltysek K., Prescha A., Hanuza J. & Szopa J. (2011). Flavonoid engineering of flax potentiate its biotechnological application. *BMC Biotechnology* **11** (10), 1-19.

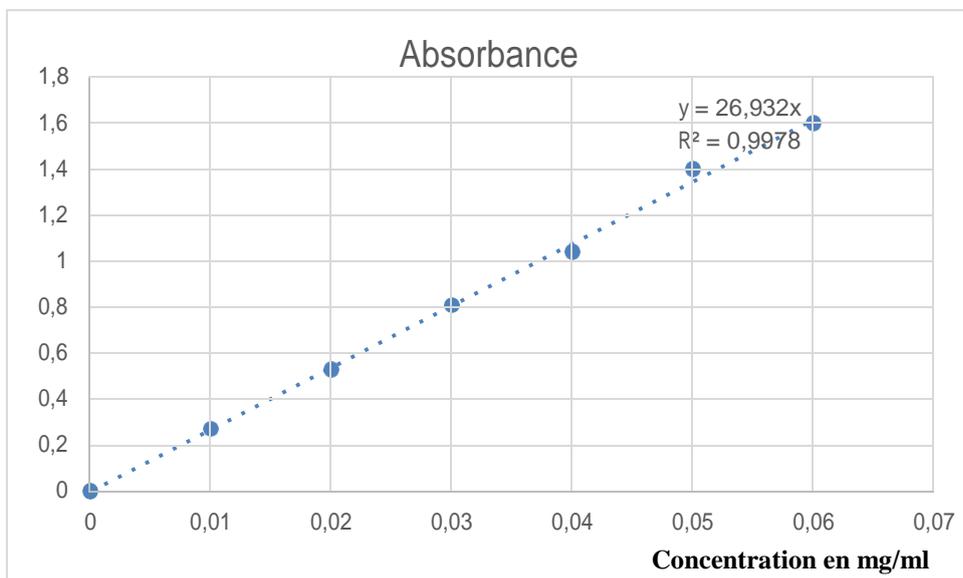
Zuk M., Prescha A., Stryczewska M. & Szopa J. (2012). Engineerinf Flax Plants To Increase Antioxydant Capacity and Improve Oil Composition and Stability. *J. Agric. Food Chem* **60**, 5003-5012.

Annexe

Annexe n°=01 la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (mg EAG/g de M)



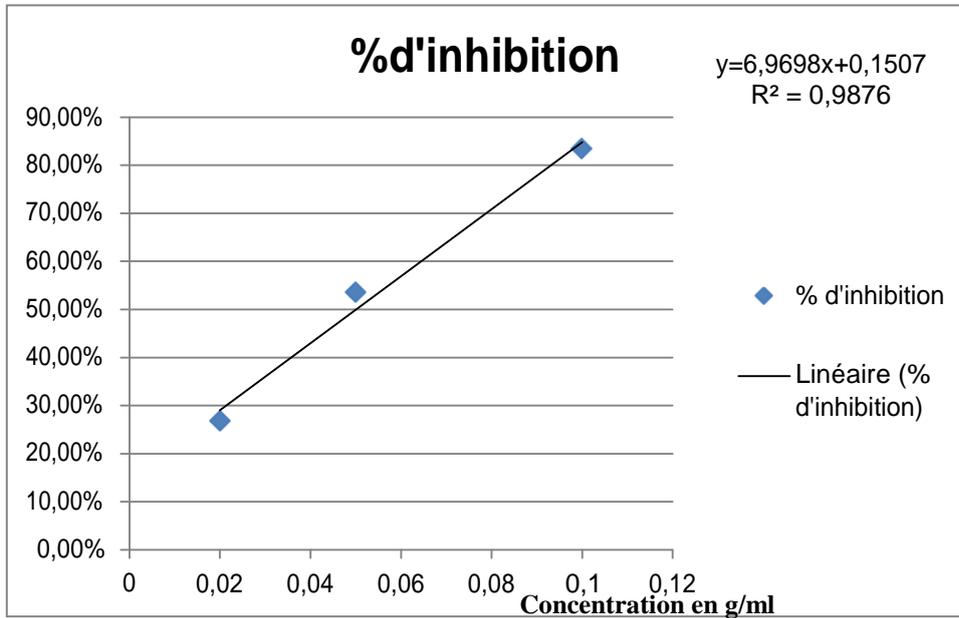
Annexe n°=02 courbe d'étalonnage de la quercétine (mg EQ/g de MS)



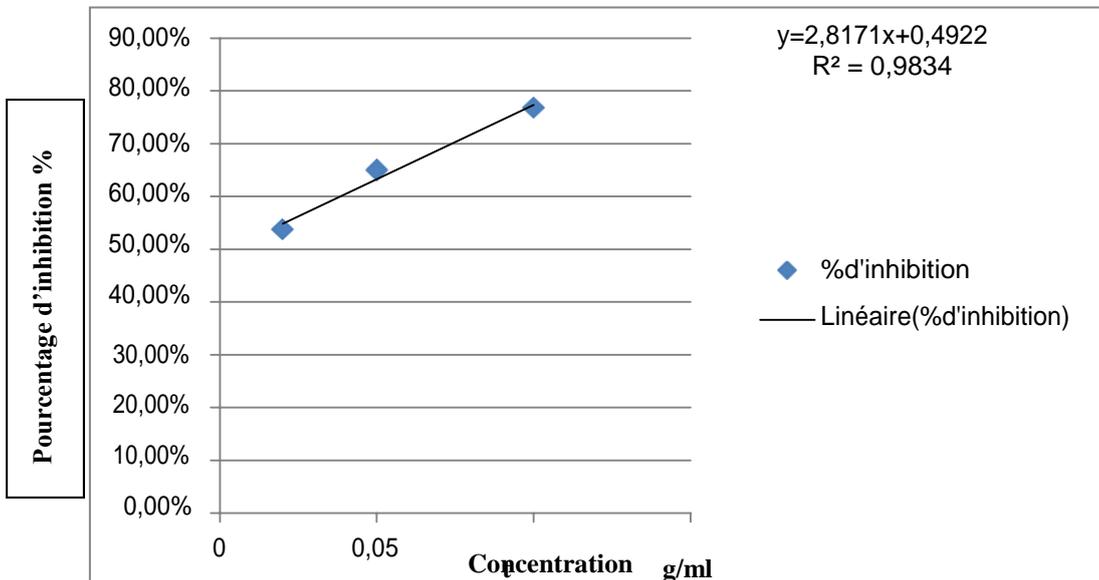
Annexe n°=03 Résultats du test du piégeage du radical DPPH des deux extraits

▪ Courbes d'étalonnages

Extrait éthanolique de Soxhlet



Extrait éthanolique de macération



Annexe

Annexe n°04 = Activité antioxydante de l'acide ascorbique vis-à-vis de DPPH.

