

République Algérienne Démocratique & Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieure et la Recherche scientifique



Université de Saida Dr. Tahar-Moulay

Faculté des Sciences

Département de Biologie



*Mémoire en vue de l'obtention du Diplôme de Master*

*Domaine : Sciences de la Nature et la Vie (SNV)*

*Filière : Sciences Biologiques*

*Spécialité : Biochimie*

**Présenté par :**

M<sup>lle</sup> CHAFI Nour El-Houda et M<sup>lle</sup> MESKINE Sara

## ***Thème***

Effets protecteurs des huiles végétales extraites des graines de lin (*Linum usitatissimum L.*) contre la toxicité du trioxyde de chrome (CrO<sub>3</sub>) chez le rat wistar. Etudes biochimique et histologique

(Revue bibliographique, Objectifs & Méthodologie)

*Soutenu le 07 / 07 /2020 devant le jury :*

**Président :** Mr TERRAS Mohamed

MCA Université de Saida

**Examineur :** Mr AMMAM Abdelkader

MCA Université de Saida

**Encadreur :** Mr BERROUKCHE Abdelkrim

Prof Université de Saida

Année universitaire : 2019 – 2020

## ***Remerciement***

Nous remercions tout d'abord ALLAH le tout puissant de nous avoir donné la patience, la santé et la volonté pour réaliser ce travail.

Nous exprimons nos profonds remerciements à notre encadreur monsieur **BERROUKCHE Abdelkrim**, Professeur du biologie au département de biologie, université de Saïda, pour sa totale confiance, ses conseils, son soutien et sa disponibilité permanente d'avoir réalisé ce travail, ainsi pour ses douaas et ses encouragements qu'il nous a accordés tout au long de notre cursus.

Nous adressons de chaleureux remerciements à Mr : **TERRAS Mohamed**, Maitre de conférences A, au département de Biologie à l'université de Saida, de nous avoir fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire.

Nous voudrions remercier Docteur : **AMMAM Abdelkader**, Maitre de conférences A à la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, département de Biologie, Université de Saida, d'avoir accepté de juger et d'examiner ce travail.

Nous remercions également monsieur **BOUDDOU Farouk** pour sa contribution, ses conseils, son aide et sa bienveillance dans la réalisation de ce travail.

Enfin nous remercions tous ceux qui ont participé de loin ou de pré à la réalisation de cette étude. Veuillez recevoir ce modeste travail comme un début de récompense de tous vos efforts.

## ***Dédicace***

***Avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie que je dédie  
ce travail***

***A mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leurs encouragements, leurs Soutiens,  
leurs précieux conseils et leurs prières durant toute ma vie.***

***Que dieu vous procure bonne santé et longue vie.***

***A ma sœur Asma Je ne saurai traduire sur du papier l'affection que j'ai pour elle.***

***J'implore Allah de te réserver un avenir meilleur.***

***A mes petits frères en témoignage de l'attachement et de l'amour que j'ai pour eux.***

***A mes chers amis pour tous les bons moments qu'on a vécus ensemble.***

***A tous mes enseignants et à toute ma promotion.***

***A tous ceux qui m'ont soutenu, de près ou de loin à la réalisation de ce travail.***

***Sara***

## ***Dédicace***

***A mes chers parents,***

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études,*

*Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.*

*Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez.*

*Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.*

***A mes grands parents qui m'ont toujours soutenue avec leurs douaaas***

***A mes chères***

***Ma sœur, mon frère et mes amies pour leur appui et leur encouragement, A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire,***

***Merci d'être toujours là pour moi.***

***Houda***

## ***Résumé***

Le trioxyde de chrome ( $\text{CrO}_3$ ) est un composé extrêmement réactif à cause de son pouvoir oxydant puissant. La toxicité aigüe de ce sel métallique, chez l'homme, induit des lésions du tube digestif, des brûlures bucco-œsophagiennes, des vomissements sanglants et un syndrome dysentérique. Pour pallier à cette toxicité, des extraits des graines, racines et feuilles de plantes médicinales pourraient être utilisés. L'objectif de ce projet est d'évaluer les activités protectrices des huiles végétales extraites des graines de lin (*Linum usitatissimum*) contre la toxicité induite par  $\text{CrO}_3$  au niveau du tube digestif du rat wistar.

L'expérimentation, suivie dans cette étude, a englobé l'extraction des huiles végétales à partir des graines de lin par la méthode soxhlet et une étude *in vivo*. Les rats ont été répartis en quatre groupes ; GR1 (témoins normaux), GR2 (témoins expérimentaux traités avec  $\text{CrO}_3$ ), GR3 (traités avec l'huile des graines de lin /  $\text{CrO}_3$ ) et GR4 (traités avec l'huile des graines de lin). Des analyses biochimiques (glycémie, cholestérolémie, urémie, créatinémie et dosages des transaminases hépatiques) seront réalisées. Des examens macroscopique et microscopique des différents échantillons du tube digestif (estomac, intestins et colon) seront abordés.

**Mots clés :** Trioxyde de chrome – Tube digestif – Toxicité aigüe – graines de lin - *Linum usitatissimum*

## ***Abstract***

Chromium trioxide (CrO<sub>3</sub>) is an extremely reactive compound because of its powerful oxidizing power. The acute toxicity of this metal salt, in humans, induces damage to the digestive tract, burns to the esophagus, bloody vomiting and dysentery syndrome. To overcome this toxicity, extracts from the seeds, roots and leaves of medicinal plants could be used. The objective of this project is to assess the protective activities of vegetable oils extracted from flax seeds (*Linum usitatissimum*) against the toxicity induced by CrO<sub>3</sub> in the digestive tract of the wistar rat.

The experiment, followed in this study, included the extraction of vegetable oils from flax seeds by the soxhlet method and an *in vivo* study. The rats were divided into four groups; GR1 (normal controls), GR2 (experimental controls treated with CrO<sub>3</sub>), GR3 (treated with flaxseed oil / CrO<sub>3</sub>) and GR4 (treated with flaxseed oil). Biochemical analyzes (glycemia, cholesterolemia, uremia, creatinemia and assays of hepatic transaminases) will be carried out. Macroscopic and microscopic examinations of the different samples from the digestive tract (stomach, intestines and colon) will be covered.

**Keywords :** Chromium trioxide - Digestive tract - Acute toxicity - flax seeds - *Linum usitatissimum*

## ملخص

ثلاثي أكسيد الكروم ( $CrO_3$ ) هو مركب شديد التفاعل بسبب قوته المؤكسدة. تؤدي السمية الحادة لهذا الملح المعدني ، في البشر ، إلى تلف الجهاز الهضمي وحروق المريء والقيء الدموي ومتلازمة الزحار. للتغلب على هذه السمية ، يمكن استخدام مقتطفات من بذور وجذور وأوراق النباتات الطبية. يهدف هذا المشروع إلى تقييم الأنشطة الوقائية للزيوت النباتية المستخرجة من بذور الكتان (*Linum usitatissimum*) ضد السمية التي يسببها  $CrO_3$  في الجهاز الهضمي لجرذ ويستار.

تضمنت التجربة ، التي أعقبت هذه الدراسة ، استخراج الزيوت النباتية من بذور الكتان بطريقة سوكلية ودراسة حية. تم تقسيم الفئران إلى أربع مجموعات ؛ (GR1) الضوابط العادية ، (GR2) الضوابط التجريبية المعالجة بـ  $CrO_3$  ، (GR3) المعالجة بزيت بذور الكتان /  $CrO_3$  و (GR4) المعالجة بزيت بذور الكتان. سيتم إجراء التحاليل البيوكيميائية (السكر في الدم ، الكوليسترول في الدم ، اليوريا ، الكرياتين في الدم وفحوصات الترانساميناسات الكبدية). سيتم تغطية الفحوصات الماكروسكوبية والميكروسكوبية للعينات المختلفة من الجهاز الهضمي (المعدة والأمعاء والقولون).

الكلمات الرئيسية: ثالث أكسيد الكروم - الجهاز الهضمي - السمية الحادة - بذور الكتان - *Linum usitatissimum*

## *Liste des abréviations*

- ADN** : Acide désoxy
- ALA** : Acide linoléinique
- AVC** : Accident vasculaire cérébrale
- BHA** : Butylhydroxyanisole
- BHT** : Butylhydroxytoluène
- CL<sub>50</sub>** : Concentration létale médiane
- Cr VI** : Chrome hexavalant
- CrO<sub>3</sub>** : Trioxyde du chrome
- DHA** : Acide docosahexaénoïque
- DL<sub>50</sub>** : Dose létale médiane
- EPA** : Acide eicosapentaénoïque
- GOT** : Transaminase Glutamo-oxalo-acétique
- GTP** : Transaminase Glutamo-Pyruvique
- OMS** : Organisation mondiale du santé
- PG** : Gallate propylée
- SDG** : secoisolaricirésinol di-glucoside
- TAGs** : Triglycérides
- TBHQ** : Tétrabutylhydroquinone
- UV** : Ultra violet
- VTR** : Valeur toxicologique de référence

## *Liste des tableaux*

Tableau 1 : Classification du lin.....	18
Tableau 2 : Composition chimique (%) des grains de lin .....	21
Tableau 3 : Composition en acides gras de l'huile de lin.....	25
Tableau 4 : Principales classes de composés phénoliques .....	30

## *Liste des figures*

<b>Figure 1</b> : Arrachage du lin, par un dignitaire et sa femme, Tombe de Sennedjem, Der el Medineh, XIXème dynastie .....	17
<b>Figure 2</b> : Planche botanique (a), photographie de capsules et de graines (b) de <i>Linum usitatissimum</i> .....	19
<b>Figure 3</b> : Fruit et graine de lin .....	19
<b>Figure 4</b> : Fleur bleue de <i>Linum Usitatissimum</i> .....	19
<b>Figure 5</b> : Culture du lin en champs (photo 1) et évolution du plant de lin en serre (photo2).....	20
<b>Figure 6</b> : Diagramme de l'utilisation du lin.....	22
<b>Figure 7</b> : Structure des oléosomes .....	23
<b>Figure 8</b> : Anatomie du tube digestif .....	43
<b>Figure 9</b> : les graines de lin.....	47
<b>Figure 10</b> : Montage de l'extracteur soxhlet.....	48
<b>Figure 11</b> : Montage du rota-vapeur .....	49
<b>Figure 12</b> : Réaction du DPPH avec un antioxydant .....	50

## TABLES DES MATIERES

Introduction.....	15
1-Linium usitatissimum (Lin) .....	17
1.1 Historique .....	17
1.2 Classification .....	17
1.3 Description générale du lin.....	18
1.4 Plan morphologique .....	19
1.5 Biologie et écologie.....	20
1.6 Culture du lin .....	20
1.7 Variété du lin .....	20
1.8 Composition du lin.....	21
1.9 Utilisation de lin.....	21
2 Huile de Lin.....	23
2.1 Définition .....	23
2.2 Composition et caractéristiques d’huile de lin .....	24
2.3 Utilisation et bienfait d’huile de lin .....	25
3 Activités antioxydantes et polyphénols .....	27
3.1 Activité antioxydante.....	27
3.1.1 Définition d’un radical libre.....	27
3.1.2 Définition d’un antioxydant.....	27
3.1.3 Principales sources d’antioxydants .....	27
3.1.3.1 Antioxydants naturels.....	27
3.1.3.2 Antioxydants synthétiques .....	27
3.1.4 Types d’antioxydants.....	28
3.1.5 Antioxydants primaires ou piègeur des radicaux libres .....	28
3.1.6 Antioxydants secondaires ou préventifs .....	28
3.1.7 Mécanismes d’action des antioxydants .....	28
3.2 Polyphénols .....	28
3.2.1 Classes des composés phénoliques .....	29
3.2.2 Propriétés biologiques des polyphénols .....	31
4 Trioxyde de chrome .....	32
4.1 Identité .....	32
4.2 Production .....	32
4.3 Propriétés physico-chimiques.....	32
4.3.1 Propriété physique .....	32
4.3.2 Propriétés chimiques.....	33
4.4 Utilisations .....	33
4.5 Mode d'action.....	33
4.6 Exposition au trioxyde du chrome via l’air respiré .....	33
4.7 Exposition au trioxyde du chrome via l’alimentation et l’eau de boisson.....	34
4.8 Evaluation du risque sanitaire .....	35
4.9 TOXICOLOGIE.....	35

4.9.1	Métabolisme .....	35
4.9.1.1	Absorption pulmonaire.....	35
4.9.1.2	Absorption gastro-intestinale .....	36
4.9.1.3	Absorption cutanée .....	36
4.9.2	Transformation.....	36
4.9.3	Distribution.....	37
4.9.4	Elimination.....	37
4.10	Toxicocinétique.....	37
4.10.1	Chez l'animal .....	37
4.10.2	Chez l'homme .....	38
4.11	Toxicité expérimentale .....	38
4.11.1	Toxicité aigüe .....	38
4.11.2	Toxicité subchronique, chronique.....	39
4.12	Effets cancérogènes.....	39
4.13	Effets sur la reproduction .....	40
4.14	Effets génotoxiques .....	40
5	Les pathologies du tube digestif.....	41
5.1	L'appareil digestif.....	41
5.2	Les affections de l'appareil digestif .....	41
5.3	Les symptômes des problèmes digestifs .....	42
5.3.1	Ballonnement .....	42
5.3.2	Brûlure de l'estomac .....	42
5.3.3	La constipation .....	42
5.3.4	Diarrhées .....	42
5.3.5	Dyspepsie .....	42
5.3.6	Dysphagie .....	42
5.3.7	Eructation .....	42
5.3.8	Nausées et vomissements .....	43
5.3.9	Les saignements .....	43
5.4	Les maladies digestives.....	43
5.4.1	Aphtes .....	43
5.4.2	Cancers .....	43
5.4.3	Côlon irritable ou le côlon spasmodique.....	43
5.4.4	Cholélithiase (colique hépatique ou colique biliaire) .....	43
5.4.5	Maladies cœliaque .....	44
5.4.6	Maladie de Crohn et colite ulcéreuse (rectolite).....	44
5.4.7	Maladie diverticulaire.....	44
5.4.8	Maladies hépatiques .....	44
5.4.9	Pancréatite .....	44
5.4.10	Le reflux gastro-œsophagien.....	45
5.4.11	Ulcère gastro-duodénal .....	45
6	1ere partie : Matériel végétal.....	47
6.1	Collecte des graines et authentification de la plante .....	47

6.2	Préparation de l'échantillon végétal destiné à l'analyse chimique .....	47
6.3	Extraction des huiles végétales à partir des graines de lin .....	47
6.3.1	Dispositif extracteur Soxhlet .....	47
6.3.2	Principe de l'extraction.....	48
6.3.3	Mode opératoire .....	48
6.4	Mesure du rendement de l'extraction.....	49
6.5	Etude de l'activité antioxydante .....	50
6.5.1	Principe du test.....	50
6.5.2	Mode opératoire .....	51
6.5.3	Expression des résultats .....	51
7	2 <sup>e</sup> partie : Matériel animal .....	52
7.1	Préparation des animaux destinés à l'expérimentation .....	52
7.2	Alimentation des rats.....	52
8	Design expérimental de l'étude <i>in vivo</i> .....	53
8.1	Répartition des animaux en groupes et expérimentations .....	53
8.1.1	Choix des doses de trioxyde de chrome .....	53
8.1.2	Choix des doses de l'huile de lin.....	53
9	Analyses biochimiques .....	54
9.1	Dosage de la glycémie .....	54
9.2	Dosage des paramètres lipidiques (Triglycérides et Cholestérol total) .....	54
9.2.1	Principe de la méthode de dosage des triglycérides .....	54
9.2.2	Principe de la méthode de dosage du cholestérol .....	54
9.3	Dosage des paramètres rénaux .....	55
9.3.1	Dosage de l'urée.....	55
9.3.1.1	Principe .....	55
9.3.1.2	Mode opératoire.....	55
9.3.2	Dosage de la créatinine .....	56
9.3.2.1	Principe .....	56
9.3.2.2	Mode opératoire.....	56
9.4	Dosage des enzymes hépatiques.....	57
9.4.1	Dosage de GTP et GOT .....	57
9.4.1.1	Principe .....	57
9.4.1.2	Mode opératoire.....	57
9.5	Dosage des paramètres hématologiques (Formule numéraire sanguine) .....	58
10	Etude histologique .....	58
10.1	Etude macroscopique .....	58
10.2	Etude microscopique .....	58
10.2.1	Fixation.....	58
10.2.2	Inclusion et réalisation des blocs .....	58
10.2.3	Réalisation des coupes.....	58
10.2.4	Coloration .....	59
10.3	Analyses statistiques.....	59

Resultats et discussion.....	60
Rendement de l'extraction des huiles végétales des graines de <i>Linum usitatissimum</i> .....	61
conclusion.....	63
references bibliographiques.....	65

# **INTRODUCTION**

Les plantes ont été de tout temps les alliées de l'homme, d'abord pour se nourrir et aussi pour soulager ses maux. On sait que les plantes constituaient la base de la pharmacopée et de la thérapeutique des civilisations antiques (**Bouguerra, 2011**). L'utilisation des plantes en phytothérapie est très ancienne et connaît actuellement une région d'intérêt auprès du public, selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (2003), environ 65-80% de la population mondiale à recours à la médecine traditionnelle pour satisfaire ses besoins en soins de santé primaire, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne (**MA et al., 1997**).

Les huiles, de manière générale, occupent une place importante dans le secteur agricole et agroalimentaire. La production d'huile végétale est considérée depuis plusieurs années comme l'une des filières les plus prometteuses pour la diversification des productions agricoles dans le domaine des applications alimentaires et non alimentaires. Les observations épidémiologiques ainsi que les études nutritionnelles menées sur l'animal et sur l'homme ont montré que les huiles végétales alimentaires disposent de nombreux composants doués d'activités biologiques, nutraceutiques et thérapeutiques (**Belluzzi, 2002**). Le lin, est considérablement employé dans le quotidien de la santé publique et énormément introduit en nutrition animale. Il n'est pas un nouvel aliment, il est un des plus anciens et peut-être, un des aliments originaux et précieux en raison de ses propriétés de guérison qui ont fait de lui une plante millénaire aux vertus médicinales. D'ailleurs, son nom latin « *Linum usitatissimum* » (lin de tous les usages) est amplement mérité. En outre, L'huile de lin est parmi les huiles les plus hautement insaturées. Elle représente la plus riche source végétale d'acide  $\alpha$ -linoléique, elle contient de l'acide linoléique, ce qui donne le rapport n-3/n-6 le plus élevé parmi toutes les sources végétales (**Tzang et al., 2009**).

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

Partant de ces données, nous avons entrepris cette étude qui vise sur la recherche de l'effets protecteurs des huiles végétales extraites des graines de lin (*Linum usitatissimum* L.) contre la toxicité du trioxyde de chrome ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ) chez le rat wistar.

# **SYNTHESE**

# **BIBLIOGRAPHIQUE**

## **1-Linium usitatissimum (Lin)**

### **1.1 Historique**

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



**Figure 1** : Arrachage du lin, par un dignitaire et sa femme, Tombe de Sennedjem, Der el Medineh, XIX<sup>ème</sup> dynastie (Savoire, 2008).

### **1.2 Classification**

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

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

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

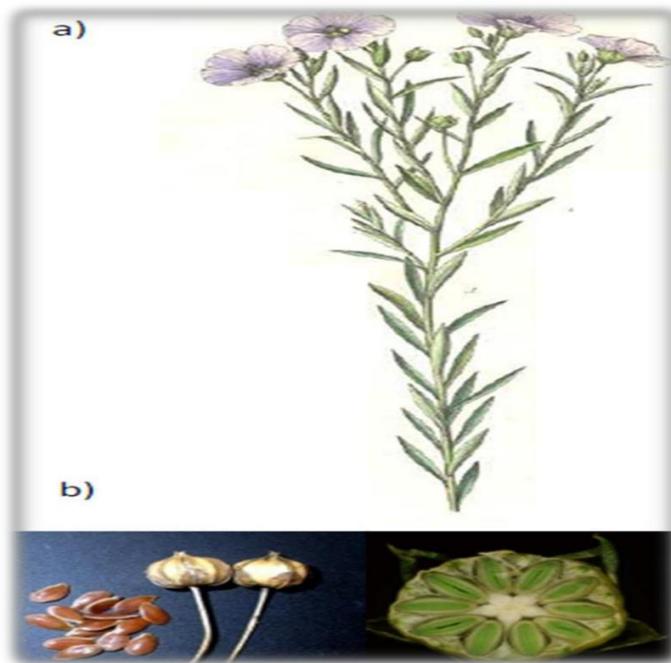
<b>Division</b>	Pteridophyta
<b>Sous-division</b>	Angiospermae
<b>Classe</b>	Dicotyledoneae
<b>Sous-classe</b>	Rosidae
<b>Ordre</b>	Geraniales
<b>La famille</b>	Linaceae
<b>Tribu</b>	Linoideae
<b>Genre</b>	<i>Linum</i>
<b>Espèce</b>	<i>usitatissimum</i> L

### 1.3 Description générale du lin

- **Nom populaire** : Lin ou flax ou linseed
- **Nom latin** : *Linum usitatissimum* L .
- **Nom arabe** : Zerriat al kettane (زريرة الكتان)

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

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



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

#### 1.4 Plan morphologique

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



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



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

### 1.5 Biologie et écologie

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

### 1.6 Culture du lin

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



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

### 1.7 Variété du lin

Les variétés commerciales de lin oléagineux sont différenciées en variétés de printemps et d'hiver, pour une production végétale adaptée aux conditions climatiques, 29 variétés de lin de printemps contre 9 variétés de lin d'hiver sont inscrites au catalogue français de 2012 (Geves, 2012). Les lignées d'hiver sont issues du croisement de lignées de printemps puis sélectionnées pour leur tolérance aux basses températures. Le lin d'hiver est semé en septembre et le lin de printemps en mars.

Le lin d'hiver, présente un rendement en graine plus stable, car la variété est plus tolérante au froid et moins sensible aux stress environnementaux (**Labalette et al., 2011**).

### 1.8 Composition du lin

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

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

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

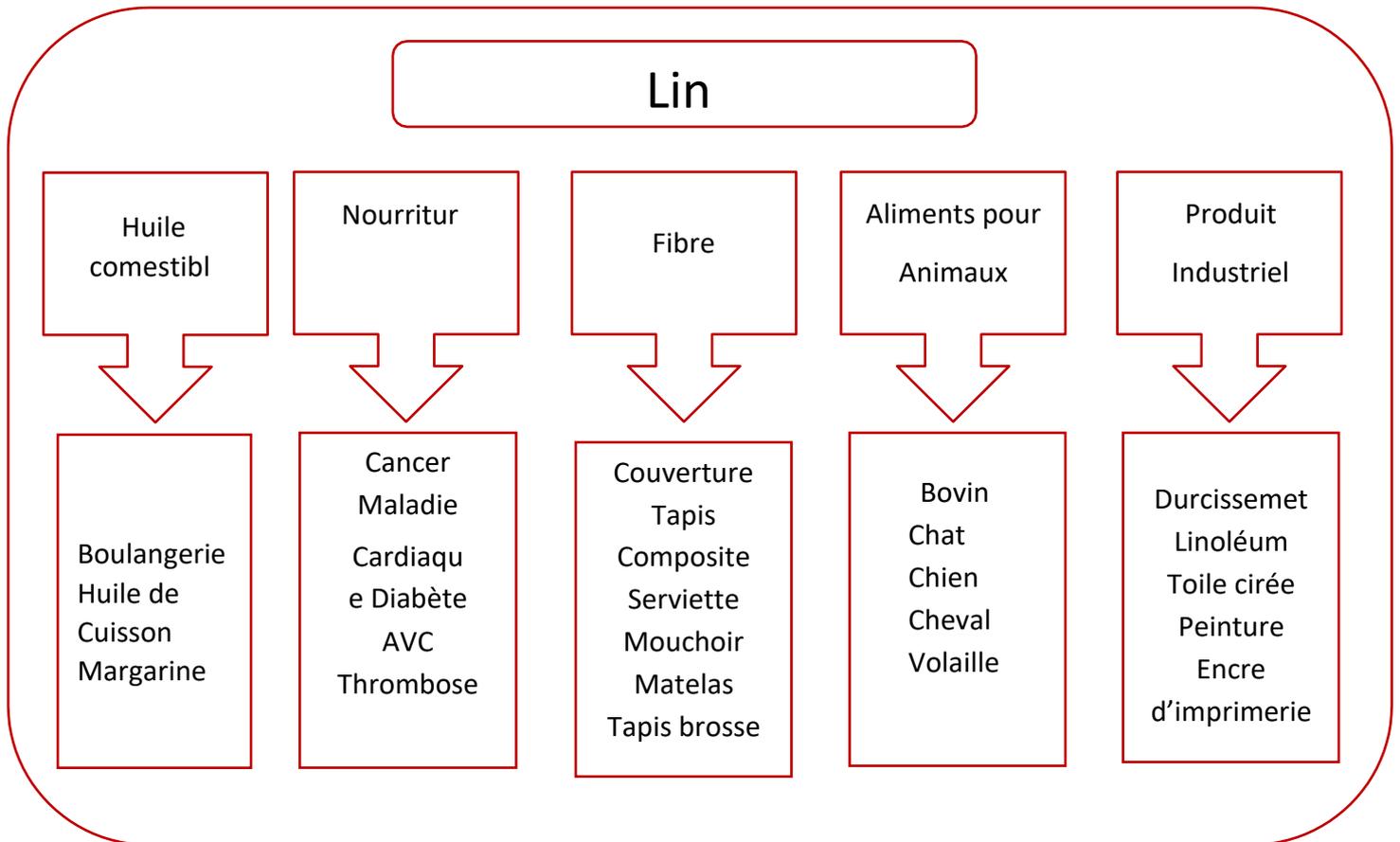
**Tableau 2** : Composition chimique (%) des grains de lin (**Coskuner et Karababa, 2007**)

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

### 1.9 Utilisation de lin

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

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



**Figure 6** : Diagramme de l'utilisation du lin (Laiquet *al.*, 2010).

## 2 Huile de Lin

### 2.1 Définition

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

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

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

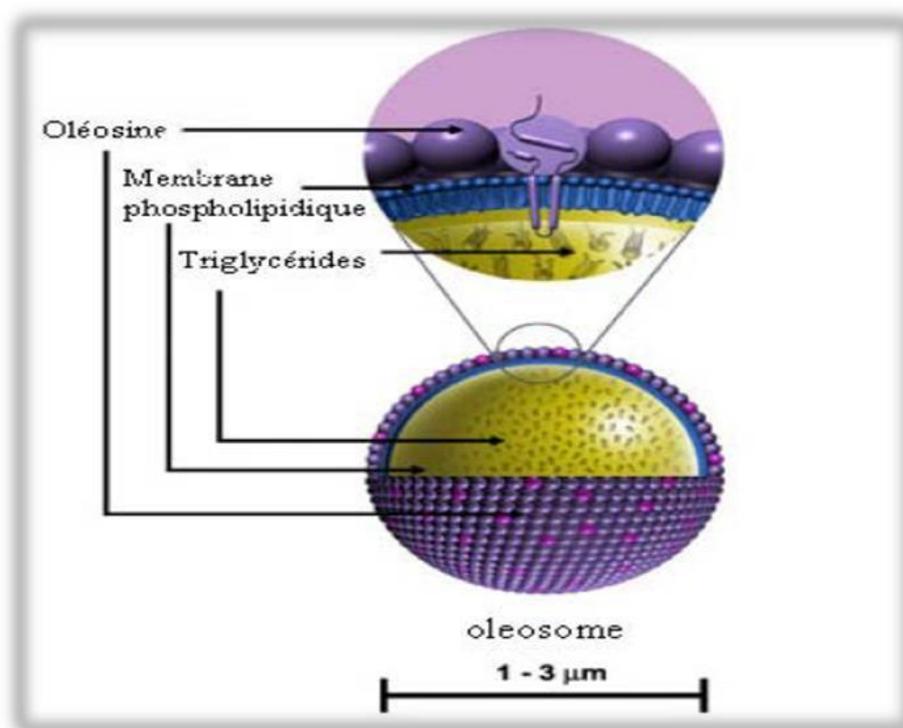


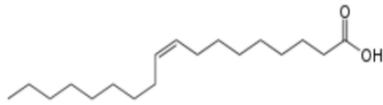
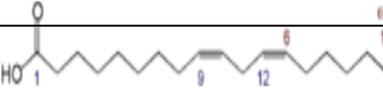
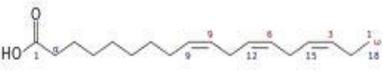
Figure 7 : Structure des oléosomes (INRA, 2007).

## 2.2 Composition et caractéristiques d'huile de lin

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

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

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

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

### 2.3 Utilisation et bienfait d'huile de lin

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

Elle est conseillée chez les personnes souffrant de sclérose en plaque ou de diabète. Elle a aussi un effet sur les systèmes hormonal et immunitaire. L'utilisation quotidienne d'huile de lin protège la membrane gastrique et urinaire. Elle convient aussi pour le visage, la peau irritée et le corps, elle reconnue pour ses propriétés adoucissantes et émoullientes. Elle est employée aussi pour le traitement des cuirs, pour nourrir les sabots des chevaux (Bloedon et Szapary, 2004).

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

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

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

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

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

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

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

### 3 Activités antioxydantes et polyphénols

#### 3.1 Activité antioxydante

Présent dans l'air pour environ une partie sur cinq, l'oxygène est indispensable à la vie de la plupart des êtres vivants et permet la respiration, plus généralement les oxygénations. Il est utilisé en thérapeutique, en inhalation contre l'anoxie globale ou cellulaire, les hémorragies, ainsi que dans de nombreuses affections pulmonaires. Mais l'oxygène peut être également une source d'agression pour ces organismes, en effet des dérivés hautement réactifs de l'oxygène (c'est les radicaux libres) peuvent apparaître au cours des réactions enzymatiques ou sous l'effet des rayons U. V, des radiations ionisantes et de métaux de transition. Les conséquences au niveau de l'organisme se font ressentir sur l'ADN, les lipides et les protéines (**Dacosta, 2003**).

##### 3.1.1 Définition d'un radical libre

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

##### 3.1.2 Définition d'un antioxydant

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

##### 3.1.3 Principales sources d'antioxydants

###### 3.1.3.1 Antioxydants naturels

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

###### 3.1.3.2 Antioxydants synthétiques

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques, tels que le butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT) gallate propylée (PG) et le tétrabutylhydroquinone (TBHQ), sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins

chers que les antioxydants naturels. Cependant, leur sécurité est très discutée car ils génèrent un besoin de recherche comme matière de substitution d'après des sources naturelles comme antioxydantes de la nourriture (**Lisu et al., 2003**). Cependant, il a été montré que ces antioxydants de synthèse pouvaient être toxiques.

### 3.1.4 Types d'antioxydants

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

#### 3.1.5 Antioxydants primaires ou piègeur des radicaux libres

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

#### 3.1.6 Antioxydants secondaires ou préventifs

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

#### 3.1.7 Mécanismes d'action des antioxydants

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

## 3.2 Polyphénols

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

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

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

Ces composés peuvent constituer des signaux de reconnaissance entre les plantes, ou bien lui permettant de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes. Ils participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux à des stress variés, donc ces composés jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel. D'un point de vue thérapeutique, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve dans les plantes médicinales (**Macheix et al., 2005**).

### 3.2.1 Classes des composés phénoliques

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

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

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

### 3.2.2 Propriétés biologiques des polyphénols

Le rôle des composés phénoliques est largement montré dans la protection contre certaines maladies en raison de leur interaction possible avec de nombreuses enzymes et de leurs propriétés antioxydantes (**Fleuriet et al., 2005**).

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

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

## 4 Trioxyde de chrome

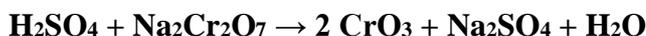
### 4.1 Identité

Le trioxyde de chrome est un composé inorganique avec la formule  $\text{CrO}_3$ . Il est l'anhydride acide de l'acide chromique. Ce composé est un violet foncé solide dans des conditions anhydres, Orange vif lorsqu'il est mouillé et qui se dissout dans l'eau concomitante avec l'hydrolyse. Des millions de kilogrammes sont produites chaque année, principalement pour galvanoplastie. Trioxyde de chrome est un puissant oxydant et un présumé cancérigène.

<b>Formule</b>	$\text{CrO}_3$
<b>Masse molaire</b>	$99,9943 \pm 0,0015 \text{ g/mol}$
<b>Masse volumique</b>	$2,7 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$
<b>Point de fusion</b>	$196 \text{ }^\circ\text{C}$
<b>Point d'ébullition</b>	Se décompose à $250 \text{ }^\circ\text{C}$
<b>Synonyme</b>	Anhydride chromique ; Oxyde de chrome VI

### 4.2 Production

Le trioxyde de chrome est généré en traitant le chromate de sodium ou le dichromate de sodium correspondant avec de l'acide sulfurique:



Environ 100 millions de kg sont produits chaque année par cette voie ou par des voies similaires. Le solide est constitué de chaînes d'atomes de chrome à coordination tétraédrique qui partagent des sommets. Chaque centre de chrome partage donc deux centres d'oxygène avec ses voisins. Deux atomes d'oxygène ne sont pas partagés, ce qui donne une stœchiométrie globale de 1/3. (**Kirk-Othmer, 1992**)

### 4.3 Propriétés physico-chimiques

#### 4.3.1 Propriété physique

Le trioxyde de chrome se présente sous la forme de cristaux, de paillettes, de granulés ou d'une poudre de couleur rouge foncé, à reflets violacés. Il est hygroscopique, très soluble dans l'eau (62,5 g dans 100 g d'eau à  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ ) et ses solutions ont un caractère acide fort ( $\text{pH} < 1$  pour une solution à 1 %). (**Health and Safety, 2005**)

### 4.3.2 Propriétés chimiques

Le trioxyde de chrome est un composé extrêmement réactif en raison de son pouvoir oxydant puissant. Il réagit violemment (jusqu'à l'incendie et l'explosion) avec les substances réductrices et la plupart des poudres métalliques (soufre, phosphore, sulfure d'hydrogène, ammoniacque et sels d'ammonium, sodium, potassium, sélénium et leurs sels). Un très grand nombre de matières organiques (papier, bois, graisses, solvants...) sont oxydées par le trioxyde de chrome et peuvent s'enflammer par simple contact avec celui-ci.

Le produit est très corrosif pour de nombreux métaux. Dans certaines conditions, il se forme une couche d'oxyde qui passive le métal. (Echa, 2018 )

### 4.4 Utilisations

Le trioxyde de chrome est utilisé dans les activités suivantes :

- Formulations de produits pour le traitement de surface des métaux (galvanoplastie, passivation).
- Fabrication de produits de traitement du bois ;
- Fabrication de catalyseurs, de pigments ;
- Intermédiaire de fabrication d'autres composés du chrome (dioxyde de chrome).

Le trioxyde de chrome figure à l'annexe XIV du règlement **REACH** depuis le 17 avril 2013 ; son utilisation est soumise à une procédure d'autorisation délivrée par la Commission Européenne . ( Echa, 2018 )

### 4.5 Mode d'action

Le trioxyde de chrome est un oxydant fort et diffuse facilement à travers les membranes. Il détruit ainsi les cellules épithéliales des voies respiratoires, de la peau, ou des voies digestives exposées. Au cours de sa réduction intracellulaire en chrome III, des dérivés réactifs de l'oxygène peuvent être produits. Ces composés très réactifs sont susceptibles d'engendrer diverses réactions cytotoxiques en cascade comme la lipoperoxydation. (Bagchi D et al, 2002)

### 4.6 Exposition au trioxyde du chrome via l'air respiré

Le trioxyde du chrome est émis dans l'atmosphère à la fois par des sources naturelles et anthropiques. A l'échelle régionale, les émissions atmosphériques naturelles (par remise en suspension de matière érodée) représentent environ 30-40 % des émissions totales.

Les trois principaux secteurs émetteurs étaient en 2012: l'industrie manufacturière (51 % des émissions), le secteur résidentiel/ tertiaire (28 %) et la transformation de l'énergie (12 %).

Dans le secteur de l'industrie manufacturière, les émissions de chrome dans l'atmosphère sont issues principalement de la production des métaux ferreux (48 % des émissions du secteur de l'industrie manufacturière en 2012) en particulier des aciéries électriques et des fonderies de fonte, et des minéraux non métalliques et matériaux de construction (18 % des émissions du secteur en 2012) en particulier du fait de certaines installations de production de verre. (INERIS 2011)

Le chrome provenait des rejets d'une installation de distribution de gaz naturel, le métal étant utilisé comme inhibiteur de corrosion dans les tours de réfrigération du compresseur. La pollution s'est étendue de 1965 à 1987. Plus de 600 personnes ont été indemnisées pour des pathologies variées (cancers du sein, utérus, maladie de Hodgkin ou de Crohn, asthmes, fausses couches, éruptions...) en l'absence d'évaluation médicale et toxicologique objective.

#### 4.7 Exposition au trioxyde de chrome via l'alimentation et l'eau de boisson

La concentration dans l'eau de boisson est typiquement comprise entre 0,2 et 35 µg/l (généralement <5µg/l), celle dans les produits alimentaires frais varie de moins de 10 à 1300 µg/kg.

C'est sur les concentrations du chrome dans l'air ambiant (<0,01-0,03µg/m<sup>3</sup>) et dans l'eau du robinet (<2µg/l) que l'OMS s'est basée pour estimer l'apport journalier de chrome par l'air inhalé (<0,2-0,6µg) et par l'eau du robinet (<4µg). La teneur en chrome des aliments varie dans d'importantes proportions. Les denrées alimentaires mises en conserve dans des boîtes non laquées et d'autres aliments préparés (aliments acides tels que les jus de fruit, le chocolat, fruits de mer..) peuvent présenter des teneurs en chrome sensiblement plus élevées que les aliments frais. La migration du chrome à partir d'objets en acier inoxydable est minime et elle ne se produit qu'à l'état Cr(III). La consommation prolongée et excessive de

« compléments alimentaires » enrichis en chrome (0,2 à 1mg par capsule sous forme de nicotinate ou picolinate) a entraîné plusieurs cas d'insuffisance rénale sévère imposant l'hémodialyse. (Testud F,2012)

### 4.8 Evaluation du risque sanitaire

Le risque sanitaire encouru par une population exposée au  $\text{CrO}_3$  peut être calculé en comparant les doses d'exposition de cette population, estimées à partir d'un scénario d'exposition, avec une valeur toxicologique de référence (VTR). En France, l'ANSES n'a pas créé de VTR mais, dans le cadre d'une évaluation des risques sanitaires, a retenu les valeurs suivantes pour une exposition par voie orale. (ANSES, 2012)

- pour les effets non cancérogènes (effets à seuil) : 1  $\mu\text{g}/\text{kg p.c./j}$
- pour les effets cancérogènes (effets sans seuil) : 0,5 (mg/kg p.c./j)-1

L'ANSES (2012) a évalué le risque lié à un dépassement des valeurs seuils dans l'eau de boisson (50  $\mu\text{g}/\text{L}$ ) et conclu que pour protéger la santé de la population, la concentration maximale en  $\text{CrO}_3$  dans l'eau potable devrait être de l'ordre de 6  $\mu\text{g}/\text{L}$ . (ANSES, 2012)

### 4.9 TOXICOLOGIE

#### 4.9.1 Métabolisme

La voie respiratoire est la voie principale d'absorption du trioxyde de chrome. Son action sur la peau est surtout locale. La toxicité du trioxyde de chrome résulte de son pouvoir corrosif et des espèces réactives générées lors de sa réduction.

##### 4.9.1.1 Absorption pulmonaire

En cas d'exposition professionnelle, l'absorption se fait de façon prédominante par inhalation et éventuellement par voie cutanée. (ANSES, 2017)

De nombreux facteurs influencent l'absorption du chrome inhalé parmi lesquels la taille des particules, l'état d'oxydation, la solubilité dans les milieux biologiques, l'activité des macrophages alvéolaire et l'interaction avec des biomolécules faisant suite à leur dépôt dans les poumons. (Hoet P, 2015)

En cas d'inhalation de composés  $\text{CrO}_3$  (<5 $\mu\text{m}$ ) 53 à 85% sont absorbés ou remontent dans le pharynx par clairance muco-ciliaire, le reste persistant dans les poumons .

L'absorption des composés hydrosolubles du  $\text{CrO}_3$  est plus rapide et importante que celle des composés peu solubles, une accumulation pulmonaire de ces derniers composés se produisant lors d'une exposition répétée avec comme conséquence une « exposition endogène » prolongée .

Dans le tractus respiratoire, le trioxyde de chrome est en partie réduit en Cr (III) par le surfactant, les macrophages alvéolaires et les cellules du parenchyme pulmonaire périphérique et de l'arbre bronchique, ce qui limite son absorption. (Hoet P, 2015)

### 4.9.1.2 Absorption gastro-intestinale

L'absorption gastro-intestinale du chrome est limitée et de façon générale les composés du Cr(VI) sont mieux absorbés que les composés du Cr(III) . 2 à 5% du trioxyde du chrome inorganique ingéré est absorbé.

Les chromates sont instables en milieu acide et une grande partie du CrO<sub>3</sub> ingérée est réduite en Cr(III) dans le tractus digestif (salive, liquide gastrique). Cette réduction limite l'absorption du CrO<sub>3</sub> par voie orale . L'absorption du CrO<sub>3</sub> serait plus faible lorsqu'il est ingéré dans de l'eau que si il est ingéré avec du jus d'orange, qui acide, réduit le CrO<sub>3</sub> en Cr(III) . Cette voie d'absorption peut être considérée comme marginale dans un contexte d'exposition professionnelle (le CrO<sub>3</sub> ingéré dans ce contexte provient essentiellement du mécanisme d'élimination par l'ascenseur muco-ciliaire). (ANSES, 2017)

### 4.9.1.3 Absorption cutanée

Une toxicité systémique est observée en cas d'exposition cutanée aux composés solubles du CrO<sub>3</sub>, essentiellement l'acide chromique, indiquant une absorption cutanée significative de ce type de composés . L'absorption cutanée du chrome, en particulier sur peau lésée, a été mise en évidence chez l'homme et l'animal par des mesures dans les urines ou dans le sang . (Hoet P, 2015. ANSES,2017)

### 4.9.2 Transformation

le trioxyde du chrome pénètre facilement la cellule. Au PH physiologique, il existe en tant qu'oxyanion (CrO<sub>4</sub><sup>-</sup>) dont la structure ressemble aux anions sulfate et phosphate (SO<sub>4</sub><sup>-</sup> / PO<sub>4</sub><sup>-3</sup>), et son transport à travers les membranes s'effectue par l'intermédiaire du système de transport actif non spécifique de ces anions. Le trioxyde du chrome est instable dans la cellule et est réduit par différents systèmes d'oxydoréduction (agents réducteurs : acide ascorbique, glutathion, cystéine, nicotinamide, adénine dinucléotide phosphate...) en Cr(V) et Cr(IV), intermédiaires réactionnels, et finalement en Cr(III). Cette réduction se produit probablement dans tous les tissus, mais le tractus gastro-intestinal a probablement la capacité de réduction la plus importante, puis par ordre d'importance viennent le foie, les reins, les érythrocytes, le plasma. (ANSES, 2017)

Dans le tractus respiratoire, le trioxyde du chrome est réduit dans le liquide péri-ciliaire recouvrant l'épithélium, les macrophages alvéolaires et les cellules de l'arbre bronchique et du parenchyme pulmonaire. (De Flora S, 2000)

### 4.9.3 Distribution

Une fois absorbé, le parcours du chrome dans l'organisme dépend de son état d'oxydation.

Dans le sang, le trioxyde de chrome pénètre les globules rouges où il est réduit en Cr(III), celui s'accumulant alors dans le globule rouge où il est séquestré pendant toute la durée de vie du globule rouge (120 jours environ). Une réduction du  $\text{CrO}_3$  dans le plasma limite toutefois sa pénétration dans les érythrocytes. Ainsi, une fois le  $\text{CrO}_3$  dans le sang, il y a donc compétition entre la réduction du  $\text{CrO}_3$  en Cr(III) dans le plasma et la pénétration du  $\text{CrO}_3$  dans les érythrocytes. **(Lauwreys R, 2007)**

Des études de distribution chez l'animal après exposition par voie inhalée aux fumées de soudage et instillation intratrachéale de chromate de sodium, mais aussi après exposition cutanée, ont montré une répartition assez ubiquitaire du chrome dans l'organisme.

Un passage transplacentaire et dans le lait maternel a été mis en évidence chez des femmes professionnellement exposées (mesure du chrome dans le cordon ombilical, le placenta et le lait) ainsi que chez le fœtus après avortement, par rapport à des femmes non exposées. Un passage mère enfant du chrome est probable. **(ANSES, 2017)**

### 4.9.4 Elimination

Lors d'exposition par inhalation, l'excrétion des composés du  $\text{CrO}_3$  se fait principalement par les urines (>80%) et en minorité par les fèces. Que ce soit dans les urines ou les fèces, l'excrétion se fait essentiellement sous forme Cr(III) (complexes entre le Cr(III) et des protéines de faibles poids moléculaire) du fait de la réduction importante du  $\text{CrO}_3$  dans l'organisme. En cas d'exposition orale, une grande proportion de chrome peut être retrouvée dans les fèces lié au fait que le  $\text{CrO}_3$ , réduit en Cr(III) n'est pas absorbé. **(Hoet P, 2015 .ANSES, 2017)**

La demi-vie plasmatique est généralement brève (heures), alors que l'élimination des tissus est plus lente (demi-vie de plusieurs jours) . Des études de cinétique détaillées, menées chez des sujets exposés aux fumées émises lors du soudage de l'acier inoxydable, suggéraient l'existence de trois compartiments ayant des demi-vies, respectivement de sept heures, 15 à 30 jours et trois à cinq ans .

## 4.10 Toxicocinétique

### 4.10.1 Chez l'animal

Les données ont été établies à partir d'études chez le rat, la souris, le cochon d'Inde et le lapin. Vingt à trente pour cent du chrome hexavalent (VI) passent dans

la circulation sanguine après absorption par voie respiratoire. L'absorption est faible par voie cutanée (1 - 4 %) et par voie orale (2 - 9 %) ; l'absorption gastro-intestinale diminue avec la quantité de nourriture ingérée ; elle est limitée par la réduction du chrome VI en chrome III dans l'estomac. Le chrome VI est transporté par les hématies qui le réduisent principalement en chrome III ; il est en partie stocké dans les globules rouges, en partie distribué dans tout l'organisme y compris le placenta. Après exposition chronique, le chrome VI s'accumule dans les poumons, la rate (où sont détruites les hématies en fin de vie), les intestins, les reins, le foie et les testicules.

De 20 à 70 % de la dose administrée sont éliminés sous forme réduite (Cr III) par les urines ou les fèces ; cette voie devenant prépondérante en cas d'absorption *per os*. (Fairhurst SMC, 1989)

### 4.10.2 Chez l'homme

Chez l'Homme, son absorption digestive est faible. En milieu professionnel, l'absorption se fait surtout par inhalation. (Cross HJ. et al, 1997)

## 4.11 Toxicité expérimentale

### 4.11.1 Toxicité aiguë

La toxicité aiguë du trioxyde de chrome résulte essentiellement de son caractère corrosif.

L'inhalation, l'ingestion et l'absorption percutanée de trioxyde de chrome sont létales pour différentes espèces animales (souris, rat, lapin). Elles provoquent de graves lésions des tissus exposés, des saignements et ulcérations, une cyanose et une détresse respiratoire. La CL50 par inhalation est évaluée à 217 mg/m<sup>3</sup> chez le rat exposé à un aérosol pendant 4 heures. Les DL50 par voie orale se situent entre 52 et 113 mg/kg chez le rat, entre 135 et 175 mg/kg chez la souris et à 57 mg/kg chez le cochon d'Inde. La DL50 par voie cutanée est évaluée à 55 mg/kg chez le rat.

Le trioxyde de chrome est très irritant à corrosif chez le lapin, propriété attendue en raison de son faible pH. Les composés solubles du chrome VI induisent une sensibilisation cutanée chez la souris et le cochon d'Inde ; on observe des réactions croisées avec le chrome III qui semblent montrer que celui-ci constitue l'haptène final. (Cross HJ. et al, 1997)

### 4.11.2 Toxicité subchronique, chronique

L'exposition chronique au chrome VI, par inhalation, provoque inflammations et ulcérations.

Soumise à l'inhalation répétée de trioxyde de chrome (1,8 et 3,6 mg/m<sup>3</sup> CrO<sub>3</sub>) pendant au moins 8 mois, la souris développe des symptômes dus aux propriétés irritantes voire corrosives de la substance : ulcérations, perforation du septum nasal, inflammation de la muqueuse nasale, du pharynx, prolifération de cellules épithéliales de la trachée, emphysème.

Des signes équivalents sont observés chez le rat dès la première semaine d'exposition ; ces signes peuvent régresser après plusieurs semaines. L'atteinte pulmonaire s'accompagne d'une réaction inflammatoire, mise en évidence par une mobilisation des macrophages alvéolaires. Une dose sans effet toxique de 0,7 mg/m<sup>3</sup> a été mise en évidence chez le rat.

Les autres voies d'exposition n'ont pas été étudiées chez l'animal. **(Fairhurst SMC, 1989)**

### 4.12 Effets cancérigènes

Des tumeurs induites par le trioxyde de chrome ont été mises en évidence par inhalation chez le rat et par administration intrabronchique chez la souris. Le trioxyde de chrome est classé dans la catégorie 1 (1A) des cancérigènes par l'Union européenne et dans le groupe 1 par le CIRC.

De nombreux animaux inhalant le trioxyde de chrome de façon chronique présentent une inflammation voire une hyperplasie des voies respiratoires. Quelques études chez la souris exposée pendant 6 à 12 mois à une inhalation de 1,8 à 13 mg/m<sup>3</sup> de Cr VI montrent des cas de papillome nasal et d'adénomes pulmonaires. L'implantation intrabronchique de 1 à 130 mg de Cr VI chez le rat induit le développement de quelques métaplasies bronchiques et quelques carcinomes.

La formation de tumeurs au site d'injection après administration intrapleurale ou intramusculaire chez le rat est peu pertinente en raison du type de voies choisies dans ces études. **(ECHA, 2005)**

### 4.13 Effets sur la reproduction

Le trioxyde de chrome peut altérer la fertilité et provoquer des signes d'embryotoxicité (résorptions fœtales et retard de développement) chez les rongeurs.

Dans une étude subchronique, l'administration de 10 ou 20 mg/kg de trioxyde de chrome à des rats modifie la qualité et le nombre de leurs spermatozoïdes. Les tubules séminifères adoptent une morphologie anormale.

Chez le hamster, l'injection intraveineuse de 2,6 mg/kg de Cr VI provoque retards de développement, hydrocéphales et fentes palatines. Puis, à partir de 3,9 mg/kg, dose toxique pour la mère, s'ajoutent des troubles de l'ossification et des résorptions fœtales.

Une étude chez la souris, traitée par 5,2 à 10,4 mg/kg de Cr VI par voie sous-cutanée, rapporte des effets embryo- et foetotoxiques, des retards de développement et une augmentation. **(Hong L et al, 2001)**

### 4.14 Effets génotoxiques

Le trioxyde de chrome est mutagène dans plusieurs modèles d'études *in vitro*. Il est classé par l'Union européenne, comme d'autres composés hydrosolubles du chrome VI, mutagène catégorie 2.

Les données disponibles concernent essentiellement d'autres composés solubles du chrome VI et démontrent leur génotoxicité. Le trioxyde de chrome, pour sa part, donne des résultats positifs dans les tests suivants :

- Tests de répliation d'ADN *in vitro* : diminution de la fidélité de la répliation ;
- Tests bactériens de mutations ponctuelles (chez *E.coli* ou *S. typhimurium*) ; tests de mutations ponctuelles cellules mammifères en culture ;
- Tests cytogénétiques (micronoyau, échange de chroma- tides sœurs) sur cellules de rongeurs en culture.

Le trioxyde de chrome déclenche une réponse SOS chez *E.coli*, qui pourrait contribuer à la mutagenèse induite par les adduits à l'ADN formé par le Cr VI, bloquant la machinerie de répliation. Certains facteurs du système de réparation des mésappariements seraient également impliqués. **(Cross HJ. et al, 1997)**

## 5 Les pathologies du tube digestif

### 5.1 L'appareil digestif

L'appareil digestif désigne l'ensemble des organes dont la fonction est la transformation des aliments, leur assimilation et leur absorption dans l'organisme. L'appareil digestif humain est le système qui permet de digérer les aliments afin de fournir à l'organisme les nutriments nécessaire à son fonctionnement. Les déchets, sont rejetés par l'anus, sous forme de matières fécales. (John E. King M D, 2001)

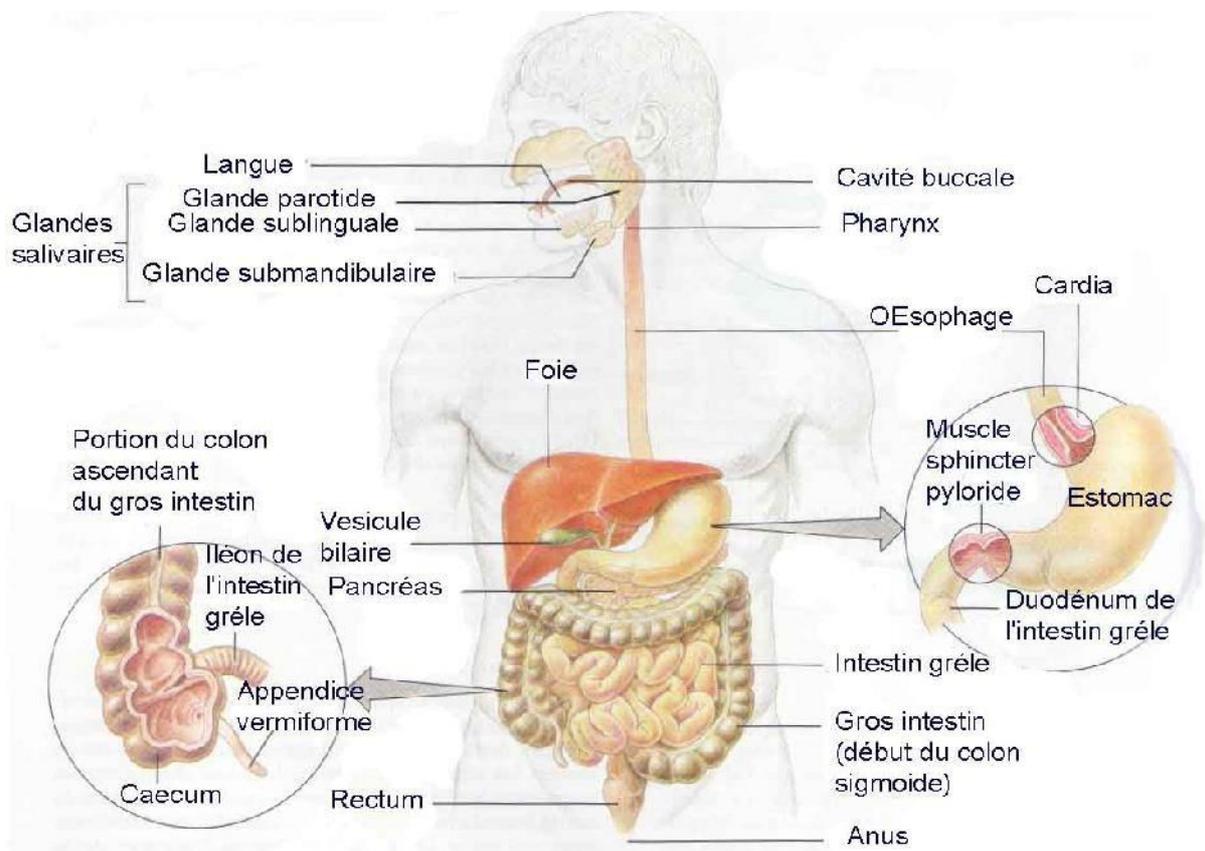


Figure : Anatomie du tube digestif

### 5.2 Les affections de l'appareil digestif

Les maladies de l'appareil digestif sont parmi les causes les plus souvent évoquées pour une visite chez le médecin. Ce sont également celles qui amènent le plus de gens à consommer des médicaments.

### 5.3 Les symptômes des problèmes digestifs

#### 5.3.1 Ballonnement

C'est l'accumulation de gaz dans l'estomac et les intestins, il s'accompagne d'une douleur abdominale plus au moins intense. Ils sont causés souvent par l'ingestion d'aliments gras. **(John E. King M D, 2001)**

#### 5.3.2 Brulure de l'estomac

Sensation de brûlure, qui se produit à cause de relâchement et d'affaiblissement de sphincter œsophagien inférieur, permettant à l'acide gastrique de refluer dans l'œsophage. **(John E. King M D, 2001)**

#### 5.3.3 La constipation

Résulte d'une absorption importante de l'eau des résidus alimentaire dans le colon formant des selles sèches, elle peut être temporaire comme elle peut indiquer un problème grave.

#### 5.3.4 Diarrhées

La diarrhée résulte d'une inflammation des parois de l'intestin grêle rendant les intestins inaptes à absorber les liquides et les nutriments, le côlon absorbe ensuite les liquides formant des selles semi-solides. Le plus souvent causé par des infestions virale ou bactérienne. **(John E. King M D, 2001)**

#### 5.3.5 Dyspepsie

Douleur ou inconfort gastrique, elle peut être symptomatique d'autres désordres digestifs. **(John E. King M D, 2001)**

#### 5.3.6 Dysphagie

C'est la difficulté d'avaler et la sensation que la nourriture colle dans la gorge ou reste dans la poitrine. Elle se produit à 2 endroits: le pharynx et l'œsophage. La dysphagie œsophagienne est la plus courante. **(Quevauvilliers J. Somogyi A, 2007)**

#### 5.3.7 Eructation

C'est l'expulsion de l'air de l'estomac par l'œsophage et la bouche, il peut être causé par un reflux gastrique.

C'est l'expulsion de gaz par l'anus, ils proviennent souvent de la fermentation d'aliments non digérer. **(John E. King M D, 2001)**

### 5.3.8 Nausées et vomissements

La nausée c'est la sensation désagréable d'être sur le point de vomir alors que les vomissements c'est l'expulsion forcée du contenu gastrique provoquée par la contraction involontaire des muscles abdominaux. Le plus souvent causées par une gastro-entérite et ils ne sont pas habituellement symptomatique d'une maladie grave, sauf lorsqu'ils perdurent et sont accompagné de douleur. **(Univadis, 2005)**

### 5.3.9 Les saignements

Extériorisation du sang par des vomissements (hématémèse), de sang rouge par l'anus (rectorragie), l'évacuation de selles noirâtres (méléna), ou le saignement chronique occulte du tube digestif. Parfois le saignement est causé par un problème mineur telle une maladie des gencives ou des hémorroïdes, dans d'autres cas il indique une maladie grave tel un ulcère ou un cancer. **(Univadis, 2005)**

## 5.4 Les maladies digestives

### 5.4.1 Aphtes

Petites ulcérations douloureuses de la muqueuse buccale, qui guérissent en générale spontanément. **(Santeweb, 2019)**

### 5.4.2 Cancers

Le cancer est une masse de cellules anormales, qui forment des tumeurs qui interfèrent le fonctionnement des organes vitaux, les cancers peuvent surgir n'importe où dans le tube digestif mais la pluparts sont trouvées dans le côlon et le rectum, les cancers qui touchent les organes digestifs sont les carcinomes, les lymphomes et les sarcomes. **(John E. King M D, 2001)**

### 5.4.3 Côlon irritable ou le côlon spasmodique

Se caractérise par une douleur causée par une contraction anormale des muscles du côlon, ballonnement associé à des diarrhées ou une constipation. **(John E. King M D, 2001)**

### 5.4.4 Cholélithiase (colique hépatique ou colique biliaire)

Survient lorsque des calculs se logent dans le col de la vésicule ou le canal cystique et obstruent la vésicule, causant des douleurs dans le haut de l'abdomen, le dos et le thorax. **(John E. King M D, 2001)**

### 5.4.5 Maladies cœliaque

Syndrome de malabsorption de petit enfant, causé par le gluten qui endommage et provoque une réaction immunitaire de l'intestin grêle, provoquant ainsi la disparition des villosités et donc l'inhibition de l'absorption. Caractérisé par des douleurs abdominales et des selles graisseuses. (Quevauvilliers J. Somogyi A, 2007)

### 5.4.6 Maladie de Crohn et colite ulcéreuse (rectolite)

Ce sont des maladies inflammatoires intestinales chroniques, caractérisé par des diarrhées, des douleurs abdominales et du sang dans les selles. La maladie de Crohn touche n'importe quelle partie de l'appareil digestif, alors que la colite ulcéreuse se limite au côlon et au rectum et elle n'attaque que la muqueuse superficielle. (John E. King M D, 2001)

### 5.4.7 Maladie diverticulaire

C'est le développement de petites cavités en forme de poche dans le tube digestif beaucoup plus au niveau de colon sigmoïde, elle se présente sous 2 formes : diverticulose qui peut être asymptomatique ou causé des crampes abdominales, ballonnement, diarrhée ou constipation. La diverticulite causée par l'inflammation et l'infection de la diverticulose qui peut être transformé en abcès ou accumulation de pus, se caractérise par des douleurs abdominales gauches, fièvre et nausées. (John E. King M D, 2001)

### 5.4.8 Maladies hépatiques

Les **hépatites** : c'est des affections inflammatoires de foie, elles se présentent sous plusieurs formes, les hépatites virales A, B, C, D et E, l'hépatite amibienne, l'hépatite alcoolique ou médicamenteuse, l'hépatite auto-immune et stéatohépatite non alcoolique.

**Hémochromatose** : c'est une anomalie génétique, incitant les intestins à absorber trop de fer, qui passe dans le sang et s'accumule dans certains organes principalement le foie, endommage les organes et donne une pigmentation foncée de la peau.

**Cirrhose** : résulte d'une complication des maladies hépatiques chroniques, une condition dans laquelle des tissus cicatriciels se forment dans le foie et l'empêchent de fonctionner normalement. (John E. King M D, 2001)

### 5.4.9 Pancréatite

C'est une inflammation de pancréas qui peut être aigue (hémorragique, œdémateuse

ou gangreneuse) ou chronique, caractérisé par des douleurs abdominales, fièvre et ballonnement. **(John E. King M D, 2001)**

### **5.4.10 Le reflux gastro-œsophagien**

Il s'agit de remonté acide associé à des brûlures de l'estomac, ainsi que dysphagie et des douleurs thoracique, il peut être compliqué par sténose, métaplasie de l'œsophage, ou ulcère. **(John E. King M D, 2001)**

### **5.4.11 Ulcère gastro-duodéal**

Désigne une plaie ouverte au niveau de l'estomac ou de l'intestin grêle, caractérisé par une douleur ou une crampe dans le haut de l'abdomen, causée par l'acide gastrique sur la plaie ouverte. Il peut être d'origine bactérienne ou suite à la prise régulière des AINS. **(John E. King M D, 2001)**

# **MATERIELS & METHODES**

## **61ere partie : Matériel végétal**

### **6.1 Collecte des graines et authentification de la plante**

Les graines de lin (*Linum usitatissimum*) ont été collectées. Une quantité appréciable des graines de la plante a été achetée au niveau du marché locale de la ville de Saida durant la période novembre 2019.



**Figure 9** : les graines de lin

### **6.2 Préparation de l'échantillon végétal destiné à l'analyse chimique**

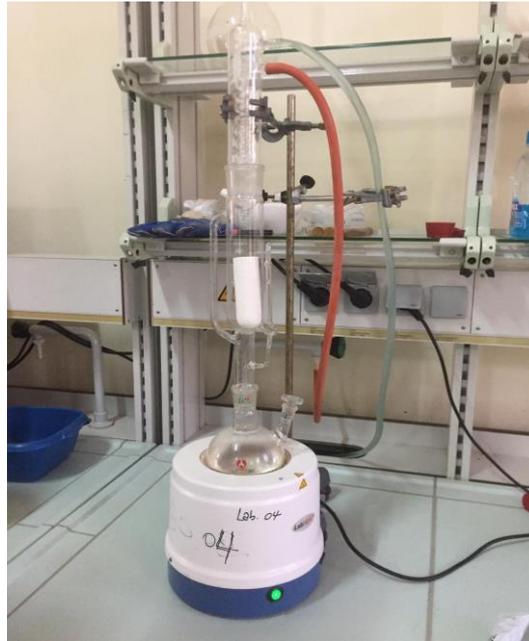
Une quantité de 100 g de graines de *Linum usitatissimum* (ou graines de lin) a été broyée et transformée en poudre fine grâce à l'usage d'un moulin électrique.

La poudre des graines sera conservée à l'abri de la lumière dans un climat sec jusqu'à sa prochaine utilisation pour l'extraction des huiles végétales.

### **6.3 Extraction des huiles végétales à partir des graines de lin**

#### **6.3.1 Dispositif extracteur 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 (**figure 10**). Cet appareil porte le nom de son inventeur : Franz Von Soxhlet.



**Figure 10 : Montage de l'extracteur soxhlet**

### 6.3.2 Principe de l'extraction

Pour réaliser le procédé d'extraction, le montage de Soxhlet a été utilisé (**figure 10**). Il est constitué de plusieurs parties à savoir ;

- Un ballon pour recevoir le solvant organique (Hexane)
- Un extracteur permettant le contact entre le solvant et le solide (poudre des graines de la plante) placé dans une cartouche poreuse
- Un siphon permettant l'évacuation de la solution (vapeurs des extraits de la poudre distillées) vers le ballon
- Un réfrigérant à eau qui permet la condensation des vapeurs de solvant dans la cartouche

### 6.3.3 Mode opératoire

- Un volume suffisant de l'hexane (300 ml) a été mis dans le ballon.
- Une quantité de 30 g de poudre des graines de lin a été mise dans la cartouche de Soxhlet.
- Le solvant organique, hexane, placé dans le ballon est chauffé pour démarrer l'extraction.
- L'extraction a été arrêtée lorsque le liquide entourant la cartouche devient clair indiquant que l'hexane n'extrait plus rien du solide (poudre des graines de la plante).

- Le temps d'un cycle d'extraction a duré 4 heures sans interruption.
- Le cycle d'extraction a été répété plusieurs fois jusqu'à épuisement complet des huiles végétales (extrait) dans la matière première (poudre des graines de lin).
- Le contenu du ballon (Hexane plus les huiles végétales extraites) a été ensuite traité à l'aide d'un appareillage utilisant un système de rotation du mélange (hexane avec les huiles végétales) afin de séparer le solvant des huiles et ainsi de quantifier le volume ou la masse de l'extrait total qui était représenté par les huiles végétales des graines de *Linum usitatissimum* (ou graine de lin).
- La séparation du solvant de la fraction lipidique a été faite à l'aide de l'appareil, appelé Rota- vapeur.
- L'opération a été répétée avec deux autres solvants : l'éthanol et l'éther de pétrole avec le même volume et la même quantité de la poudre des graines de lin ; le temps de traitement était variable selon la nature du solvant utilisé.



**Figure 11** : Montage du rota-vapeur

### 6.4 Mesure du rendement de l'extraction

Le volume de l'huile végétale extraite des graines de la plante *Linum usitatissimum* (ou Lin), obtenue et séparée de l'hexane, a été apprécié ou mesuré en millilitres dans le but de déterminer sa masse en gramme. Pour cela on s'est référé à l'utilisation de la masse volumique (ou densité) de l'huile végétale extraite qui est de **0,93 g/ml** afin de déduire la masse en grammes de l'huile végétale utilisée.

La formule de la masse volumique est :

$$\mu = \frac{m}{v} \quad m = v \times \mu$$

$$\mu = 0,93g / ml$$

Le rendement de cette huile extraite est calculé par l'équation :

$$R(\%) = \frac{M_{\text{extrait}}}{M_{\text{échan}}} \times 100$$

$M_{\text{échan}}$  : la masse sèche de l'échantillon végétal

$M_{\text{extrait}}$  : la masse de l'échantillon après évaporation du solvant

## 6.5 Etude de l'activité antioxydante

C'était prévu de faire l'évaluation d'activité antioxydante de ces extraits avec le test DPPH° (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) mais vu la situation qu'on a vécu c'était impossible de réaliser ce test.

### 6.5.1 Principe du test

Le test DPPH° permet de mesurer le pouvoir antiradicalaire de molécules pures ou d'extraits végétaux dans un système modèle (solvant organique, température ambiante). Il mesure la capacité d'un antioxydant (AH, composés phénoliques généralement) à réduire le radical chimique DPPH° (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) par transfert d'un hydrogène. Le DPPH°, initialement violet, se transforme en DPPH-H, jaune pâle.

La réduction du DPPH° est facilement mesurée par spectrophotométrie à 515 nm ( $\lambda_{\text{max}}$  DPPH°). La réaction sera plus ou moins rapide selon la nature de l'antioxydant, et la quantité de DPPH-H formée dépendra de la concentration en antioxydant.

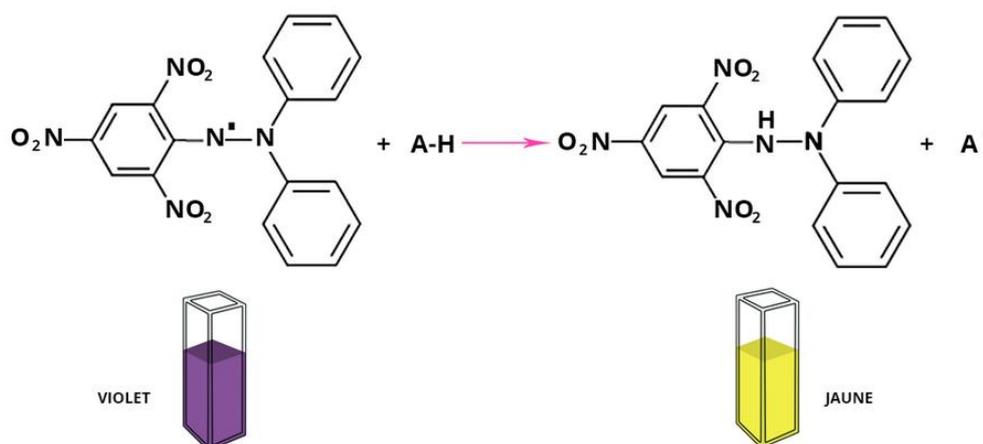


Figure 12 : Réaction du DPPH avec un antioxydant

### 6.5.2 Mode opératoire

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

### 6.5.3 Expression des résultats

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

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

PI : pourcentage d'inhibition.

DO contrôle : absorbance du témoin négatif. DO échantillon : absorbance de l'échantillon.

L'étude de la variation de l'activité antiradicalaire en fonction de la concentration des échantillons permet de déterminer la concentration qui correspond à 50% d'inhibition (CI50). Une valeur de CI50 faible correspond à une grande efficacité de l'échantillons.

## **7 2<sup>e</sup> partie : Matériel animal**

### **7.1 Préparation des animaux destinés à l'expérimentation**

Au début de l'élevage et avant toute expérimentation animale, un groupe de 3 rats Wistar mâles adultes fournis bénévolement par le département de biologie (Faculté de Science, Université Dr Moulay Tahar, Saida) ont été mis en présence de 4 rats Wistar femelles adultes au sein de l'animalerie du Département de Biologie (Faculté de Science, Université Dr Tahar-Moulay de Saida) durant plusieurs jours afin de déclencher une reproduction. Après plusieurs gestations, il a été possible d'aboutir à un nombre élevé de rats qui nous permettra de constituer notre échantillon désiré et formé de rats des deux sexes male et femelle .

A la fin, juste une population de 16 rats Wistar adultes , âgés entre 4 et 5 mois a pu être obtenue pour entamer nos expérimentations animales. Les animaux ont été laissés un certain temps sans être soumis à aucune expérimentation (ou répartis en groupes d'étude) pour s'acclimater ou s'adapter à leur environnement (Température, alimentation et le mouvement du personnel travaillant à l'intérieur de l'animalerie).

Les rats Wistar ont été hébergés dans des cages en plastique artisanales. Les animaux étaient gardés dans des conditions standards d'environnement (Cycle circadien 12 heures jour / nuit, température ambiante maintenue à  $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) avec accès à une alimentation standard et l'eau de robinet *ad libitum* (c'est-à-dire accès libre).

### **7.2 Alimentation des rats**

L'alimentation, fournie aux rats, a été achetée auprès des magasins qui vendaient l'alimentation destinée au bétail. Il s'agit une nourriture équilibrée dont les compositions en aliments et nutriments répondent aux besoins quotidiens des animaux pour assurer une leur croissance normale.

Les besoins nutritionnelles pour un rat adulte ont été respectés tout le long de nos expérimentations. Les proportions en aliments étaient de 13 – 14 % pour les protéines, 3 – 4 % pour les lipides et 1 % pour le Calcium.

La quantité d'aliments donnée, chaque jour, à un rat était l'équivalent de 10 % de son poids corporel. Les proportions de nourriture ont été contrôlées afin d'éviter l'engraissement ou l'obésité des animaux qui pourrait constituer un facteur de risque de mortalité.

La nourriture, non consommée dans la journée par les animaux, était très vite retirée des cages car elle pourrait devenir toxique et nauséabonde et attirant des insectes (moustiques et mouches) nuisibles à l'environnement et la santé des animaux.

## 8 Design expérimental de l'étude *in vivo*

### 8.1 Répartition des animaux en groupes et expérimentations

Une population de 16 rats Wistar (*Albinos*), âgés entre 4 et 6 mois et pesant entre 150 et 248 g, ont été répartis en 4 groupes de 4 rats chacun :

**Groupe 1 (Témoins)** : Les animaux se nourrissaient d'une alimentation standard et d'une eau de robinet.

**Groupe 2 ( $CrO_3$ )** : les animaux étaient administrés par voie orale d'une solution de trioxyde de chrome (1/10 DL50)

**Groupe 3 (Huile de lin –  $CrO_3$ )** : les animaux, préalablement administrés par voie orale d'une solution de l'huile de lin (2 mL), ont été exposés au trioxyde de chrome (1/10 DL50) dans les memes conditions que le groupe 2

**Groupe 4 (Huile de lin)** : les animaux ont été administrés par voie orale d'une solution de l'huile de lin (2 mL).

#### 8.1.1 Choix des doses de trioxyde de chrome

La dose utilisée de  $CrO_3$  était de **0.52 mg / kg** de poids corporel (soit une solution à une concentration de **0.52 mg / L** d'eau distillée). Elle est l'équivalent de 1/10 de la dose létale **DL<sub>50</sub> (orale) = 52 mg / L** (Conformément au règlement CE No. 1907/2006)

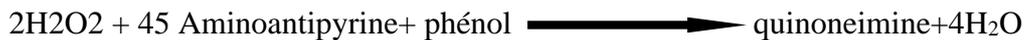
#### 8.1.2 Choix des doses de l'huile de lin

La dose utilisée de l'huile de lin était de **4.54 mg / kg** de poids corporel (soit une solution à une concentration de **4,54 mg / L** d'eau distillée). Elle est l'équivalent de 1/100 de la dose létale **DL<sub>50</sub> (oral) = 4543 mg/kg**. (Estimé par calcul selon la directive 1999/45/CE 3.1.2.)

## 9 Analyses biochimiques

### 9.1 Dosage de la glycémie

La glycémie est mesurée à l'aide de bandelettes d'un glucomètre). Le test réactif de la bandelette pour le dosage de la glycémie est basé sur la réaction catalysée par l'enzyme glucose oxydase.



### 9.2 Dosage des paramètres lipidiques (Triglycérides et Cholestérol total)

#### 9.2.1 Principe de la méthode de dosage des triglycérides

Les triglycérides sont déterminés selon les réactions suivantes :

[Lipoprotéine lipase]



[Glycérokinase, Mg<sup>++</sup>]



[Glycérol-3- Phosphate oxydase]



[Péroxydase]



#### 9.2.2 Principe de la méthode de dosage du cholestérol

Le cholestérol est mesuré après hydrolyse enzymatique puis oxydation. L'indicateur quinoneimine est formé à partir du peroxyde d'hydrogène et du amino 4 antipyrine en présence de phenol et de peroxydase(Naito et al, 1984). Détermination enzymatique selon les réactions suivantes :

[Cholestérol estérase]



[Cholestérol oxydase]



[Péroxydase]



La quantité de quinoneimine formée est proportionnelle à la concentration de cholestérol.

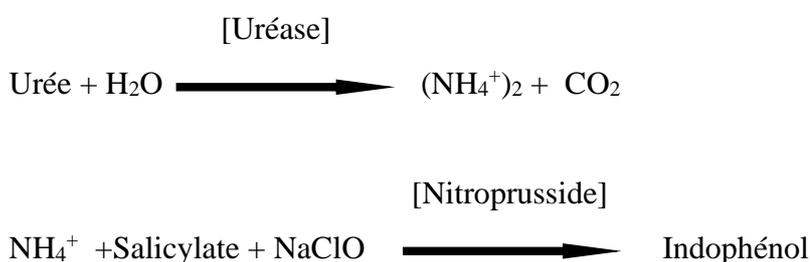
### 9.3 Dosage des paramètres rénaux

#### 9.3.1 Dosage de l'urée

##### 9.3.1.1 Principe

Le dosage est réalisé sur le sérum par la méthode colorimétrique utilisant l'uréase selon la fiche technique Spinréact.

L'uréase hydrolyse l'urée en ammoniacque ( $\text{NH}_4^+$ ) et le dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ). Les ions  $\text{NH}_4^+$  réagissent avec le salicylate et l'hypochlorite ( $\text{NaClO}$ ), en présence de nitroprusside pour former l'indophénol de couleur verte (Naito et al, 1984), selon les réactions :



##### 9.3.1.2 Mode opératoire

Dans un tube sec 10  $\mu\text{l}$  d'échantillon sont additionnés à 1ml de réactif 1

Réactif 1 : Uréase 30000 U /l dissoute dans un tampon phosphate pH=6.7 : 50mmol/l contenant (EDTA : 2mmol/l, salicylate de sodium : 400mmol/l, nitroprusside de sodium : 10mmol/l)

- Agitation
- Incubation à 37°C pendant 5 minutes
- Un volume de 1ml de réactif 2 est ajouté au mélange

Réactif 2 : Hypochlorite de sodium : 140mmol/l, hydroxyde de sodium : 150 mmol / l

- Agitation
- Incubation à 37°C pendant 5 minutes
- Lecture contre un blanc réactif à 580 nm avec utilisation d'un étalon.

$$[\text{Urée}] \text{ (mg/dl)} = \frac{(\text{A}) \text{ Echantillon}}{(\text{A}) \text{ Etalon}} \times 50 \text{ (concentration de l'étalon)}$$

### 9.3.2 Dosage de la créatinine

#### 9.3.2.1 Principe

Le test est basé sur la réaction de la créatinine avec le picrate de sodium comme décrit par Jaffe.

Créatinine réagit avec le picrate alcalin formant un complexe rouge. L'intervalle de temps choisi pour les mesures évite les interférences provenant d'autres constituants du sérum.

L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de créatinine dans l'échantillon (Murray et *al.*, 1984a) et la fiche technique Spinreact.

Réactif 1 : acide picrique.

Réactif 2 : réactif alcalin (Na OH)

Réactif 3 : Etalon de créatinine 2mg/dl

#### 9.3.2.2 Mode opératoire

Mélanger des volumes égaux de réactif 1 et réactif 2.

La solution de travail est stable pour 10 jours de 15 à 25°C.

	Blanc	Etalon	Dosage
Solution du travail	1ml	1ml	1ml
Etalon (Réactif 3)	--	100µl	--
Sérum	--	--	100µl

- Mélanger

- lire l'absorbance (A1) après 30 secondes et après 90 secondes (A2) d'étalon et de dosage

- Calculer :  $\Delta A = A_2 - A_1$

$$[\text{Créatinine}] \text{ (mg/dl)} = \frac{\Delta A \text{ échantillon}}{\Delta A \text{ Etalon}} \times 2 \text{ (concentration de l'étalon)}$$

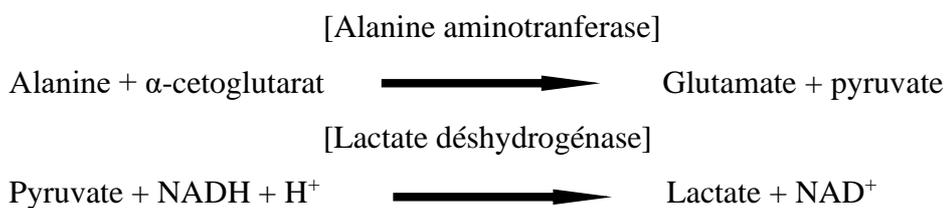
9.4 Dosage des enzymes hépatiques

9.4.1 Dosage de GTP et GOT

9.4.1.1 Principe

Les enzymes transaminases GTP (*Transaminase Glutamo-Pyruvique*) et GOT (*Transaminase Glutamo-oxalo-acétique*) catalysent le transfert réversible d'un groupe amine de l'alanine à l'acide  $\alpha$ -cétoglutarique en formant l'acide glutamique et l'acide pyruvique.

L'acide pyruvique produit est réduit en acide lactique par Lactate déshydrogénase (LDH) et NADH:



Le taux de diminution de la concentration de NADH, mesuré par photométrie, est proportionnel à la concentration d'ALT présente dans l'échantillon (Murray et al., 1984b).

9.4.1.2 Mode opératoire

Réactif 1 :tampon, pH 7.8, L-alanine

Réactif 2 :substrat (NADH, LDH,  $\alpha$ -cétoglutarate).

Dissoudre le contenu du réactif 2 avec la solution tampon (réactif1).

La solution est stable pendant 21 jours de 2 à 8°C ou 72 heures de 15 à 25°C.

Solution du travail (ml)	1
Sérum ( $\mu$ l)	100

- Mélanger, et attendre 1 min
- lire à 340nm l'absorbance après 1min, 2min et 3min
- Calculer la différence entre les absorbances et la moyenne de la différence par minute ( $\Delta A/\text{min}$ ).
- Le blanc de cette réaction est l'eau distillée

$$\Delta A/\text{min} \times 1750 = \text{U/L d'AST}$$

### **9.5 Dosage des paramètres hématologiques (Formule numéraire sanguine)**

Les paramètres hématologiques à savoir le taux d'hémoglobine (Hb), le nombre des globules rouges (GR), le nombre des globules blancs (GB), le nombre des plaquettes et le volume globulaire moyen (VGM) sont déterminés à l'aide d'un appareil automate .

## **10 Etude histologique**

### **10.1 Etude macroscopique**

A la fin des expérimentations (après 30 jours), les animaux seront anesthésiés par le chloroforme par voie d'inhalation et puis sacrifiés. Plusieurs différents échantillons du tube digestif (estomac, intestins et colon) seront prélevés pour faire l'objet d'une étude histologique macroscopique. Ces différents tissus seront préservés dans une solution de formol à 10 % jusqu'à leur utilisation.

Plusieurs paramètres seront évalués comme le poids des tissus, leur aspect, couleur et dimensions (longueur et largeur). Ces tissus seront conservés pour une étude microscopique.

### **10.2 Etude microscopique**

#### **10.2.1 Fixation**

La fixation des échantillons sera faite dans le formaldéhyde 10 %. Les prélèvements réalisés seront placés dans des cassettes spéciales à parois tournées afin de permettre le passage des liquides.

#### **10.2.2 Inclusion et réalisation des blocs**

La paraffine utilisée pour l'inclusion des prélèvements n'étant pas miscible à l'eau, une étape de déshydratation est nécessaire avant l'inclusion. Les échantillons seront déshydratés dans des bains successifs d'éthanol à 80 %, 90 % et absolu puis dans 4 bains successifs de toluène. Les échantillons seront ensuite inclus transversalement dans des moules métalliques. Cette étape sera réalisée à l'aide d'un distributeur de paraffine liquide à 55°C.

#### **10.2.3 Réalisation des coupes**

Après refroidissement, à une température - 20°C, des blocs de paraffine contenant les prélèvements, trois niveaux de coupes de 4 µm d'épaisseur seront réalisés à l'aide d'un microtome manuel Microm HM 340 E (Thermo scientific, Illkirch). Ces coupes seront étalées

sur des lames, dépliées dans un bain d'eau gélatineuse chaude, puis les lames seront déposées sur une plaque chauffée à 55°C permettant le collage du prélèvement sur la lame.

### 10.2.4 Coloration

Pour la coloration, la technique à l'Hématoxyline-Eosine ou (Hématéine-Eosine) sera utilisée; nécessitant la présence de l'alcool acide (100 ml d'alcool éthylique à 70 % + 50 ml d'acide HCl), eau ammoniacale (100 ml d'eau distillée + 2 ml Ammoniaque) et solution d'Eosine (100 ml Eosine solution aqueuse à 3%, 125 ml alcool éthylique à 95%, 375 ml d'eau distillée et 2 gouttes d'acide acétique).

### 10.3 Analyses statistiques

Les données et résultats seront exprimés en valeurs moyennes et en leurs erreurs standards des moyennes (Mean  $\pm$  SEM). L'étude statistique sera effectuée par le test de l'analyse de la variance (one-way ANOVA) suivi du test de Tukey afin de comparer tous les résultats des groupes d'animaux. Ces analyses seront réalisées à l'aide du logiciel informatique *SigmaPlot* version 11.0

# **RESULTATS**

## **&**

# **DISCUSSION**

### **Rendement de l'extraction des huiles végétales des graines de *Linum usitatissimum***

L'huile végétale extraite des graines de lin, par la méthode Soxhlet, a subi une rota-évaporation pour séparer le solvant « hexane ». L'huile obtenue était d'une couleur verte olive.

L'utilisation du solvant hexane est le meilleur moyen pour séparer les huiles végétales et il permet d'obtenir un bon rendement d'extraction. Le rendement d'extraction des huiles végétales des graines de *lin* était de 33,33 %.

La masse de l'échantillon formé de la poudre des graines était de **30 g** ( $M_{\text{échantillon}}$ ).

Le volume des huiles végétales, après rota-évaporation, était de **10 mL**.

La densité (ou masse volumique) de l'huile de lin est de **0,935**.

L'utilisation de la densité a permis de convertir le volume de l'huile (mL) en masse (g) d'où la masse de l'huile a été déduite de la formule ;

$$\text{Densité} = M_{\text{extrait}} / V$$

$$M_{\text{extrait}} = \text{Densité} \times V$$

$$M_{\text{extrait}} = 0,935 \times 10 = \mathbf{9.35 \text{ g}}$$

Ces données ont permis alors de déterminer le rendement d'extraction des huiles végétales selon l'équation suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = M_{\text{extrait}} / M_{\text{échantillon}} \times 100$$

$$\text{Rendement} = (10 / 30) \times 100 = \mathbf{33.33 \%}$$

# CONCLUSION

La synthèse bibliographique de notre projet a permis de présenter d'une manière détaillée le sel métallique à savoir le trioxyde de chrome et tout ce qui l'entoure comme toxicité, pharmacocinétique, applications et pathologies associées. Aussi, il a été mis en revue la plante aromatique *Linum usitatissimum* avec la présentation de toutes ses vertus pharmacologiques.

Notre protocole expérimental s'est limité juste à l'identification de la plante et l'extraction des huiles végétales à partir des graines de lin. Il restait beaucoup à faire comme l'étude *in vitro* (test d'inhibition par DPPH, dosages des polyphénols et flavonoïdes et analyses de la composition des huiles par chromatographie en phase gazeuse ou CPG) et l'étude *in vivo* (analyses biochimiques et examens histologiques des échantillons intestinaux des animaux exposés au trioxydes de chrome et traités avec l'huile de lin). Ces étapes expérimentales n'ont pu être réalisées à cause de la fermeture des portes de notre université depuis le mois de Mars 2020 par instructions présidentielle et ministérielle suite à la pandémie du COVID-19 due au virus SARS-COV-2.

L'idée directrice de notre étude a consisté à extraire l'huile de *Linum usitatissimum* dite le lin, à déterminer ses propriétés physico-chimiques, ainsi que l'activité antioxydante d'huile et de l'extrait. Le rendement d'extraction de l'huile de lin par la méthode Soxhlet en utilisant l'hexane comme solvant, est de l'ordre de 33.33 %. En effet, le rendement d'extraction d'une huile varie selon la méthode et le solvant utilisé. La valeur obtenue est proche à celles rapporté par la bibliographie.

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

D'autres perspectives pourront venir s'ajouter à cette étude qui n'a pas encore trouvé sa finalité, on peut proposer :

- ✓ D'analyser l'huile de lin par HPLC (Chromatographie en phase liquide à haute performance)
- ✓ De tester l'huile de lin sur des souches bactériennes et des champignons, mais aussi tenter de l'émulsifier avec d'autres produits.

**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

### A

- **ACGIH, 2004.** American Conference of Governmental Industrial Hygienists, Documentation of the threshold limit values and biological exposure indices / Documentation of TLV's and BEI's. 7th ed. Cincinnati, Ohio : ACGIH. (2004). Publication #0100Doc
- **ACGIH, 2012.** Chromium and inorganic compounds. In : Guide to Occupational Exposure Values. ACGIH, 2012.
- **ANSES, 2010 .**Valeurs limites d'exposition en milieu professionnel. Les composés du chrome hexavalent. Avis de l'Anses. Rapport d'expertise collective. Maisons-Alfort: Anses ; 2010.
- **ANSES, 2012.** AVIS de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à l'évaluation des risques sanitaires liés aux dépassements de la limite de qualité du chrome dans les eaux destinées à la consommation humaine. Maison-Alfort : ANSES ; 2012.
- **Ayad A, Merzouk H, Merzouk S.A, Narce M. 2013.** Blood oxidant / antioxidant status in overfed aging rats: comparative effects of sunflower, olive and linseed oil rich diets. *Biomedical and Environmental Sciences*, 26,390-393.

### B

- **Bagchi D, 2002.** Chrome et composés. In Biotox. In. Base de données Biotox. INRS, mise à jour juin 2016 (Bagchi D et al. - Cytotoxicity and oxidative mechanisms of different forms of chromium. *Toxicology*. 2002, 180 (1) : 5-22.
- **Bloedon L.T, Szapary P.O. 2004.** Flaxseed and cardiovascular risk. *Nutrition Review*, 62(1),18-27.
- **Boizot N, Charpentier J.P. 2006.** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. *Le cahier des techniques de l'Inra*, p79-82.

- **Bouguerra A. 2011.** Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de *Foeniculum vulgare* Mill. En vue de son utilisation comme conservateur alimentaire, p10.

### C

- **Casa R, Russell G, Cascio B. L, Rossini F. 1999.** Environmental effects on linseed (*Linum usitatissimum* L.) yield and growth of flax at different stand densities. *European journal of agronomy*, 11(3), 267-278.
- **Coşkuner Y, Karababa E. 2007.** Some physical properties of flaxseed (*Linu usitatissimum* L.). *Journal of Food Engineering*, 78(3), 1067-1073.
- **Cross HJ. et al, 1997.** Criteria document for hexavalent chromium. Institute of Occupational Health, UK, 1997, International Chromium Development Association, Paris.

### D

- **Dacosta Y. 2003.** *Les phytonutriments bioactifs : 669 réféérences bibliographiques.* Edition. Yves Dacosta, Paris, p 317.
- **Daun J, Barthet V, Chornick T, Duguid S. 2003.** Structure, composition and variety development of flaxseed. In: *Thompson, L., Cunanne, S. edition. Flaxseed in Human Nutrition. Second Edition Champaign, Illinois,* p1-40.
- **De Flora S., Iltcheva M. et Blansky R.M., 2006.** «Oral Chromium (VI) does not Affect the Frequency of Micronuclei in Hematopoietic Cells of Adult Mice and Transplacental Foetus.» *Mutation Research.* Vol. 610, p. 38-47. (2006).
- **Diederichsen A, Richards K. 2003.** Cultivated flax and the genus *Linum* L. *Flax: the genus Linum*, p32-38.

### E

- **ECHA, 2018.** Substance information. Chromium trioxyde. Helsinki ; 2018

### F

- **Fairhurst SMC** - The toxicity of chromium and inorganic chromium compounds. 1989, Health and Safety Executive **Favier**

**A. 2006.** Stress oxydant et pathologies humaines. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 64(6), 390-396.

- **Fleuriet A, Jay-Allemand C, Macheix J.J. 2005.** Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. *Presses polytechniques et universitaires romandes*, p 121-216

### G

- **GEVES. 2012.** Centre d'Etudes et de Contrôle des Variétés et des Semences. Site consulté le 19 avril 2019, <http://cat.geves.info/page/ListeNationale>.

### H

- **Halliwell B, Gutteridge J.M.C. 1999.** *Free radicals in biology and medicine*, Oxford, UK.
- **Health and safety, 2005.** Chromium trioxide. Fiche CHEMINFO n° 3361. Canadian Centre for Occupational Health and Safety. Consultable sur CD Rom CCInfo, 2005.
- **Heli Jroy R.D, Shanna Lundy M.S, Chad Eriksen B.A, Beth K. 2007.** Flaxseed: A Review of Health Benefits. *Pennington Nutrition N°5, P 4*
- **Hoet P, 2015.** Chrome et composés. EMC - Pathologie professionnelle et de l'environnement 2015;10(3):1-11.
- **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, 23.
- **Hong L et al. - Effect of Cr(VI) Exposure on Sperm Quality : Human and Animal Studies. Ann. Hyg. Oct. 2001, 45 : 505 – 511**

### I

- **IARC, 2012.** Arsenic, metals, fibres and dusts. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, vol 100. Lyon : IARC; 2012. p. 147-67.

- **INERIS, 2011.** Données technico-économiques sur les substances chimiques en France: Chrome et ses composés. Verneuil-en-Halatte : INERIS; 2011.
- **INRS, 2016.** Fiche métropol Chrome VI M-43. Paris : INRS; 2016.

### J

- **John E. King M D, 2001.** Clinique Mayo les Maladies de l'Appareil Digestif. Montréal : la voie Broquet inc.2001

### K

- **Kaithwas G, Mukerjee A, Kumar P, Majumdar D.K. 2011.** *Linum usitatissimum* (linseed/flaxseed) fixed oil: antimicrobial activity and efficacy in bovine mastitis. *InflammoPharmacology*, 19, 45-52
- **Kirk-Othmer, 1992.** - Encyclopedia of Chemical Technology, 4e éd., vol. 6. New York : John Wiley and sons ; 1992 : 263-311.
- **Ksouri R, Megdiche W, Debez A, Falleh, H, Grignon, C, Abdelly C. 2007.** Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 45, 244-249.

### L

- **Labalette F, Landé N, Wagner D, Roux-Duparque M, Saillet E. 2011.** La filière lin oléagineux française : panorama et perspectives. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 18(3), 113-122.
- **Lafond G.P, Irvine B, Johnston A.M, May W.E, Mcandrew D.W, Shirtliffe S.J, Stevenson F.C. 2008.** Impact of agronomic factors on seed yield formation and quality in flax. *Canadian Journal of Plant Science*, 88(3), 485-500.
- **Laiq Khan M, Sharif M, Sarwar Sameea M, Ameen M. 2010.** Chemical composition of different varieties of linseed. *Pakistan Veterinary Journal*, 30(2), 79-82.
- **Laissouf A, Mokhtari-Soulmane N, Merzouk H, Benhabib N. 2013.** Dietary flaxseed oil supplementation improves the Oxidant/antioxidant

status in obese aged rats. *International Journal of Medicine and Pharmaceutical Sciences*, 3, 87-94.

- **Lauwerys R, 2007.** Chrome. Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles. 5 ed. Issy-les-Moulineaux : Masson, 2007:240-260.
- **Lebham. 2005.** Thèse au laboratoire d'Ecophysiologie et de Biotechnologie des Halophytes et des Algues au sein de l'Institut Universitaire Européen de la Mer. (IVEM) (Université de Bretagne Occidentale (UBO)).
- **Lisu W, Jui-Hung Y, Hsiao-Ling L, Ming-Jiuan W. 2003.** Antioxydant effect of methanol extracts from Lotus Plumule and Blossom (*Nelumbo nucifera* Gertn). *Journal of food and drug analysis*, 11(1), 60-66
- **Lutge U, Kluge M, Bauer G. 2002.** Botanique 3ème Edition : Technique et documentation, *Lavoisier. Paris.* p211

### M

- **Macheix J.J, Fleuriet A, Jay-Allemand C. 2005.** *Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique.* Edition. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, p4-5.
- **Massaro M, Scoditti E, Carluccio M.A, De Caterina R. 2010.** Nutraceuticals and prevention of atherosclerosis: focus on omega-3 polyunsaturated and prevention of atherosclerosis: focus on omega-3 polyunsaturated fatty acids and Mediterranean diet polyphenols. *Cardiovascular therapeutics*, 28, 13-19.
- **Ma W.G, Tan R.X, Fuzzati N, Li Q.S, Wolfender J.L, Hostettmann K. 1997.** Natural occurring and synthetic polyynes glycosides. *Phytochemistry*, 45(2),411-415.
- **Middleton E, Kandaswami C, Theoharides T.C. 2000.** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol Review*, 52, 673-839.

- **Miller N.J, Sampson J, Candeias L.P, Bramley P.M, Rice-Evans C.A. 1996.** Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS letters*, 384(3), 240-242.
- **Mircoli L, Negrini M, Turri C, Protasoni G, Brusoni B, Seregini R. 2008.** *Nutrition. Metabolism. Cardiovascular. Diseases*, 18, Supplement S51-S52.

### 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.

### Q

- **Quevauvilliers J. Somogyi A, 2007.** Fingerhut A. Dictionnaire médicale de poche.
- 2<sup>ème</sup> édition. Paris : Masson ; 2007.

### R

- **Renouard S. 2011.** *Régulation transcriptionnelle de la biosynthèse des liganes du lin (linum usitatissimum et linum flavum) et amélioration de l'extraction de Lignanes.* Science du vivant, Thèse de doctorat (Université d'Orléans), p231.
- **Rombaut N. 2013.** *Etude comparative de trois procédés d'extraction d'huile : aspects qualitatifs et quantitatifs : application aux graines de lin et aux pépins de raisin*, Thèse de doctorat (Université de Technologie Compiègne), p22.

### S

- **Santeweb.** aphtes-définition. [en ligne].[consulté : juin 2020]. Disponible sur : <http://www.santeweb.ch/santeweb/maladies/khb.php>
- **Savoire R. 2008.** *Etude multi-échelles de la séparation solide-liquide dans la trituration du lin oléagineux*, Thèse de doctorat (Université de Technologie, Compiègne), p11.

- **Sultana C. 1992.** Le lin oléagineux. *Dans* : Manuel des corps gras. Karleskind A. edition., *LavoisierTechnique et documentation, Paris, France*, vol. 1, p154-157.
- **Svoboda K.P, Hapson J.B. 1999.** Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants antibacterial, antioxydant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities. Ayr(Scotland), *Plant Biology Department*.

### T

- **Thompson L.U, Rickard S.E, Orcheson L.J, Seidl M.M. 1996.** Flaxseed and its ligan and oil components reduce mammary tumor growth at a late stage of carcinogenesis. *Carcinogenesis*, 17, 1373-1379.
- **Tzang B. S, Yang S. F, Fu S. G, Yang H.C, Sun H. L, Chen Y.C. 2009.** Effects of dietary flaxseed oil on cholesterol metabolism of hamsters. *Food Chemistry*, 114, 1450- 1455.

### U

- **Urquiaga I, Leighton F. 2000.** Plant Polyphenol Antioxidants and Oxidative Stress.
- *Biological research*, 33(2), 55-64.
- **USDA. 2007.** United States Department of Agriculture. National Genetic Resources Program. Germplasm Resources Information Network—(GRIN) . 2008. National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, MD.
- Univadis. Manuel Merck de diagnostic et thérapeutique. 3<sup>ème</sup> édition. USA new jersey : White house station ; 2005.
- Disponible sur : [http://:pro.msd.france.com/secure/html/manuel-merck](http://pro.msd.france.com/secure/html/manuel-merck)

### Z

- Zhong X. et al. 2017. Mitochondrial Biogenesis in Response to Chromium (VI) Toxicity in Human Liver Cells. *International journal of molecular sciences*, 18; 9:1877.