

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République algérienne démocratique et populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
جامعة عين تموشنت بلحاج بوشعيب
Université –Ain Témouchent- Belhadj Bouchaib
Faculté des Sciences et de la Technologie
Département de Biologie



Projet de Fin d'Etudes
En vue de l'obtention du diplôme de Master en : Biochimie
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Biochimie

Thème

Recherche d'activités biologiques dans les graines de *Helianthus annuus*

Soutenu le : 17/06/2026

Présenté Par :

- 1) M. LARIKI Ayoub
- 2) M. MEZOUGH Ishak

Devant le jury composé de :

Dr. Nadjib CHERIF	M C A	UAT.B.B (Ain Témouchent)	Président
Dr. Nassima BRIXI GORMAT	M C A	UAT.B.B (Ain Témouchent)	Examinatrice
Dr. Sofiane Mourad BENYAMINA	M C B	UAT.B.B (Ain Témouchent)	Encadrant

Année Universitaire 2025/2026

Remerciements

Avant toute chose, nous adressons nos louanges et notre profonde reconnaissance à **ALLAH** Tout-Puissant, qui nous a accordé la santé, la volonté et la persévérance nécessaires pour accomplir ce travail. Sa grâce nous a guidées et soutenues tout au long de ce parcours universitaire.

Nous exprimons ensuite nos plus sincères remerciements à notre encadrant, Dr **Sofiane Mourad BENYAMINA**, pour la qualité de son encadrement, sa patience, sa disponibilité et ses précieux conseils. Grâce à son sérieux scientifique, son sens de l'écoute et ses encouragements constants, nous avons pu mener ce mémoire dans les meilleures conditions. Nous lui sommes profondément reconnaissantes pour la confiance qu'il nous a accordée ainsi que pour l'attention portée à notre travail.

Nous adressons également nos remerciements les plus respectueux aux membres du jury : Dr **Nadjib CHERIF**, qui nous a fait l'honneur de présider ce jury, ainsi que Dr **Nassima BRIXI GORMAT**, pour avoir accepté d'examiner et d'évaluer ce mémoire. Leurs remarques pertinentes, leurs conseils avisés et leur regard critique ont grandement contribué à l'amélioration de ce travail.

Mes remerciements vont également aux chefs du laboratoire pour leur accueil, leur disponibilité et les conditions de travail qu'ils ont mises à notre disposition durant la réalisation de ce projet.

Nous remercions chaleureusement l'ensemble des enseignants de l'Université d'Aïn Témouchent pour la qualité des connaissances transmises, leur accompagnement et les efforts fournis tout au long de notre formation universitaire.

Ainsi qu'à nos délégué **Fatima SETTOUTI**, pour son sens des responsabilités, son soutien constant et ses efforts tout au long de cette année universitaire. Merci pour votre aide, votre patience et votre engagement au service du groupe.

Nos pensées reconnaissantes vont également à nos familles, à nos proches et à nos promos, pour leur soutien moral, leur patience, leurs encouragements et leur confiance permanente, qui ont constitué une véritable source de motivation durant cette période.

Enfin, nous exprimons notre gratitude à toutes les personnes ayant contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce mémoire.

À toutes et à tous, nous adressons nos plus sincères remerciements.

Résumé :

Les graines de tournesol (*Helianthus annuus* L.) constituent une source importante de composés bioactifs et d'enzymes présentant un intérêt nutritionnel, biologique et industriel. Cette étude a pour objectif d'évaluer les activités antioxydantes (recherche des activités catalasiques et de piégeage du DPPH) et enzymatiques (recherche des activités amylasiques et phytasiques) d'un extrait préparé à partir des graines de tournesol. Les résultats ont mis en évidence une activité antioxydante notable de l'extrait, traduite par une capacité de dégradation du H_2O_2 atteignant 1,22mM/mg de protéines après 90s d'incubation ainsi qu'un pouvoir de piégeage du DPPH avec un IC_{50} de 0,3055mg/mL. Sur le plan enzymatique, l'extrait présente une activité amylasique importante, caractérisée par une hydrolyse d'environ 19,40 μ g d'amidon/mg de protéines dans des conditions optimales de 30°C et à pH compris entre 7 et 9. L'activité phytasique a également été mise en évidence par une libération de phosphore inorganique estimée à 0,16 μ g/mg de protéines, avec une activité optimale observée à 40°C et à pH 5. Les amylases ont montré une meilleure stabilité dans différentes conditions expérimentales, contrairement aux phytases qui se sont révélées plus sensibles aux variations thermiques et acides.

Mots-clés : graines de tournesol, *Helianthus annuus*, activité antioxydante, activités catalasiques, piégeage du DPPH, activités amylasiques, activités phytasiques.

Abstract:

Sunflower seeds (*Helianthus annuus* L.) constitute a significant source of bioactive compounds and enzymes of nutritional, biological, and industrial interest. This study aims to evaluate the antioxidant activities (specifically catalase activity and DPPH scavenging) and enzymatic activities (specifically amylase and phytase activities) of an extract prepared from sunflower seeds. The results revealed notable antioxidant activity in the extract, evidenced by an H_2O_2 degradation capacity reaching 1.22mM/mg of protein after 90s of incubation, as well as DPPH scavenging potential with an IC_{50} of 0.3055mg/mL. In terms of enzymatic activity, the extract exhibited significant amylase activity, characterized by the hydrolysis of approximately 19.40 μ g of starch per mg of protein under optimal conditions of 30°C and a pH range of 7 to 9. Phytase activity was also demonstrated through the release of inorganic phosphorus, estimated at 0.16 μ g/mg of protein, with optimal activity observed at 40°C and pH 5. The amylases demonstrated greater stability across various experimental conditions, in contrast to the phytases, which proved to be more sensitive to variations in temperature and acidity.

Keywords: Sunflower seeds, *Helianthus annuus*, Antioxidant activity, Catalase activity, DPPH free radical scavenging, Amylase activity, Phytase activity.

الملخص:

تُعدّ بذور دَوّار الشمس (*Helianthus annuus* L.) مصدرًا مهمًا للمركبات النشطة بيولوجيًا والإنزيمات ذات الأهمية الغذائية والبيولوجية والصناعية. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم الأنشطة المضادة للأكسدة (البحث عن نشاط الكاتالاز ونشاط اصطياد الجذر الحر DPPH) والأنشطة الإنزيمية (البحث عن نشاطي الأميلاز والفييتاز) لمستخلص مُحضّر من بذور دَوّار الشمس. أظهرت النتائج نشاطًا مضادًا للأكسدة ملحوظًا للمستخلص، تتمثل في قدرة على تفكيك فوق أكسيد الهيدروجين (H_2O_2) بلغت 1.22 ملليمول/ملغ بروتين بعد 90 ثانية من الحضانة، إضافة إلى قدرة على اصطياد جذر DPPH الحر بقيمة IC_{50} تساوي 0.3055 ملغ/مل. وعلى المستوى الإنزيمي، أظهر المستخلص نشاطًا أميلازيًا مهمًا، تميّز بتحلّل يقارب 19.40 ميكروغرام من النشاء/ملغ بروتين ضمن ظروف مثلى عند 30°م ودرجة حموضة تتراوح بين 7 و9. كما تم إثبات النشاط الفييتازي من خلال تحرير فوسفور غير عضوي مقدّر بـ 0.16 ميكروغرام/ملغ بروتين، مع تسجيل نشاط أمثل عند 40°م ودرجة حموضة 5. وقد أظهرت إنزيمات الأميلاز ثباتًا أفضل تحت مختلف الظروف التجريبية، على عكس إنزيمات الفييتاز التي بدت أكثر حساسية للتغيرات الحرارية والحامضية.

الكلمات المفتاحية: بذور عباد الشمس، *Helianthus annuus*، النشاط المضاد للأكسدة، نشاط الكاتالاز، إزالة جذور DPPH الحرة، نشاط الأميليز، نشاط الفييتاز.

Sommaire

<i>Liste des abréviations</i>	I
<i>Liste des figures</i>	III
<i>Liste des tableaux</i>	V
<i>Introduction générale</i>	1
<i>Synthèse bibliographique</i>	2
1. Les activités biologiques	3
1.1. Les activités antioxydantes	3
1.1.1. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO)	3
1.1.2. Les mécanismes de défense antioxydante	4
1.1.3. Les systèmes de défense antioxydante	5
1.1.4. L'importance des activités antioxydants au niveau cellulaire et industriel	7
1.2. Les activités enzymatiques	8
1.2.1. Le mécanisme d'action des enzymes	8
1.2.2. La classification des enzymes	10
1.2.3. L'importance des activités enzymatiques au niveau cellulaire et industriel	11
1.3. Les autres activités biologiques	13
1.4. Les différentes sources des activités biologiques	14
1.4.1. Les sources microbiennes	14
1.4.2. Les sources animales	14
1.4.3. Les sources végétales	15
2. Présentation de la plante <i>Helianthus annuus</i> et de ses graines	15
2.1. Présentation de la plante <i>Helianthus annuus</i>	15
2.2. Présentation des graines de la plante <i>Helianthus annuus</i>	17
<i>Matériels et méthodes</i>	19
1. Matériel biologique	19
2. Préparation de la solution des graines de <i>Helianthus annuus</i>	19
3. Dosage des protéines de la solution des graines de <i>Helianthus annuus</i>	19
4. Recherche d'activités biologiques dans les graines de <i>Helianthus annuus</i>	20
4.1. Recherche d'activités antioxydantes dans les graines de <i>Helianthus annuus</i>	20
4.1.1. Recherche d'activité catalasique dans la solution des graines de <i>Helianthus annuus</i>	20

4.1.1.1.	Evaluation d'activité catalasique dans la solution des graines de <i>Helianthus annuus</i>	21
4.1.2.	Recherche des capacités de piégeage du DPPH dans l'extrait des graines de <i>Helianthus annuus</i>	21
4.1.2.1.	Evaluation des capacités de piégeage du DPPH dans la solution des graines de <i>Helianthus annuus</i>	22
4.2.	Recherche d'activités enzymatiques dans les graines de <i>Helianthus annuus</i>	23
4.2.1.	Recherche d'activités amylasiques dans la solution des graines de <i>Helianthus annuus</i>	23
4.2.2.	Recherche d'activités phytasiques dans la solution des graines de <i>Helianthus annuus</i>	24
4.2.3.	Caractérisation des activités amylasiques et phytasiques de la solution des graines de <i>Helianthus annuus</i>	25
4.2.4.	Effet de facteurs physico-chimiques sur la stabilité des amylases et phytases des graines de <i>Helianthus annuus</i>	26
	<i>Résultats et discussion</i>	27
1.	Matériel biologique	27
2.	Dosage des protéines de la solution des graines de <i>Helianthus annuus</i>	27
3.	Recherche d'activités biologiques dans les graines de <i>Helianthus annuus</i>	28
3.1.	Recherche d'activités antioxydantes dans les graines de <i>Helianthus annuus</i>	28
3.1.1.	Recherche d'activité catalasique dans la solution des graines de <i>Helianthus annuus</i>	28
3.1.1.1.	Évaluation d'activité catalasique dans la solution des graines de <i>Helianthus annuus</i>	28
3.1.2.	Recherche des capacités de piégeage du DPPH dans la solution des graines de <i>Helianthus annuus</i>	30
3.1.2.1.	Evaluation des capacités de piégeage du DPPH dans la solution des graines de <i>Helianthus annuus</i>	30
3.2.	Recherche d'activités enzymatiques dans les graines de <i>Helianthus annuus</i>	35
3.2.1.	Recherche d'activité amylasique dans la solution des graines de <i>Helianthus annuus</i>	35
3.2.2.	Recherche d'activités phytasique dans la solution des graines de <i>Helianthus annuus</i>	36

3.2.3. Caractérisation des activités amylasiques et phytasiques de la solution des graines de <i>Helianthus annuus</i>	38
3.2.4. Effet de facteurs physico-chimiques sur la stabilité des amylases et phytases des graines de <i>Helianthus annuus</i>	44
<i>Conclusion générale</i>	51
<i>Références bibliographiques</i>	53

Liste des abréviations

- % : Pourcentage
- $\approx$: Environ
- °C : Degré Celsius
- μg : Microgramme
- **AAT Bioquest** : American Assay Technologies Bioques
- **ADN** : Acide désoxyribonucléique
- **AH** : Antioxydant donneur d'hydrogène
- **ARN** : Acide ribonucléique
- **ATP** : Adénosine triphosphate
- **C₆H₁₀O₅** : Amidon
- **C₆H₁₂O₆** : Glucose
- **DO** : Densité optique
- **e⁻** : Électron
- **E_a** : Énergie d'activation
- **f** : Fonction
- **FR** : Formes radicalaires
- **g** : Gramme
- **GSH** : Glutathion réduit
- **h** : Heure
- **H⁺** : Ion hydrogène (proton)
- **H₂O** : Eau
- **HCl** : Acide chlorhydrique
- **IC₅₀** : Concentration inhibitrice 50 %
- **IP₅** : Inositol pentaphosphate
- **KH₂PO₄** : Dihydrogénophosphate de potassium
- **K_m** : Constante de Michaelis-Menten
- **M** : Molaire
- **mg** : Milligramme
- **min** : Minute
- **ml** : Millilitre
- **mM** : Millimolaire
- **n** : Nombre d'unités répétitives

- **NaCl** : Chlorure de sodium
- **NADPH** : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit
- **NaOH** : Hydroxyde de sodium
- **nm** : Nanomètre
- **NO** : Monoxyde d'azote
- **O₂** : Dioxygène
- **pH** : Potentiel hydrogène
- **Px** : Peroxydase
- **R²** : Coefficient de détermination
- **s** : Seconde
- **t** : Temps
- **UV** : Ultraviolet
- **V** : Vitesse de réaction
- **V_{max}** : Vitesse maximale

Liste des figures

Figure 1 : La balance redox et le déséquilibre redox entre les ERO et les défenses antioxydantes	4
Figure 2 : Formation du complexe enzyme–substrat au niveau du site actif	8
Figure 3 : Effet catalytique des enzymes sur la diminution de l'énergie d'activation d'une réaction chimique	9
Figure 4 : Modèles d'interaction E-S : (A) modèle clé-serrure, (B) modèle de l'ajustement induit.....	9
Figure 5 : Inflorescences de tournesol (<i>Helianthus annuus</i> L.) au stade de floraison (Atamian et al., 2016).....	16
Figure 6 : Graines de tournesol de type oléagineux (noires) et de type confiserie (striées) (Li et al., 2024).....	17
Figure 7 : Types de graines de tournesol : (A) graines avec enveloppe et (B) graines sans enveloppe (décortiquées) (Li et al., 2024).....	18
Figure 8 : Préparation des graines de <i>Helianthus annuus</i> : (A) graines entières et (B) poudre obtenue après broyage mécanique.....	19
Figure 9 : Courbe étalon de l'hémoglobine.....	27
Figure 10 : Courbe étalon de le H ₂ O ₂	28
Figure 11 : Variation de la quantité d'H ₂ O ₂ restante(A) et dégradée (B) en fonction du temps	29
Figure 12 : Courbe étalon du DPPH.....	30
Figure 13 : La quantité de DPPH restante (A) et dégradée (B) piégée en fonction de la concentration de l'échantillon	31
Figure 14 : IC ₅₀ du piégeage de DPPH par la solution des graines <i>Helianthus annuus</i>	31
Figure 15 : IC ₅₀ du piégeage de DPPH par l'acide ascorbique	32
Figure 16 : Courbe étalon de l'amidon.....	35
Figure 17 : mise en évidence d'activités amylasiques dans les graines de <i>Helianthus annuus</i>	36
Figure 18 : Courbe étalon du phosphate.....	37
Figure 19 : mise en évidence d'activités phytasiques dans les graines de <i>Helianthus annuus</i>	37
Figure 20 : Influence de la température sur les activités amylasiques (A) et phytasiques (B) des graines de <i>Helianthus annuus</i>	39
Figure 21 : Influence du pH sur les activités amylasiques (A) et phytasiques (B) des graines de <i>Helianthus annuus</i>	41

Figure 22 : Influence du NaCl sur les activités amylasiques (A) et phytasiques (B) des graines de <i>Helianthus annuus</i>	43
Figure 23 : Effet du traitement thermique sur la stabilité des amylases (A) et phytases (B) des graines de <i>Helianthus annuus</i>	45
Figure 24 : Effet du pH (HCl, NaOH) sur la stabilité des amylases (A) et phytases (B) des graines de <i>Helianthus annuus</i>	47
Figure 25 : Effet du NaCl sur la stabilité des amylases (A) et phytases (B) des graines de <i>Helianthus annuus</i>	49

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les radicaux libres générés dans les systèmes biologiques	6
Tableau 2 : Classification des principales classes enzymatiques selon IUBMB	10
Tableau 3 : Classification taxonomique de <i>Helianthus annuus</i> L.....	16
Tableau 4 : La gamme étalon pour la préparation de la courbe étalon de l'hémoglobine	20
Tableau 5 : La gamme étalon pour la préparation de la courbe étalon de le H ₂ O ₂	21
Tableau 6 : La gamme étalon du DPPH pour la préparation de la courbe étalon	22
Tableau 7 : La gamme étalon des solutions de l'amidon	23
Tableau 8 : La gamme étalon des solutions du KH ₂ PO ₄	24

Introduction générale



Les ressources naturelles d'origine végétale, animale et microbienne représentent une source importante de molécules bioactives d'intérêt nutritionnel, thérapeutique et biotechnologique (Zhou et Guo, 2012 ; El-Saadony et al., 2025 ; Rustamova et al., 2026 ; Favas et al., 2026 ; Ali et al., 2026). Grâce à leur richesse en composés biologiquement actifs, elles occupent une place essentielle dans plusieurs domaines tels que l'alimentation, la pharmacologie, la médecine et les biotechnologies (Mushtaq et al., 2018 ; Batiha et al., 2022 ; Ahmad et al., 2025). Parmi les ressources naturelles, les graines oléagineuses suscitent un intérêt croissant en raison de leur richesse en composés bioactifs et en nutriments essentiels (Guo et al., 2017 ; Mahmoudi et al., 2021 ; Sławińska et Olas, 2022).

Les graines de tournesol (*Helianthus annuus*), en particulier, constituent une source importante de lipides insaturés, de protéines, de composés phénoliques, de vitamines et de minéraux, leur conférant une valeur nutritionnelle et fonctionnelle élevée (Guo et al., 2017 ; Petraru et al., 2021 ; Özcan et al., 2024). Elles renferment également plusieurs composés impliqués dans diverses activités biologiques, notamment des activités antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires et enzymatiques (Echave et al., 2020 ; Amarowicz, 2020 ; Daud et al., 2022).

Au cours des dernières années, les activités biologiques des graines de tournesol ont fait l'objet d'un intérêt scientifique croissant en raison de leurs applications potentielles dans les domaines nutritionnel, pharmaceutique, agroalimentaire et biotechnologique (Shahidi et Ambigaipalan, 2015 ; Sadeghi et al., 2022 ; Ben-Othman et al., 2020). Parmi ces activités, les activités antioxydantes et enzymatiques occupent une place importante, car elles contribuent à la valorisation des composés bioactifs présents dans ces graines et à leur exploitation dans différentes applications industrielles et biologiques (Lemes et al., 2022 ; Cádiz-Gurrea et al., 2020).

Dans ce contexte, la problématique de ce travail s'articule autour de la compréhension des activités biologiques des graines, ainsi que des facteurs susceptibles d'influencer ces activités. L'objectif principal consiste à caractériser ces activités biologiques, en mettant l'accent sur les activités antioxydantes et enzymatiques, tout en explorant leur potentiel d'application dans différents domaines. Une attention particulière sera portée aux graines de *Helianthus annuus*, utilisées comme modèle d'étude afin d'approfondir l'analyse des activités biologiques.

Synthèse bibliographique



Les activités biologiques, telles que les activités antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires, enzymatiques et métaboliques, représentent l'ensemble des processus et mécanismes fonctionnels assurant le maintien de la vie chez les organismes vivants (Jeong et al., 2000 ; Wu et al., 2020 ; Barba-Ostria et al., 2022). Elles résultent de l'action coordonnée de nombreuses molécules bioactives, telles que les protéines, les composés phénoliques, les flavonoïdes ainsi que diverses enzymes impliquées dans les réactions métaboliques essentielles, notamment la respiration cellulaire, la synthèse de l'ATP, la dégradation des glucides, des lipides et des protéines, ainsi que les mécanismes de défense contre le stress oxydatif (Shahidi et Ambigaipalan, 2015 ; Singh et al., 2017 ; Zhang et al., 2022). Ces activités interviennent dans plusieurs fonctions physiologiques, notamment la régulation du métabolisme, la protection cellulaire contre les dommages oxydatifs affectant les lipides, les protéines et l'ADN, ainsi que l'adaptation aux conditions environnementales (Thiruvengadam et al., 2021 ; Qamer et al., 2021 ; Mercedes et al., 2023 ; Muscolo et al., 2024 ; Bouyahya et al., 2024).

Depuis l'Antiquité, les organismes vivants d'origine végétale, animale ou microbienne ont été exploités pour leurs propriétés nutritionnelles et thérapeutiques (Petrovska, 2012 ; Dabeer et al., 2022). De nombreuses civilisations, comme les civilisations égyptienne, chinoise, indienne et grecque, utilisaient déjà différentes ressources naturelles dans des préparations traditionnelles destinées à préserver la santé, améliorer certaines fonctions physiologiques et prévenir diverses affections (Bhattacharya, 2020 ; Almoselhy et al., 2025). Ces ressources étaient employées sous plusieurs formes (en extraits, poudres, huiles...), traduisant leur importance dans les pratiques médicinales et alimentaires anciennes (Ramalingum et Mahomoodally, 2014 ; Bhattacharya, 2020 ; Daud et al., 2022).

Avec le développement des connaissances scientifiques, les activités biologiques des organismes vivants ont été progressivement mieux comprises et leurs mécanismes d'action élucidés, ce qui a permis de mettre en évidence le rôle des composés bioactifs dans de nombreux domaines, favorisant ainsi leur valorisation dans les secteurs alimentaires, pharmaceutiques, médicaux et biotechnologiques (Bhattacharya, 2020 ; Daud et al., 2022 ; Zhang et al., 2022).

Enfin, parmi les activités biologiques les plus étudiées, figurent les activités antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires et enzymatiques. Une attention particulière est accordée aux activités antioxydantes et enzymatiques, qui constituent des indicateurs importants pour l'évaluation du potentiel biologique et des applications industrielles des ressources naturelles (Singh et al., 2017 ; Daud et al., 2022 ; Zhang et al., 2022).

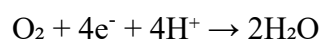
1. Les activités biologiques

1.1. Les activités antioxydantes

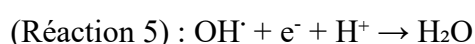
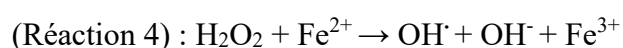
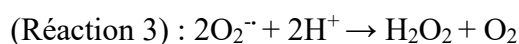
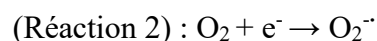
L'activité antioxydante désigne l'ensemble des mécanismes biologiques permettant de limiter ou de prévenir les dommages causés par les espèces réactives de l'oxygène (ERO), telles que les radicaux libres (RL) (Patlevič et al., 2016 ; Halliwell, 2024 ; Sikder et al., 2025). Ces espèces, ainsi que les espèces réactives de l'azote (ERN) et du soufre (ERS), sont naturellement produites lors du métabolisme cellulaire, mais leur accumulation peut entraîner un stress oxydatif, responsable de l'altération des lipides, des protéines et de l'ADN (Therond, 2006 ; Juan et al., 2021 ; Hajam et al., 2022 ; Gulcin, 2025).

1.1.1. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Au cours des processus métaboliques normaux, les organismes vivants produisent naturellement des ERO, ces molécules sont générées principalement lors des réactions d'oxydoréduction impliquées dans la respiration cellulaire (Starkov, 2008 ; Tauffenberger et Magistretti, 2021 ; Sikder et al., 2025 ; de la Lastra et al., 2026). Au niveau de la chaîne respiratoire, l'oxygène moléculaire (O_2) agit comme accepteur final d'électrons et est normalement réduit en eau (H_2O) (Schertl et Braun, 2014 ; Marreiros et al., 2016 ; Nolfi-Donagan et al., 2020), selon la réaction (1) suivante :



Cependant, une réduction incomplète de l'oxygène peut survenir, conduisant à la formation d'espèces réactives telles que l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le radical hydroxyle ($OH^{\cdot}$) (Lu et al., 2006 ; Tauffenberger et Magistretti, 2021 ; Ren et al., 2026). Cette formation se produit progressivement à travers une série de réactions successives, comme décrit par Juan et al. (2021) :



Ces espèces réactives sont produites en faibles quantités dans les conditions physiologiques normales, où une balance redox est maintenue grâce à l'équilibre entre la production des ERO et les systèmes de défense antioxydants (Marengo et al., 2016 ; Decros et al., 2019 ; Baudin, 2020). Cette balance redox joue un rôle essentiel dans le maintien de l'homéostasie cellulaire

et le bon fonctionnement des processus physiologiques (Marengo et al., 2016 ; He et al., 2017 ; Le Gal et al., 2021). Toutefois, lorsque la production des ERO devient excessive ou que les mécanismes antioxydants sont insuffisants, cet équilibre est rompu, entraînant un déséquilibre redox à l'origine du stress oxydatif (Marengo et al., 2016 ; He et al., 2017 ; Pizzino et al., 2017). Ce dernier peut provoquer des dommages cellulaires affectant les lipides, les protéines et l'ADN (Özcan et al., 2015 ; Juan et al., 2021 ; Hajam et al., 2022), comme illustré dans la Figure (1) selon Hepel et Andreescu, (2015).

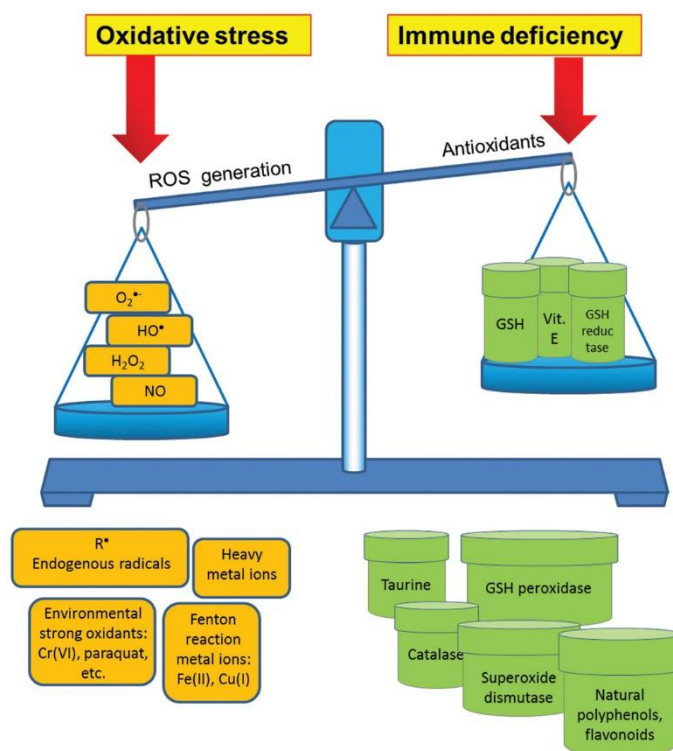


Figure 1 : La balance redox et le déséquilibre redox entre les ERO et les défenses antioxydantes

1.1.2. Les mécanismes de défense antioxydante

Les antioxydants agissent principalement selon plusieurs mécanismes (Juan et al., 2021):

- La neutralisation directe des RL par don d'électrons ou d'atomes d'hydrogène (réaction 6) : $ROO^{\bullet} + AH \rightarrow ROOH + A^{\bullet}$ (Lü et al., 2010).
- La chélation des ions métalliques impliqués dans la formation des ERO (réaction 4) : $H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow OH^{\bullet} + OH^- + Fe^{3+}$ (Csire et al., 2020 ; Gulcin, 2025).
- L'activation de systèmes enzymatiques de défense cellulaire, c'est à dire les enzymes antioxydantes catalysent l'élimination des ERO selon différentes réactions (Keilin et Hartree,

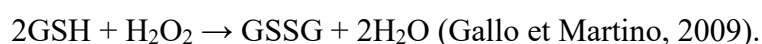
1943; Pham-Huy et al., 2008 ; Carr et Maggini, 2017). Parmi ces enzymes figurent notamment les superoxydes dismutases (SOD), qui catalysent la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène et en oxygène (réaction 3), ainsi que les catalases (CAT), responsables de la décomposition du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène (réaction 7) : $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$ (Vitolo, 2021)

1.1.3. Les systèmes de défense antioxydante

Les systèmes antioxydants sont classés en deux grandes catégories :

a. Les antioxydants enzymatiques comprennent des enzymes telles que la catalase (CAT), la superoxyde dismutase (SOD), les systèmes de glutathion (GPx) et la DT-diaphorase, qui interviennent dans la détoxification des ERO en les transformant en molécules moins réactives (Shim et Kim, 2013 ; Unsal et al., 2020 ; Gulcin, 2025). Par exemple, la réaction catalysée par la catalase (réaction 7).

b. Les antioxydants non enzymatiques regroupent des composés capables de neutraliser directement les RL, parmi eux figurent les composés phénoliques, les flavonoïdes, les vitamines, par exemple vitamine C, certains pigments végétaux ainsi que le glutathion réduit (GSH) (Ndhlala et al, 2010 ; Fouad Abdulfatah, 2023 ; Gulcin, 2025). Ce dernier constitue un antioxydant intracellulaire majeur, intervenant dans le maintien de l'équilibre redox et la détoxification des espèces réactives, notamment en tant que substrat de GPx, qui catalyse la réduction des peroxydes selon la réaction (8) suivante:



L'ensemble de ces molécules joue un rôle essentiel dans la protection des structures cellulaires contre l'oxydation.

Le piégeage des radicaux libres constitue un mécanisme clé de l'activité antioxydante, il repose sur la capacité de certaines molécules à stabiliser le piégeage des radicaux en leur cédant un électron (e^-) ou un proton (H^+), interrompant ainsi les réactions en chaîne responsables des dommages oxydatifs (Nimse et Pal, 2015). L'efficacité du piégeage dépend de la structure chimique des molécules antioxydantes et de leur capacité à stabiliser les espèces réactives formées (Ali et al., 2013 ; Charlton et al., 2023).

Afin de mieux comprendre l'origine et la diversité des espèces réactives impliquées dans le stress oxydatif, le tableau (1) présente les principaux radicaux libres générés dans les systèmes biologiques ainsi que leurs caractéristiques, selon Francenia Santos-Sánchez et al, (2019).

Tableau 1 : Les radicaux libres générés dans les systèmes biologiques

Espèces	Source	Fonction
$O_2^{\cdot -}$	Processus enzymatique, réaction d'auto-oxydation et réactions de transfert d'é non enzymatiques.	Il peut agir comme agent réducteur des complexes de fer tels que le cytochrome c ou comme agent oxydant pour oxyder l'acide ascorbique et l' α -tocophérol.
$HO_2^{\cdot}$	Protonation de $O_2^{\cdot -}$	$HO_2^{\cdot}$ initie la peroxydation des acides gras
$HO^{\cdot}$	Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) génère du radical $HO^{\cdot}$ par la réaction de Fenton catalysée par un métal.	$HO^{\cdot}$ réagit avec les molécules organiques et inorganiques (ADN, protéines, lipides et glucides).
$NO^{\cdot}$	Action de la NO-synthase utilisant l'arginine comme substrat et le NADPH comme source d'é.	Le monoxyde d'azote (NO) est un second messager intracellulaire qui stimule la guanylate cyclase et les protéines kinases et contribue à la relaxation des muscles lisses des vaisseaux sanguins.
$NO^{\cdot}_2$	Protonation de $ONOO^-$ ou fragmentation homolytique de $ONOOCO_2^-$	Ce radical agit sur le mécanisme antioxydant en diminuant les concentrations d'ascorbate et d' α -tocophérol dans le plasma.
$ONOO^{\cdot}$	Réaction de O_2 avec $NO^{\cdot}$	$ONOO^{\cdot}$ est une espèce oxydante et nitrante puissante des résidus de méthionine et de tyrosine dans les protéines et oxyde l'ADN pour former de la nitroguanine
$CO_3^{\cdot -}$	Intermédiaire de la réaction (SOD)- Cu^{2+} , $OH^{\cdot}$ réagit avec le bicarbonate pour générer $CO_3^{\cdot -}$	Le $CO_3^{\cdot -}$ oxyde les biomolécules (protéines et les acides nucléiques)

ONOOCO ₂ ⁻	Adduit peroxynitrite- CO ₂ est obtenu par réaction de ONOO ⁻ avec CO ₂ .	Cet anion favorise la nitration des fragments de tyrosine de l'oxyhémoglobine via FR
----------------------------------	---	--

1.1.4. L'importance des activités antioxydants au niveau cellulaire et industriel

Les activités antioxydantes jouent un rôle essentiel aussi bien au niveau cellulaire que dans plusieurs domaines industriels (Birben et al., 2012 ; Pisoschi et Pop, 2015 ; Kurutas, 2016 ; Jomova et al., 2024 ; Muscolo et al., 2024). Au sein des cellules, les systèmes antioxydants permettent de maintenir l'équilibre rédox en neutralisant l'excès d'ERO produites lors du métabolisme normal (Birben et al., 2012 ; He et al., 2017 ; Tauffenberger et Magistretti, 2021). Cette protection limite les dommages oxydatifs affectant les lipides membranaires, les protéines, les glucides et l'ADN, contribuant ainsi au maintien de l'intégrité cellulaire et des fonctions physiologiques normales (Therond, 2006 ; Özcan et al., 2015 ; Juan et al., 2021). Les antioxydants enzymatiques, tels que la SOD, la CAT et les Px, ainsi que les antioxydants non enzymatiques, comme les vitamines C et E, les caroténoïdes, les flavonoïdes et le glutathion, participent conjointement à la prévention du stress oxydatif et au renforcement des mécanismes de défense cellulaire (Michiels et al., 1994 ; Ighodaro et Akinloye, 2018). Une altération de cet équilibre peut conduire à diverses perturbations biologiques associées au vieillissement cellulaire et à plusieurs pathologies, telles que les maladies cardiovasculaires, les maladies neurodégénératives, le diabète, les inflammations chroniques ainsi que certains cancers (Zhazykbayeva et al., 2020 ; Rotariu et al., 2022 ; Leyane et al., 2022).

Sur le plan industriel, les activités antioxydantes présentent également un intérêt considérable, notamment dans les secteurs agroalimentaire, pharmaceutique, cosmétique et biotechnologique (Carocho, 2018 ; Gülçin, 2025 ; Paraschiv et al., 2025). Dans l'industrie alimentaire, les composés antioxydants sont utilisés afin de limiter l'oxydation des lipides, responsable de la détérioration sensorielle et de la réduction de la valeur nutritionnelle des aliments, ils contribuent ainsi à prolonger la durée de conservation des produits et à améliorer leur stabilité (Choe et Min, 2006 ; Pokorný, 2007 ; Nimse et Pal, 2015 ; Shahidi et Ambigaipalan, 2015 ; Carocho et al., 2018). Dans les domaines pharmaceutique et cosmétique, les antioxydants sont exploités pour leurs propriétés protectrices contre les dommages oxydatifs impliqués dans le vieillissement cutané et certaines affections liées au stress oxydatif (Rinnerthaler et al., 2015 ; Pullar et al., 2017 ; Pizzino et al., 2017). De plus, l'intérêt croissant pour les antioxydants naturels issus des plantes et des graines s'inscrit dans une démarche visant à remplacer les

additifs synthétiques par des alternatives biologiques plus sûres et biodégradables (Pokorný, 2007 ; Shahidi et Zhong, 2010 ; Nimse et Pal., 2015 ; Gülçin, 2025).

1.2. Les activités enzymatiques

Les enzymes sont des molécules biologiques possédant une activité catalytique, leur permettant d'accélérer les réactions chimiques aussi bien dans les systèmes vivants qu'en conditions expérimentales *in vitro*, où ces réactions se produiraient autrement à une vitesse très faible (Cooper, 2000 ; Tiwari, 2016 ; Caetano, 2023 ; Kissman et al., 2024). Synthétisés par les cellules vivantes, elles sont principalement de nature protéique, à l'exception de certains ARN catalytiques appelés ribozymes qui possèdent la capacité d'accélérer des réactions chimiques spécifiques, telles que les réactions de clivage et d'épissage de l'ARN, sans être ni modifiées ni consommées au cours de ces réactions (Tanner, 1999 ; Walter et Engelke, 2002 ; Reymond et al., 2009 ; Park et al., 2019).

1.2.1. Le mécanisme d'action des enzymes

Le mécanisme d'action des enzymes repose sur l'interaction spécifique (Figure 2) entre l'enzyme (E) et son substrat (S) au niveau d'une région particulière appelée site actif (Fischer, 1894 ; Koshland, 1958).

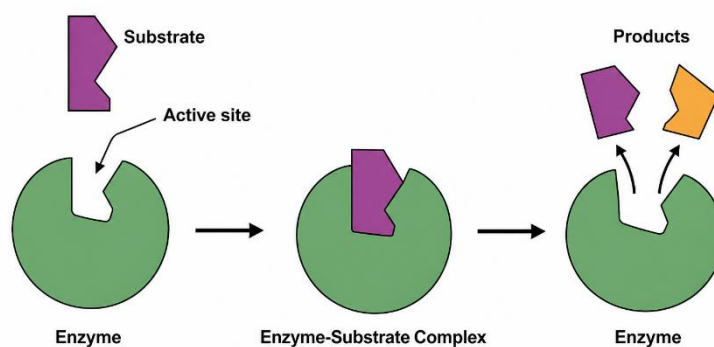


Figure 2 : Formation du complexe enzyme–substrat au niveau du site actif

La réaction débute par la fixation du S sur E, conduisant à la formation d'un complexe enzyme–substrat (ES). Ce complexe est ensuite transformé en produit (P), qui sera libéré à la fin de la réaction, tandis que l'enzyme retrouve son état initial (réaction 9). La figure (2) illustre ce mécanisme selon la réaction (9) suivante : $E + S \rightleftharpoons ES \rightarrow E + P$

L'activité catalytique des enzymes est principalement liée à leur capacité à diminuer l'énergie d'activation nécessaire au déroulement de la réaction chimique (Figure 3) :

$$E_a (\text{avec enzyme}) < E_a (\text{sans enzyme})$$

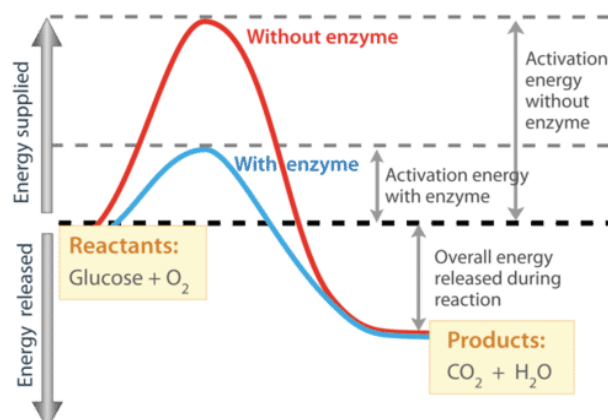


Figure 3 : Effet catalytique des enzymes sur la diminution de l'énergie d'activation d'une réaction chimique

La vitesse de la réaction enzymatique dépend également de la concentration en S et peut être décrite par l'équation de Michaelis-Menten : $v = \frac{V_{\max}[S]}{K_m + [S]}$

Deux modèles majeurs expliquent l'interaction E-S (Figure 4), selon Naik, (2016) :

- Le modèle « clé-serrure »**, proposé par Fischer en 1894, suppose une complémentarité parfaite entre le S et le site actif de E (Figure 4-A).
- Le modèle de l'ajustement induit**, proposé par Koshland en 1958, suggère quant à lui que le site actif subit des modifications conformationnelles lors de la fixation du S afin d'optimiser l'interaction enzymatique (Figure 4-B).

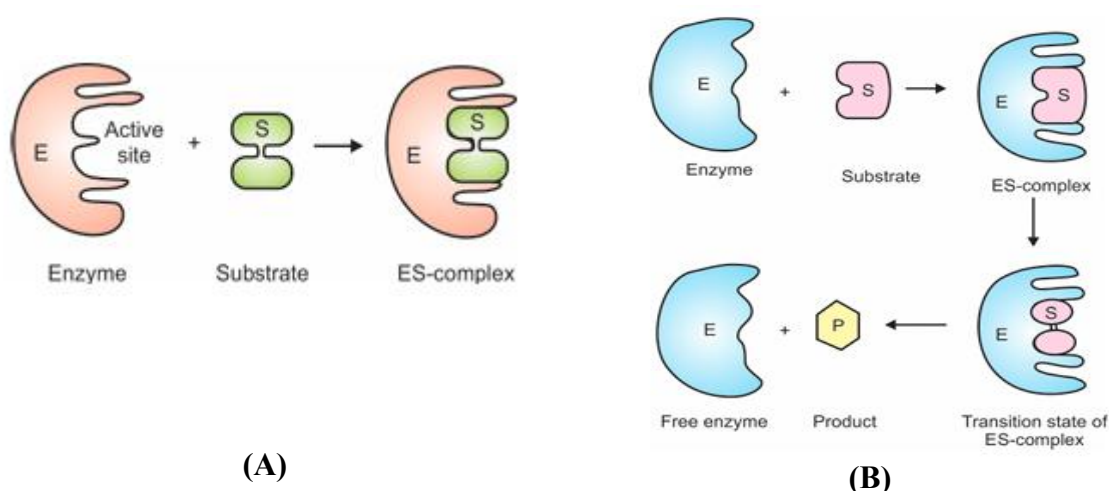


Figure 4 : Modèles d'interaction E-S : (A) modèle clé-serrure, (B) modèle de l'ajustement induit

1.2.2. La classification des enzymes

La classification des enzymes a été établie en 1961 par la commission des enzymes de l'International Union of Biochemistry and Molecular Biology (IUBMB). Selon cette classification, chaque enzyme est identifiée par un code numérique appelé numéro EC (Enzyme Commission), composé de 04 chiffres correspondant au type de réaction catalysée (Tableau 2). Initialement, les enzymes étaient réparties en 6 grandes classes et par la suite, une 7^{ème} classe, les translocases (EC 7), a été introduite par l'IUBMB en 2018 afin de regrouper les enzymes impliquées dans le transport d'ions ou de molécules à travers les membranes biologiques (Tableau 2).

Tableau 2 : Classification des principales classes enzymatiques selon IUBMB

Classe enzymatique	Code EC	Fonction principale	Exemples d'enzymes	Références
Oxydoréductases	EC 1	Catalysent les réactions d'oxydoréduction	Catalase, peroxydase, déshydrogénase	Chelikani et al., 2004
Transférases	EC 2	Transfèrent des groupements fonctionnels d'une molécule à une autre	Kinase, transaminase	MEHTA et al., 1993
Hydrolases	EC 3	Catalysent l'hydrolyse des liaisons chimiques	Amylase, lipase, phytase, protéase	Dodson, 1998
Lyases	EC 4	Catalysent la rupture ou la formation de liaisons sans hydrolyse	Décarboxylase, aldolase	Marsh et Lebherz, 1992
Isomérases	EC 5	Catalysent les réarrangements intramoléculaires	Racémase, mutase	Toney, 2005
Ligases	EC 6	Catalysent l'union de deux molécules avec consommation d'ATP	ADN ligase, synthétase	Ibba et Söll, 2000
Translocases	EC 7	Catalysent le transport d'ions ou de molécules à travers les membranes biologiques	ATP synthase, pompe Na ⁺ /K ⁺ ATPase	Boyer, 1997

A noter que les différentes activités enzymatiques peuvent être influencées par plusieurs facteurs physicochimiques, notamment la température, le pH et la salinité du milieu réactionnel (Hu et al., 2015 ; Ding et al., 2022 ; Salazar-Alekseyeva et al., 2024).

1.2.3. L'importance des activités enzymatiques au niveau cellulaire et industriel

Les activités enzymatiques jouent un rôle fondamental aussi bien au niveau cellulaire que dans de nombreux secteurs industriels (Singh et al., 2016 ; Chapman et al., 2018). Au niveau cellulaire, les enzymes assurent la catalyse des réactions biochimiques indispensables au fonctionnement des organismes vivants, elles interviennent dans la majorité des voies métaboliques, notamment dans les processus de digestion, de production d'énergie, de biosynthèse des macromolécules, etc. (Kirk et al., 2002 ; Bar-Even et al., 2011). Grâce à leur grande spécificité et à leur forte efficacité catalytique, les enzymes permettent le déroulement rapide des réactions biologiques dans des conditions physiologiques compatibles avec la vie (Warshel et al., 2006 ; Bar-Even et al., 2011).

Au niveau industriel, grâce à leurs activités catalytiques, les enzymes présentent également un intérêt majeur dans les applications industrielles et leur capacité à agir dans des conditions modérées de température, de pH et de salinité permet de réduire la consommation énergétique ainsi que l'utilisation de substances chimiques nocives, contribuant ainsi au développement de procédés plus économiques et écologiques (Jegannathan et Nielsen, 2013 ; Littlechild, 2015 ; Singh et al., 2016 ; Chapman et al., 2018). De plus, l'utilisation des enzymes favorise l'amélioration des rendements de production, ce qui va leur permettre de s'inscrire dans le cadre des biotechnologies durables et des procédés verts (Kirk et al., 2002 ; Jegannathan et Nielsen, 2013 ; Singh et al., 2016 ; Chapman et al., 2018).

Parmi les différentes classes enzymatiques, les hydrolases (EC 3) représentent la classe d'enzymes la plus largement exploitée dans les procédés industriels, occupant ~ 75% du marché mondial des enzymes industrielles (Li et al., 2012 ; de Souza et al., 2015 ; Shukla et al., 2022). Les hydrolases regroupent plusieurs enzymes capables de catalyser l'hydrolyse de divers substrats biologiques, telles que les amylases (hydrolyse de l'amidon), les phytases (hydrolyse de l'acide phytique), les lipases (hydrolyse des lipides) et les protéases (hydrolyse des protéines) (Konietzny et Greiner, 2002 ; Sandberg et Andlid, 2002 ; Vats et Banerjee, 2004).

Selon Li et al. (2012), parmi les enzymes appartenant à cette classe (EC 3), les carbohydrases, notamment les amylases, les cellulases, les pectinases et les xylanases qui dominent le marché mondial avec près de 50%, suivies des protéases (25-30%) et des lipases (<10%), en raison de leurs nombreuses applications dans les secteurs agroalimentaire, des détergents,

pharmaceutique et biotechnologique (Kirk et al., 2002 ; Li et al., 2012 ; Guerrand, 2017 ; Chaudhary et al., 2026).

Aussi à savoir, les amylases et les phytases présentent un intérêt particulier en raison de leur importance biologique et industrielle (Vohra et Satyanarayana, 2003 ; de Souza et de Oliveira Magalhães, 2010 ; Mehta et Satyanarayana, 2016 ; Joudaki et al., 2023). Les amylases permettent l'hydrolyse des liaisons glycosidiques de l'amidon pour produire des sucres plus simples tels que le maltose, le glucose et les dextrines, ce qui permet leurs utilisations dans les industries alimentaires, brassicoles, textiles, papetières ainsi que dans la formulation des détergents (Pandey et al., 2000 ; Gupta et al., 2003 ; de Souza et de Oliveira Magalhães, 2010). Les phytases, quant à elles, catalysent l'hydrolyse progressive de l'acide phytique (myo-inositol hexakisphosphate, IP6), principal composé de stockage du phosphore dans les graines et les céréales, libérant ainsi du phosphore inorganique assimilable (Reddy et al., 1982 ; Konietzny et Greiner, 2002). Les phytases jouent un rôle essentiel dans l'amélioration de la biodisponibilité des minéraux tels que le fer (Fe), le zinc (Zn), le calcium (Ca) et le magnésium (Mg), tout en réduisant l'effet antinutritionnel des phytates (Konietzny et Greiner, 2002 ; Vats et Banerjee, 2004) ce qui permet de les utiliser dans l'alimentation animale, les biotechnologies alimentaires et les procédés visant à valoriser les matières végétales riches en phytates (Lei et Porres, 2003 ; Handa et al., 2020).

Dans les industries agroalimentaires, les enzymes sont utilisées pour la transformation des aliments, l'amélioration de la digestibilité et la valorisation des matières premières végétales (Kirk et al., 2002 ; Chapman et al., 2018 ; Raveendran et al., 2018 ; Vinicius De Melo Pereira et al., 2019). Par exemple, les amylases interviennent dans l'hydrolyse de l'amidon lors de la fabrication du pain, des sirops glucosés et des boissons fermentées, tandis que les protéases sont utilisées dans l'attendrissement des viandes, la fabrication des fromages et l'hydrolyse des protéines alimentaires (Rao et al., 1998 ; Gupta et al., 2003 ; de Souza et Magalhães, 2010). Les lipases participent également à la modification des corps gras et au développement des arômes alimentaires (Sharma et al., 2001 ; Jaeger et Eggert, 2002 ; Hasan et al., 2006 ; Treichel et al., 2009).

Les enzymes occupent également une place importante dans les secteurs pharmaceutique et biotechnologique, où elles sont utilisées dans la synthèse de molécules d'intérêt thérapeutique, les procédés de bioconversion, la production de biomolécules ainsi que dans les systèmes de diagnostic biologique et les biosenseurs enzymatiques (Vellard, 2003 ; Grieshaber et al., 2008 ; Turner, 2013 ; Chapman et al., 2015).

Par ailleurs, les enzymes d'origine végétale, particulièrement celles extraites des graines, suscitent un intérêt croissant en raison de leur disponibilité naturelle, de leur diversité biochimique et de leurs nombreuses activités biologiques (Barros et al., 2010 ; Verma et al., 2022 ; Swain et al., 2025). Parmi ces enzymes, les amylases et les phytases présentent des applications importantes dans l'alimentation animale, la production de biofertilisants, la réduction des composés antinutritionnels ainsi que dans la transformation des substrats riches en amidon et en phytates (Kalsi et al., 2016 ; Nezhad et al., 2020 ; Valente Junior et al., 2024).

1.3. Les autres activités biologiques

Outre les activités antioxydantes et enzymatiques, de nombreuses substances bioactives présentent également diverses propriétés biologiques d'intérêt, notamment des activités antimicrobiennes et anti-inflammatoires (Cowan, 1999 ; Yahfoufi et al., 2018).

Les activités antimicrobiennes de ces substances bioactives, reposent principalement sur leur capacité à inhiber la croissance des microorganismes pathogènes par altération des membranes cellulaires, inhibition enzymatique ou perturbation de certains mécanismes métaboliques (Sieniawska et Georgiev, 2021 ; Álvarez-Martínez et al., 2021 ; Davidova et al., 2024). Tandis que les effets anti-inflammatoires de ces substances bioactives sont liés à la modulation des médiateurs pro-inflammatoires et à l'inhibition de certaines voies impliquées dans la réponse inflammatoire (Chen et al., 2018 ; Yahfoufi et al., 2018).

Ces activités sont principalement attribuées à la présence de composés bioactifs tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les terpènes, les alcaloïdes et certains peptides biologiquement actifs, capables d'interagir avec différents mécanismes cellulaires et métaboliques (Mutha et al., 2021 ; Chen et al., 2023 ; El-Saadony et al., 2024 ; El-Saadony et al., 2025). Grâce à leurs propriétés biologiques variées, ces composés suscitent un intérêt croissant dans les domaines agroalimentaire, pharmaceutique, biomédical et biotechnologique, notamment pour la prévention du stress oxydatif, la lutte contre les micro-organismes pathogènes et la modulation des réactions inflammatoires (Chagas et al., 2022 ; Mitropoulou et al., 2023 ; Matin et al., 2024).

1.4. Les différentes sources des activités biologiques

Comme les activités biologiques suscitent un intérêt croissant en raison de leurs applications dans les domaines agroalimentaires, pharmaceutiques, biomédicaux et biotechnologiques, différentes sources naturelles (microbiennes, animales et végétales), permettent de les récupérer en raison de la présence de nombreux composés bioactifs possédant diverses activités biologiques (Zhou et Guo, 2012 ; El-Saadony et al., 2025 ; Rustamova et al., 2026 ; Favas et al., 2026 ; Ali et al., 2026).

1.4.1. Les sources microbiennes

Les sources microbiennes incluent les bactéries, les levures et les champignons microscopiques, et ces microorganismes produisent divers métabolites secondaires, enzymes, antibiotiques et peptides antimicrobiens présentant un intérêt important dans les domaines pharmaceutique, industriel et biotechnologique (Merino et al., 2019 ; Rustamova et al., 2026). Ces composés sont associés à plusieurs activités biologiques, notamment des activités antimicrobiennes, antioxydantes, anti-inflammatoires, anticancéreuses et enzymatiques, grâce à leur capacité à interagir avec différents mécanismes cellulaires et métaboliques (Chandra et al., 2020 ; Rani et al., 2021 ; Alanazi et al., 2025 ; Soliman et al., 2026).

Par exemple, certaines espèces du genre *Streptomyces* sont connues pour leur capacité à produire des antibiotiques et plusieurs métabolites bioactifs présentant des activités antibactériennes, antifongiques, antitumorales, anthelminthiques, insecticides et cytotoxiques d'intérêt pharmaceutique et biotechnologique (Salwan et Sharma, 2020 ; Alam et al., 2022 ; Elsalam et al., 2022).

1.4.2. Les sources animales

Les sources animales regroupent plusieurs composés biologiquement actifs provenant notamment du lait, des œufs, des produits marins et de certains tissus animaux, et ces sources renferment des protéines, des peptides bioactifs, des enzymes et des lipides capables d'exercer des activités antioxydantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires (Bhat et al., 2015 ; Albenzio et al., 2017 ; López-García et al., 2022).

À titre d'exemple, les peptides bioactifs du lait présentent diverses activités biologiques d'intérêt nutritionnel et thérapeutique, notamment des activités antimicrobiennes, immunomodulatrices, antioxydantes, antihypertensives, antithrombotiques et antagonistes (Mohanty et al., 2016).

1.4.3. Les sources végétales

Les sources végétales représentent l'une des principales origines des activités biologiques, elles comprennent les graines, les céréales, les légumineuses, les fruits, les légumes, les algues ainsi que les plantes médicinales (Muñoz et al., 2017 ; Benincasa et al., 2019). Ces sources végétales sont riches en composés phénoliques, flavonoïdes, caroténoïdes, vitamines, acides gras insaturés et enzymes contribuant à différentes activités biologiques, notamment des activités antioxydantes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes, antithrombotiques, cardioprotectrices, vasodilatatrices et immunomodulatrices (Samtiya et al., 2021 ; Abeyrathne et al., 2022 ; El-Saadony et al., 2025).

Parmi ces ressources végétales, les graines de tournesol (*Helianthus annuus* L.) suscitent un intérêt croissant en raison de leur richesse en composés bioactifs, notamment les acides gras insaturés, les composés phénoliques, les tocophérols et certains minéraux essentiels, leur conférant diverses activités biologiques telles que des activités antioxydantes, enzymatiques, antimicrobiennes et anti-inflammatoires (Karamać et al., 2012 ; Guo et al., 2017 ; Alexandrino et al., 2021 ; Özcan et al., 2024).

En plus de leur valeur nutritionnelle, les graines de tournesol renferment également diverses enzymes endogènes impliquées dans les mécanismes de germination et de mobilisation des réserves, ce qui leur confère un intérêt particulier dans les domaines agroalimentaire, biotechnologique et industriel (Agostini et Ida, 2006 ; Guo et al., 2017).

2. Présentation de la plante *Helianthus annuus* et de ses graines

2.1. Présentation de la plante *Helianthus annuus*

Après avoir présenté les activités biologiques et l'intérêt des composés naturels des graines de manière générale, il est pertinent d'introduire la plante étudiée, à savoir le tournesol (*Helianthus annuus* L.), ainsi que les caractéristiques de ses graines. La classification botanique de l'espèce est résumée dans le Tableau (3), tandis que la morphologie générale de la plante ainsi que les différents types de graines de tournesol sont illustrées respectivement dans les Figures (5) et (6).

Le tournesol (*Helianthus annuus* L.) appartient à la famille des Astéracées (Skoric, 2009 ; Seiler et al., 2017 ; Hussain et al., 2018) et au genre *Helianthus*, regroupant plusieurs espèces de plantes oléagineuses et ornementales, elle a été décrite pour la première fois par Carl Linnaeus en 1753 dans l'ouvrage *Species Plantarum* et appartient (Chase et al., 2016 ; Li et al., 2021) (Tableau 3). Le nom « tournesol » fait référence à la tendance des jeunes inflorescences à

s'orienter vers la lumière solaire, phénomène connu sous le nom d'héliotropisme (Atamian et al., 2016 ; Barrett, 2021). Originnaire d'Amérique du Nord, cette plante oléagineuse est aujourd'hui largement cultivée dans de nombreuses régions du monde, notamment dans les zones tempérées et semi-arides d'Europe, d'Asie, d'Afrique du Nord et d'Amérique du Sud (Cantúa-Ayala et al., 2025).

Tableau 3 : Classification taxonomique de *Helianthus annuus* L.

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae
Genre	<i>Helianthus</i>
Espèce	<i>annuus</i>

Le tournesol est une plante herbacée annuelle caractérisée par une tige dressée, robuste et pubescente pouvant atteindre plusieurs mètres de hauteur, et ses feuilles sont larges, alternes, pétiolées et généralement cordiformes (Pal, 2011) (Figure 5). L'inflorescence est constituée d'un capitule de grande taille composé de fleurs ligulées périphériques jaunes et de fleurs tubuleuses centrales fertiles (Çetinbaş-Genç et Ünal, 2012 ; Sharma et Bhatla, 2013 ; Elomaa et al., 2018). Le fruit renferme une seule graine riche en substances de réserve (Tostain et al., 2012).



Figure 5 : Inflorescences de tournesol (*Helianthus annuus* L.) au stade de floraison (Atamian et al., 2016)

Cette plante permet la production d'huile alimentaire ainsi que de tourteaux (coproduits solides riches en protéines obtenus après extraction de l'huile des graines), destinés à l'alimentation animale, mais également à diverses applications industrielles et pharmaceutiques (Evrard, 2005 ; Radanović et al., 2018 ; Castro et Leite, 2018 ; Murru et Calvo, 2020 ; Giannini et al., 2022). Le tournesol se distingue également par sa grande capacité d'adaptation aux conditions climatiques variées ainsi que par la valeur nutritionnelle élevée de ses graines (Mehrabi et al., 2019 ; Debaeke et al., 2021). Cette espèce peut se développer dans différents types de sols, bien qu'elle préfère les sols fertiles, profonds et bien drainés (Puttha et al., 2023). Par ailleurs, sa croissance et sa production en graines sont favorisées par un bon ensoleillement et des températures modérées (Chimenti et al., 2001 ; Ferreira et Abreu, 2001 ; Hewezi et al., 2008).

2.2. Présentation des graines de la plante *Helianthus annuus*

Les graines de *Helianthus annuus* L. (Figure 6) sont de forme allongées, ovales et entourées d'une enveloppe externe appelée tégument ; leur coloration varie généralement du noir au gris rayé de blanc selon les variétés (Pal, 2011 ; Nabloussi et El Fechtali, 2018 ; Singh et al., 2022). Elles représentent une source importante de nutriments essentiels et de composés bioactifs, ainsi qu'elles renferment principalement des lipides, notamment des acides gras insaturés tels que l'acide oléique et l'acide linoléique, reconnus pour leurs effets bénéfiques sur la santé cardiovasculaire (Skoric, 2009 ; Nandha et al., 2014 ; Guo et al., 2017 ; Özcan et al., 2024). Les graines contiennent également des protéines, des glucides, des fibres alimentaires, des vitamines, particulièrement la vitamine E, ainsi que plusieurs minéraux tels que le phosphore (P), le magnésium (Mg), le potassium (K) et le fer (Fe) (Guo et al., 2017 ; Richards, 2023).



Figure 6 : Graines de tournesol de type oléagineux (noires) et de type confiserie (striées) (Li et al., 2024)

En plus des graines de tournesol peuvent être les Figure 6 et Figure 7-A, montrent des graines de tournesol en présence de l'enveloppe externe. La Figure 7-B montre ces mêmes graines en absence de l'enveloppe externe. Dans notre étude, les travaux ont été réalisées sur des graines sans enveloppe (décortiquées).



Figure 7 : Types de graines de tournesol : (A) graines avec enveloppe et (B) graines sans enveloppe (décortiquées) (Li et al., 2024)

Les graines de tournesol constituent également une source importante de protéines de réserve présentant une valeur nutritionnelle élevée, et ces protéines jouent un rôle essentiel lors de la germination et représentent une source potentielle d'acides aminés destinés à l'alimentation humaine et animale (Shewry et al., 1995 ; Sathe, 2002 ; González-Pérez et Vereijken, 2007 ; Day, 2013 ; Malaguti et al., 2014). Outre leur valeur nutritionnelle, les graines possèdent un intérêt biologique considérable grâce à la présence de composés phénoliques, de flavonoïdes, de tocophérols et d'autres molécules antioxydantes capables de limiter les effets du stress oxydatif (Karamać et al., 2012 ; Guo et al., 2017). Plusieurs études ont également mis en évidence diverses activités biologiques associées aux extraits de graines de tournesol, notamment des activités antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires et hypolipémiantes (Guo et al., 2017 ; Liu et al., 2020).

Par ailleurs, les graines renferment diverses enzymes endogènes impliquées dans les processus métaboliques et physiologiques de la germination, parmi lesquelles figurent notamment les phytases, les amylases, les protéases et les lipases. Ces enzymes jouent un rôle essentiel dans la mobilisation des réserves nutritives de la graine (Bewley, 1997 ; Agostini et Ida, 2006 ; Nonogaki et al., 2010 ; Gupta et al., 2013). En raison de leurs activités catalytiques et de leurs applications potentielles dans les domaines agroalimentaire, biotechnologique et industriel, ces enzymes suscitent un intérêt scientifique croissant (Guerrand, 2017 ; Özacar et al., 2019).

Matériels et méthodes



L'étude présentée dans ce manuscrit a été réalisée au sein du Laboratoire de Biochimie de l'Université Belhadj Bouchaib d'Aïn Témouchent, au cours du second semestre du Master2 de l'année universitaire 2025/2026. Elle s'inscrit dans une démarche de recherche visant à caractériser et évaluer les activités biologiques des graines de *Helianthus annuus* (Tournesol).

1. Matériel biologique

Les graines de *Helianthus annuus* (Figure 8-A) ont été acquises auprès d'un commerce local de la ville d'Aïn Témouchent. Elles ont ensuite été soumises à un broyage mécanique, permettant leur transformation en une poudre homogène destinée aux analyses expérimentales (Figure 8-B).



Figure 8 : Préparation des graines de *Helianthus annuus* : (A) graines entières et (B) poudre obtenue après broyage mécanique

2. Préparation de la solution des graines de *Helianthus annuus*

Les graines de *Helianthus annuus* ont été broyées afin d'obtenir une poudre homogène. Une masse de 10g a été dissoute dans 50mL d'eau distillée, ce qui correspond à une concentration de 200mg/mL. La solution a été soumise à une agitation pendant 1h30 à température ambiante. Après agitation, la solution a été centrifugée à 6000 tours/minute pendant 5min. Le surnageant obtenu a servi d'extrait brut pour les analyses biologiques. Ensuite, la concentration en protéines a été évaluée selon la méthode de Bradford (1976). À cet effet, un mélange constitué de l'extrait et du réactif de Bradford a été préparé, parallèlement à un blanc réalisé avec de l'eau distillée et le même réactif.

3. Dosage des protéines de la solution des graines de *Helianthus annuus*

La méthode de Bradford est largement utilisée en raison de sa simplicité, de sa rapidité et de sa sensibilité. Elle repose sur la fixation du colorant Coomassie Brilliant Blue (CBB) G-

250 aux protéines, entraînant un déplacement de son spectre d'absorption et une augmentation de la DO mesurée à 595nm (Bradford, 1976).

Dans notre étude, on utilise l'hémoglobine (Hb) comme protéine de référence pour établir une courbe d'étalonnage, cette courbe permet de relier la DO mesurée à la concentration en protéines.

❖ Préparation de la gamme étalon de l'hémoglobine

Une solution mère de l'hémoglobine a été préparée à une concentration de 1mg/ml. À partir de cette solution, une gamme d'étalons a été préparée avec les concentrations suivantes : 0,05 ; 0,10 ; 0,25 ; 0,5 et 1mg/ml. Ensuite, 0,8mL de chaque solution protéique a été mélangée avec 0,2mL de réactif de Bradford. Les mélanges ont été incubés pendant 5min, à température ambiante, dans l'obscurité afin de permettre le développement du complexe coloré.

La DO a ensuite été mesurée à 595nm. Les valeurs obtenues ont permis de tracer la courbe d'étalonnage représentant la relation entre l'absorbance à 595nm et la concentration en protéines.

Tableau 4 : La gamme étalon pour la préparation de la courbe étalon de l'hémoglobine

[Hémoglobine] (mg/mL)	0	0,05	0,1	0,25	0,5	1
Volume de l'hémoglobine (1mg/mL) (mL)	0	0,05	0,1	0,25	0,5	1
Eau distillée (mL)	1	0,95	0,9	0,75	0,5	0

4. Recherche d'activités biologiques dans les graines de *Helianthus annuus*

4.1. Recherche d'activités antioxydantes dans les graines de *Helianthus annuus*

4.1.1. Recherche d'activité catalasique dans la solution des graines de *Helianthus annuus*

❖ Préparation de la courbe étalon de le H₂O₂

Le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) est un oxydant important en biochimie, produit notamment au cours du métabolisme cellulaire (Fridovich, 1998). En raison de sa toxicité potentielle, les organismes vivants possèdent des enzymes, comme la catalase, capables de le dégrader rapidement en H₂O et en O₂ (Chelikani et al., 2004).

Une gamme étalon de H₂O₂ a été préparée aux concentrations de 0 ; 0,1 ; 0,5 ; 1 ; 5 et 10mM (Tableau 6). Les solutions obtenues ont été transférées dans des cuves en quartz et analysées par spectrophotométrie UV.

Les mesures d'absorbance ont été réalisées à 240nm contre un blanc constitué d'eau distillée. Les données recueillies ont permis de tracer la courbe d'étalonnage reliant la densité optique à la concentration en H₂O₂ conformément à la réaction 7 présentée dans la section « Synthèse bibliographique ».

Tableau 5 : La gamme étalon pour la préparation de la courbe étalon de le H₂O₂

[H ₂ O ₂] (mM)	0	0,1	0,5	1	5	10
Solution mère d'H ₂ O ₂ a 10mM (mL)	0	0,02	0,1	0,2	1	2
Eau distillée (mL)	2	1,98	1,9	1,8	1	0

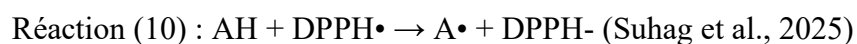
4.1.1.1. Evaluation d'activité catalasique dans la solution des graines de *Helianthus annuus*

Pour évaluer l'activité catalasique des graines de *Helianthus annuus*, un milieu réactionnel a été constitué de 0,5mL solution d'H₂O₂ à 10mM, de 0,5mL de tampon phosphate (pH 7, 0,1M) et de 0,5mL de la solution des graines à. Après homogénéisation, l'évolution de la réaction a été suivie par spectrophotométrie UV, en mesurant immédiatement l'absorbance à 240nm contre un blanc approprié. Les résultats obtenus permettent d'évaluer l'activité catalytique en fonction de la dégradation du substrat.

4.1.2. Recherche des capacités de piégeage du DPPH dans l'extrait des graines de *Helianthus annuus*

Le test au DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) constitue une méthode de référence, simple et largement utilisée pour l'évaluation du pouvoir antioxydant des échantillons (Blois, 1958).

Le radical (DPPH) libre stable, de couleur violette, présente une absorbance caractéristique à 517nm (Brand-Williams et al., 1995). Lorsqu'un extrait ou une molécule antioxydante est mis en présence du DPPH, une réaction de réduction se produit (réaction 10), entraînant une diminution progressive de l'intensité colorée. Cette variation, mesurable par spectrophotométrie, reflète la capacité de l'échantillon à neutraliser le radical (Kedare et Singh, 2011).



La méthode est particulièrement appréciée pour sa simplicité, sa rapidité et sa reproductibilité. Elle permet de comparer efficacement l'activité antioxydante de différents échantillons à partir de la diminution de l'absorbance enregistrée (Huang et al., 2005)

❖ **Préparation de la gamme étalon de DPPH**

Pour déterminer la quantité du DPPH piégée, une gamme étalon a été préparée à partir d'une solution mère de DPPH à 0,1mM, des dilutions successives ont été réalisées dans l'éthanol afin d'obtenir différentes concentrations de (0,0125 ; 0,025 ; 0,05 et 0,1mM). Chaque solution a été soigneusement homogénéisée afin d'assurer une répartition uniforme du radical. Les mesures spectrophotométriques ont ensuite été effectuées à 517nm, permettant de relier l'absorbance enregistrée à la concentration en DPPH. Cette approche fournit la courbe d'étalonnage nécessaire pour l'évaluation de l'activité antioxydante des échantillons.

Tableau 6 : La gamme étalon du DPPH pour la préparation de la courbe étalon

[DPPH] (mM)	0	0,0125	0,025	0,05	0,1
Solution mère du DPPH a 0,1mM (mL)	0	0,125	0,25	0,5	1
Ethanol (mL)	1	0,875	0,75	0,5	0

4.1.2.1. Evaluation des capacités de piégeage du DPPH dans la solution des graines de *Helianthus annuus*

Une solution mère de l'échantillon a été préparée dans l'eau distillée, puis diluée afin d'obtenir les concentrations expérimentales souhaitées. Les dilutions ont permis de tester différentes d'échantillon à 0,5 ; 1 ; 2 ; 5 et 10 mg/mL.

Ensuite, 1mL de chaque concentration de l'échantillon a été mélangé avec 1mL du DPPH. Après homogénéisation, l'évolution de la réaction a été suivie par spectrophotométrie UV à 517nm pendant 5min. Les valeurs d'absorbance obtenues ont permis donner une estimation quantitative de l'activité antioxydante de l'échantillon en fonction de sa capacité à réduire le radical DPPH.

Afin d'évaluer l'efficacité de piégeage du radical DPPH par la solution testée, l'acide ascorbique a été utilisé comme antioxydant standard. Différentes concentrations de ce composé ont été préparées de 0,0025 ; 0,005 ; 0,0075 et 0,01mg/mL. Cette approche permet de comparer directement l'activité antioxydante de l'échantillon étudié à celle d'un antioxydant de référence reconnu (Prior et al., 2005)

4.2. Recherche d'activités enzymatiques dans les graines de *Helianthus annuus*

4.2.1. Recherche d'activités amylasiques dans la solution des graines de *Helianthus annuus*

Les amylases sont des hydrolases appartenant à la classe des glycosidases, catalysant la rupture des liaisons α -1,4 et parfois α -1,6 des polysaccharides tels que l'amidon et le glycogène. Leur activité enzymatique conduit à la libération d'oligosaccharides (maltose, maltotriose) ou de monosaccharides (glucose), selon le type d'amylase impliqué (réaction 11) : $(C_6H_{10}O_5)_n + nH_2O \rightarrow n(C_6H_{12}O_6)$ (de Souza et de Oliveira Magalhães, 2010)

❖ Préparation de la courbe étalon de l'amidon

L'activité enzymatique des amylases a été évaluée selon la méthode colorimétrique de Caraway-Somogyi, reposant sur le complexe iode/potassium iodure (IKI) qui interagit avec l'amidon résiduel (Bernfeld, 1955).

La préparation du substrat consiste à introduire 40mL d'une solution d'amidon à 1% dans 50mL d'eau distillée portée à ébullition. Après agitation et refroidissement à température ambiante, le volume est complété par addition d'eau distillée jusqu'à obtenir 100mL de solution finale (Fatema, 2017).

Un aliquote de cette solution est ensuite prélevé et soumis à une dilution décimale (1/10) dans l'eau distillée, afin d'obtenir une concentration adaptée au test enzymatique (Fatema, 2017).

Une gamme étalon d'amidon (5 ; 10 ; 20 et 40 μ g/mL) a été préparée par des dilutions d'une solution mère à 400 μ g/mL (Tableau 7).

Les solutions étalons ainsi obtenues ont été soumises à une mesure spectrophotométrique, et les valeurs d'absorbance enregistrées à 620nm ont permis de tracer la courbe d'étalonnage représentant la DO à 620nm en fonction de la concentration en amidon.

Tableau 7 : La gamme étalon des solutions de l'amidon

Solutions étalons d'amidon (μ g/mL)	0	5	10	20	40
Solution mère d'amidon (400 μ g/mL)	0	0,025	0,05	0,1	0,2
Eau distillée (mL)	2	1,97	1,95	1,9	1,8

La mise en évidence de l'activité amylasique a été effectuée par préparation d'un milieu réactionnel constitué de 0,1mL de solution d'amidon préalablement préparée et utilisée comme substrat, 0,750mL de tampon phosphate (0,1M et pH 7), ainsi que 0,4mL de la solution des graines.

Après incubation du mélange à 30°C pendant 10min dans un bain-marie, 0,75mL de solution de Lugol est ajouté afin de révéler l'amidon non hydrolysé. La réaction enzymatique est ensuite stoppée par addition de 1,5mL de HCl à 10%.

L'absorbance du mélange réactionnel a été mesurée à 620nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV.

4.2.2. Recherche d'activités phytasiques dans la solution des graines de *Helianthus annuus*

Dans le cadre de l'évaluation de l'activité phytasique des graines de *Helianthus annuus*, une approche reposant sur la quantification du phosphate inorganique (Pi) libéré a été employée.

Les phytases, appartenant à la famille des hydrolases, catalysent l'hydrolyse du phytate (myo-inositol hexakisphosphate), considéré comme leur substrat principal (Ariza et al., 2013). Ce processus enzymatique conduit à la formation de dérivés phosphorylés du myo-inositol ainsi qu'à la libération de phosphate inorganique (Pi). La réaction globale (12) peut être représentée comme suit: $IP_6 + H_2O \rightarrow IP_5 + Pi$ (McKie et McCleary, 2016).

❖ Préparation de la courbe étalon du phosphate

Afin de déterminer la concentration de phosphate inorganique (Pi) libéré par l'activité phytasique, une courbe d'étalonnage de KH_2PO_4 (0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 et 1mM) a été préparée. Les solutions étalons ainsi obtenues ont été soumises à une mesure spectrophotométrique, et les valeurs d'absorbance enregistrées à 355nm.

Tableau 8 : La gamme étalon des solutions du KH_2PO_4

[KH_2PO_4] mM	0	0,2	0,4	0,6	0,8	1
Volume du KH_2PO_4 à 1mM (mL)	0	0,2	0,4	0,6	0,8	1
Eau distillée (mL)	1	0,8	0,6	0,4	0,2	0

La mise en évidence de l'activité phytasique a été effectuée par préparation d'un milieu réactionnel constitué de 0,125mL d'acide phytique à 5mM dans du tampon d'acétate d'ammonium-acide acétique (0,1 M et pH 5) et de 0,025mL d'extrait des graines. L'ensemble a été incubé dans un bain-marie pendant 10min, à 30°C.

À l'issue de l'incubation, les réactifs complémentaires ont été introduits dans l'ordre suivant : 0,75mL d'une solution fraîchement préparée (composée de 10mL d'acétone, 5mL d'acide

sulfurique et 5mL de molybdate d'ammonium), puis 0,1mL d'acide citrique, et enfin 1mL d'eau distillée (Sajidan et al., 2015).

L'absorbance du mélange réactionnel a été mesurée à 355nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV.

4.2.3. Caractérisation des activités amylasiques et phytasiques de la solution des graines de *Helianthus annuus*

A. Influence de la température sur les activités amylasiques et phytasiques des graines de *Helianthus annuus*

Afin d'évaluer l'influence de la température, sur les activités amylasiques et phytasiques des graines, le milieu réactionnel préparé est incubé à différentes températures (20, 30, 40 et 50°C) pendant 10min. Ensuite, l'activité enzymatique est mesurée en suivant les mêmes protocoles décrits précédemment.

B. Influence du pH sur les activités amylasiques et phytasiques des graines de *Helianthus annuus*

Afin d'évaluer l'influence du pH sur les activités amylasiques et phytasiques des graines, le tampon phosphate à pH 7 est remplacé par le tampon acétate d'ammonium-acide acétique à (0,1M et pH 5), et le tampon Glycine-NaOH à (0,1M et pH 9). L'incubation se fait pendant 10min aux températures optimales déterminées dans le test de l'étude de l'influence de la température sur les activités enzymatiques.

C. Influence du NaCl sur les activités amylasiques et phytasiques des graines de *Helianthus annuus*

Afin d'évaluer l'influence du NaCl sur les activités enzymatiques des graines, les tampons des milieux réactionnels sont additionnés de 0,1M de NaCl. L'incubation se fait pendant 10min aux températures optimales déterminées dans le test de l'étude de l'influence de la température sur les activités enzymatiques.

4.2.4. Effet de facteurs physico-chimiques sur la stabilité des amylases et phytases des graines de *Helianthus annuus*

A. Effet du traitement thermique sur la stabilité des amylases et phytases des graines de *Helianthus annuus*

Pour ce test, 1mL de la solution des graines a été déposé au bain marie à 90°C pendant 1h. À l'issue de l'incubation, l'activité enzymatique résiduelle est déterminée selon le protocole standard précédemment décrit pour la mesure de l'activité amylasique et phytasique.

B. Effet du pH (HCl, NaOH) et NaCl sur la stabilité des amylases et phytases des graines de *Helianthus annuus*

Pour ce test, 1mL de la solution des graines a été mélangé, séparément, avec 1mL de différentes solutions à 1M de HCl, de NaOH et de NaCl pour effectuer les différents traitements. Après 1h de traitement, les activités enzymatiques résiduelles sont déterminées selon le protocole standard précédemment décrit pour la mesure de l'activité amylasique et phytasique,

Résultats et discussion



1. Matériel biologique

Afin d'évaluer les activités biologiques (antioxydantes et enzymatiques), une solution préparée à partir de graines de *Helianthus annuus* (Figure 1), acquises dans le commerce de la ville d'Aïn Témouchent, a été utilisée.

2. Dosage des protéines de la solution des graines de *Helianthus annuus*

Pour déterminer la concentration en protéines dans les échantillons de la solution obtenue à partir des graines de *Helianthus annuus*, une courbe d'étalonnage reliant la densité optique à 595nm (DO_{595nm}) à la concentration en hémoglobine a été tracée (Figure 9).

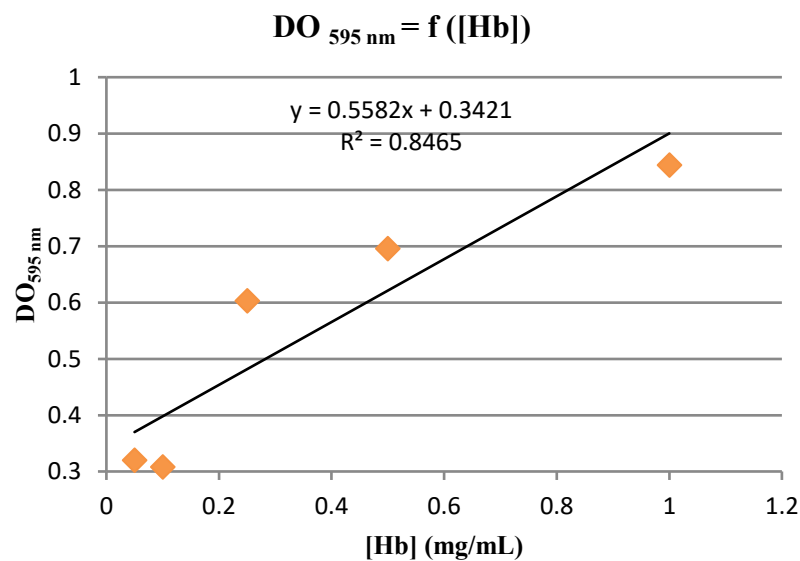


Figure 9 : Courbe étalon de l'hémoglobine

Le résultat de la concentration protéique dans l'extrait de graines de *Helianthus annuus*, préparés à une concentration initiale de 200mg/mL conformément au protocole décrit dans la section « Matériels et méthodes », met en évidence une concentration mesurée de 1,65mg/mL dans la solution obtenue à température ambiante.

3. Recherche d'activités biologiques dans les graines de *Helianthus annuus*

3.1. Recherche d'activités antioxydantes dans les graines de *Helianthus annuus*

3.1.1. Recherche d'activité catalasique dans la solution des graines de *Helianthus annuus*

❖ Préparation de la courbe étalon de le H_2O_2

Afin de quantifier la quantité du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) dégradée par l'action des catalases présentes dans la solution des graines de *Helianthus annuus*, une courbe d'étalonnage représentant la densité optique à 240nm (DO_{240nm}) en fonction de la concentration en H_2O_2 a été tracée (Figure 10).

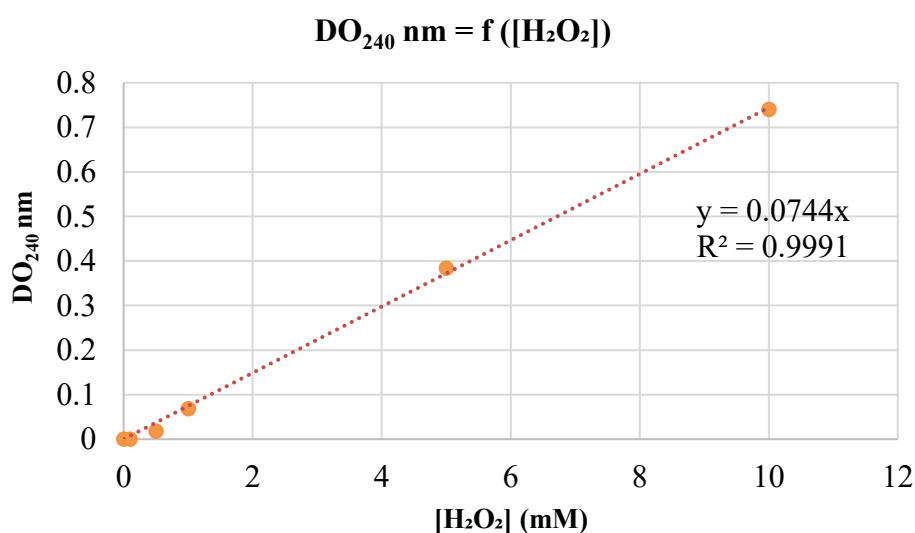


Figure 10 : Courbe étalon de le H_2O_2

3.1.1.1. Évaluation d'activité catalasique dans la solution des graines de *Helianthus annuus*

Dans cette étude, l'activité catalasique a été évaluée par un suivi de la quantité d' H_2O_2 restante et d' H_2O_2 dégradée en fonction du temps d'incubation (0, 30, 60 et 90s). Les résultats obtenus permettant ainsi d'apprécier l'efficacité de l'enzyme catalase présente dans l'extrait étudié (figure 11).

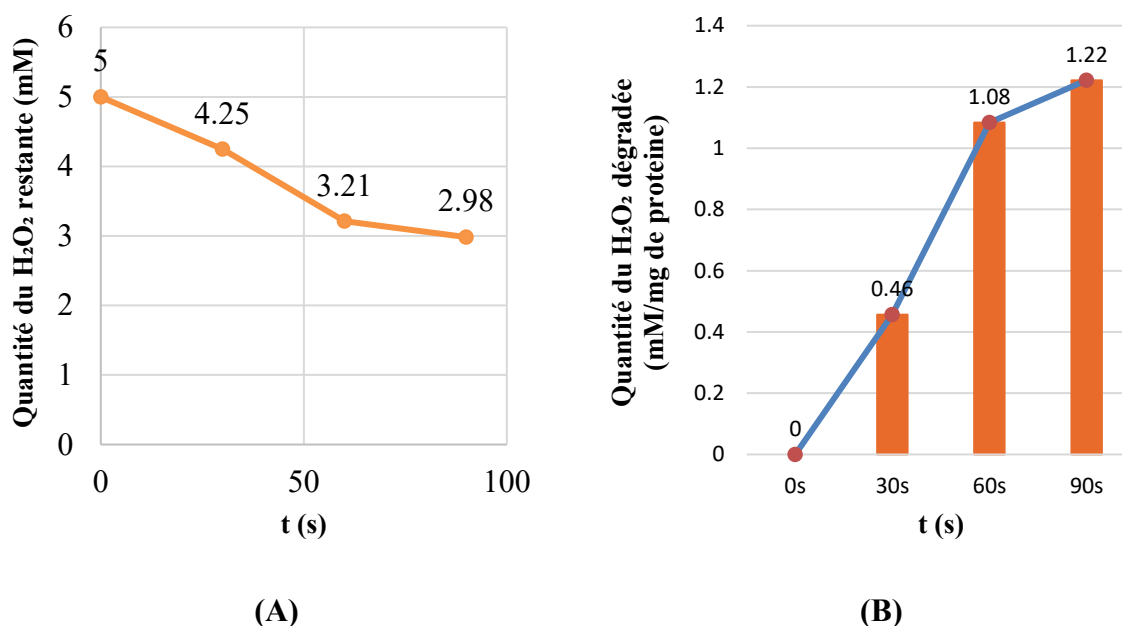


Figure 11 : Variation de la quantité d'H₂O₂ restante (A) et dégradée (B) en fonction du temps

Les résultats montrent (Figure 11) que la quantité d'H₂O₂ restante (Figure 11-A) diminue progressivement, allant d'≈ 5mM au début à ≈ 3mM après 90s. Parallèlement, la quantité d'H₂O₂ dégradée (Figure 11-B) augmente en fonction du temps, passant d'≈ 0,75 à 30s à ≈ 2mM à 90s.

Ces résultats indiquent que le H₂O₂ est progressivement dégradé au cours du temps, traduisant la présence d'une activité enzymatique.

La solution des graines de *Helianthus annuus* à une concentration de 200mg/mL a montré des résultats dans la dégradation d'H₂O₂. À température ambiante, la quantité d'H₂O₂ dégradée s'élève à 1,22mM/mg de protéines au bout de 90s.

Ces résultats sont en accord avec les travaux de Hite et al. (1999) réalisés sur *Helianthus annuus*, qui ont mis en évidence une activité catalasique importante, notamment durant la germination et en réponse au vieillissement des graines. Ces auteurs ont également montré une augmentation progressive de l'activité catalasique au cours de la germination, traduisant l'activation du système antioxydant enzymatique en réponse à l'intensification du métabolisme cellulaire (Hite et al., 1999).

En effet, l'augmentation de l'activité catalasique observée dans les deux cas reflète un mécanisme essentiel de défense contre le stress oxydatif, permettant de réguler les niveaux de H₂O₂ et de prévenir les dommages cellulaires (Mittler, 2002 ; Klaus Appel et Heribert Hirt, 2004 ; Gill et Tuteja, 2010).

Les plantes possèdent des systèmes enzymatiques efficaces leur permettant de se protéger contre le H_2O_2 et d'autres (ERO), impliquant notamment des enzymes telles que la CAT, la SOD et les Px (Gill et Tuteja, 2010 ; Hasanuzzaman et al., 2020). Plusieurs études ont été consacrées à l'analyse des catalases végétales, mettant en évidence leur rôle essentiel dans la tolérance au stress oxydatif chez différentes espèces végétales (Mittler, 2002 ; Gill et Tuteja, 2010).

3.1.2. Recherche des capacités de piégeage du DPPH dans la solution des graines de *Helianthus annuus*

❖ Préparation de la gamme étalon de DPPH

Afin de quantifier la concentration du DPPH et d'évaluer la capacité de piégeage des radicaux libres par l'extrait étudié, une courbe d'étalonnage représentant la densité optique à 517nm (DO_{517nm}) en fonction de la concentration en DPPH a été tracée (Figure 12).

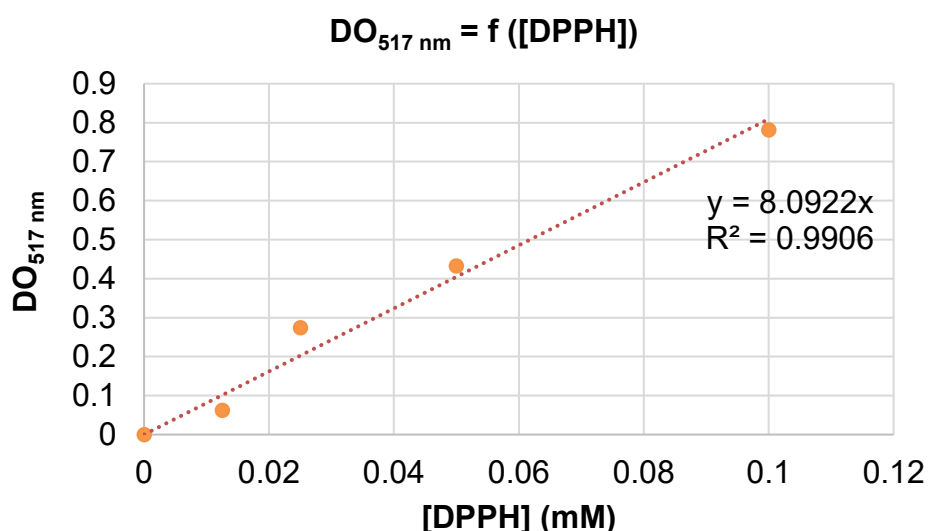


Figure 12 : Courbe étalon du DPPH

3.1.2.1. Evaluation des capacités de piégeage du DPPH dans la solution des graines de *Helianthus annuus*

Un 2^{ème} test visant à évaluer l'activité antioxydante a été effectué selon la méthode de piégeage du radical libre DPPH par la solution des graines de *Helianthus annuus*. Ce test de piégeage du DPPH repose sur la réduction d'un radical libre stable par des molécules antioxydantes (réaction 10), ce qui explique son utilisation courante dans l'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits végétaux. La neutralisation du radical DPPH se traduit par une

diminution de l'absorbance proportionnelle à l'activité antioxydante (Dos Santos Barreto et al., 2026).

Les résultats obtenus de ce test sont illustrés dans la figure suivante :

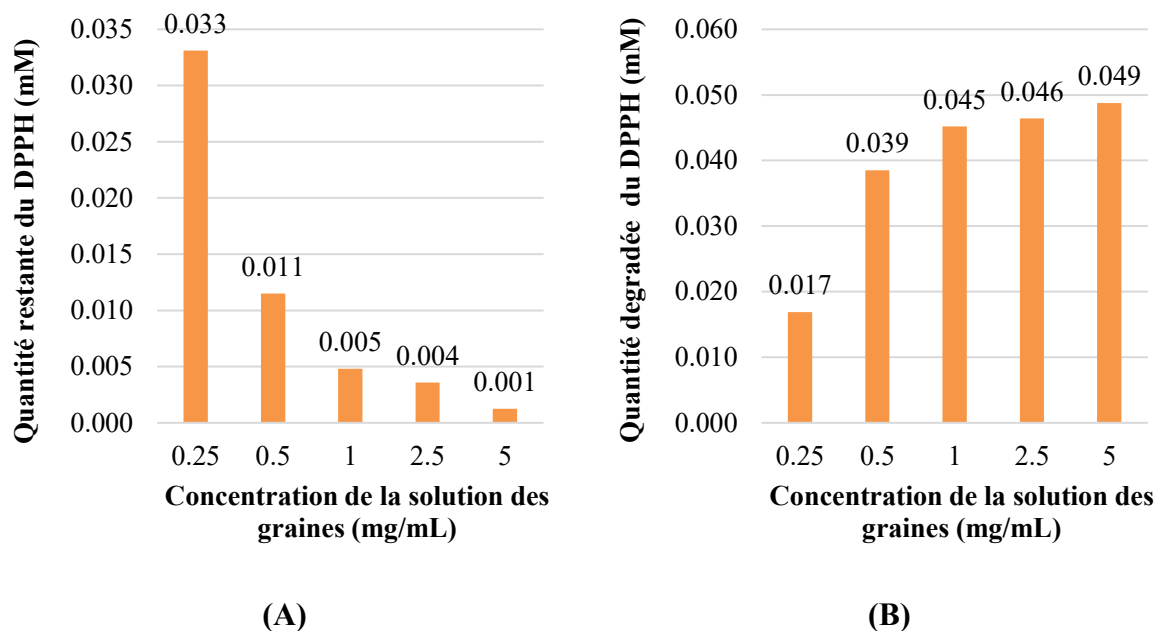


Figure 13 : La quantité de DPPH restante (A) et dégradée (B) piégée en fonction de la concentration de l'échantillon

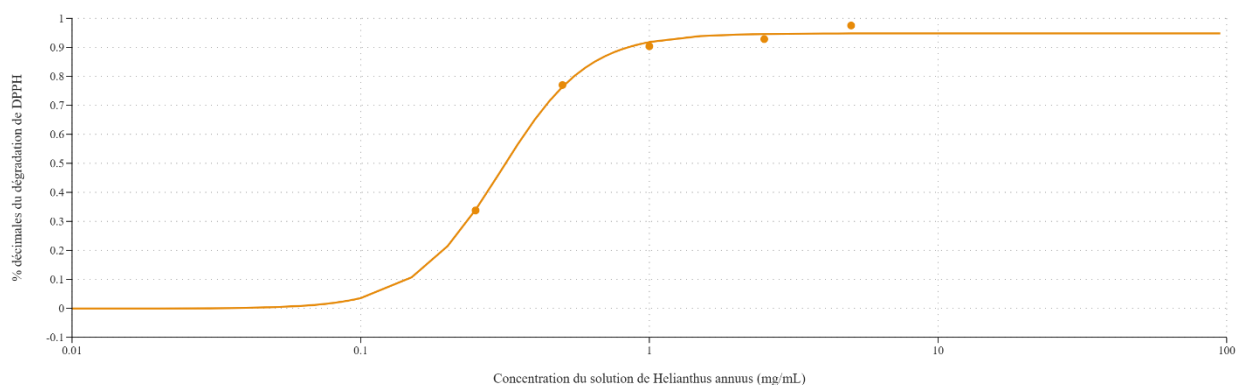


Figure 14 : IC₅₀ du piégeage de DPPH par la solution des graines *Helianthus annuus*

L'analyse de l'activité antioxydante des graines de *Helianthus annuus* par la méthode du DPPH met en évidence une augmentation progressive du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration, traduisant une relation dose-dépendante caractéristique des composés antioxydants.

Le résultat obtenu (Figure 14), indique une augmentation de la capacité de piégeage des radicaux libres en fonction de l'augmentation de la concentration de l'échantillon.

Pour l'acide ascorbique, la valeur de l'IC₅₀ est de 0,0045mg/mL. Cette valeur très faible traduit une forte capacité antioxydante. Elle demeure inférieure à celle obtenue pour notre extrait, confirmant ainsi que l'acide ascorbique constitue un antioxydant de référence.

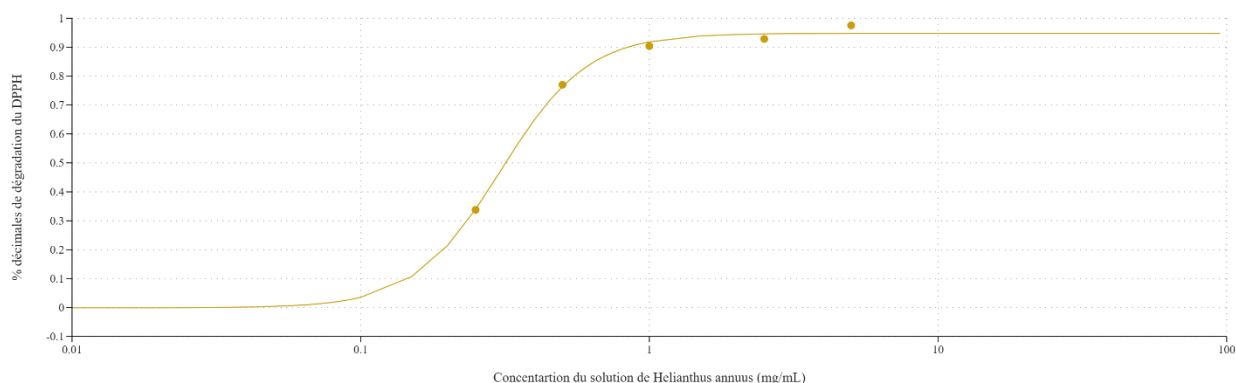


Figure 15 : IC₅₀ du piégeage de DPPH par l'acide ascorbique

Ce résultat est en accord avec les travaux antérieurs, où l'acide ascorbique présente généralement une activité antioxydante élevée dans le test de piégeage du radical DPPH.

Ensuite, la détermination de la concentration inhibitrice demi-maximale (IC₅₀) a permis de quantifier cette activité. En effet, selon Mensor et al. (2001), l'IC₅₀ correspond à la concentration d'un échantillon nécessaire pour piéger 50% des radicaux libres, constituant ainsi un indicateur fiable de l'efficacité antioxydante. L'évaluation de l'IC₅₀ constitue un paramètre essentiel pour l'appréciation des propriétés biologiques et pharmacologiques d'un composé (Mensor et al., 2001).

Par ailleurs, une faible valeur de l'IC₅₀ traduit une activité antioxydante élevée, reflétant une meilleure capacité de l'extrait à neutraliser les espèces oxydantes (Brand-Williams et al., 1995).

Dans notre étude, la dégradation du DPPH par la solution des graines de *Helianthus annuus* a été déterminée à l'aide du logiciel AAT Bioquest.

La valeur de l'IC₅₀ obtenue est de 0,3055mg/mL de la solution des graines de *Helianthus annuus*, correspondant à la concentration nécessaire pour inhiber 50% du radical DPPH. Cette valeur relativement faible traduit une activité antioxydante élevée des extraits de graines de *Helianthus annuus*.

L'évaluation de la concentration inhibitrice demi-maximale (IC₅₀) constitue un paramètre essentiel pour l'appréciation des propriétés biologiques et pharmacologiques d'un composé

(Mensor et al., 2001). Par ailleurs, une faible valeur de l'IC₅₀ traduit une activité antioxydante élevée, reflétant une meilleure capacité de l'extrait à neutraliser les espèces oxydantes (Brand-Williams et al., 1995).

Dans le test de piégeage du radical DPPH, des études antérieures ont rapporté des valeurs d'IC₅₀ nettement plus faibles pour des extraits de *Helianthus annuus*. Par exemple, une valeur d'≈ 0,054mg/mL a été observée pour des extraits méthanoliques de graines, traduisant une activité antioxydante plus élevée (Ratha et al., 2026). De même, les extraits de feuilles présentent des valeurs proches (≈ 0,048mg/mL), tandis que les fleurs et les tiges (les écorces) montrent des activités plus faibles, avec des IC₅₀ respectives d'≈ 0,180mg/mL et 0,274mg/mL. À titre de comparaison, la vitamine E présente une IC₅₀ de 0,027mg/mL, confirmant son fort pouvoir antioxydant (Salwa, 2021).

Par comparaison, la valeur de l'IC₅₀ obtenue dans notre étude (0,3055mg/mL) est supérieure à celles rapportées, indiquant que l'activité antioxydante de notre extrait est relativement plus faible. Cette différence peut être attribuée à plusieurs facteurs, notamment la méthode d'extraction utilisée, le solvant employé, l'origine biologique des graines, les conditions expérimentales, ainsi que la concentration en composés phénoliques et flavonoïdes, connus pour leur rôle majeur dans l'activité antioxydante (Gintaras Miliauskas et al., 2004 ; Shahidi et Ambigaipalan, 2015). En effet, l'activité antioxydante des extraits végétaux dépend fortement de leur richesse en composés phénoliques et flavonoïdes, capables de neutraliser le radical DPPH par transfert d'électrons ou d'atomes d'hydrogène (Brand-Williams et al., 1995).

Les graines de *Helianthus annuus* sont riches en composés antioxydants, notamment les tocophérols (vitamine E), les composés phénoliques et les flavonoïdes (Guo et al., 2017 ; Adeleke et Babalola, 2020). Ces molécules possèdent une activité antioxydante avérée et participent à la neutralisation des ERO, limitant ainsi les dommages oxydatifs au niveau cellulaire (Mittler, 2002 ; Salah Laaraj et al., 2025). Elles agissent en complément des enzymes antioxydantes pour assurer une protection efficace des structures cellulaires (Gill et Tuteja, 2010).

Des travaux sur d'autres graines ont été effectués pour déterminer leur capacité de piégeage du DPPH. En effet, une valeur d'IC₅₀ d'≈ 0,00565mg/mL a été rapportée dans une étude portant sur des extraits de graines de *Syzygium claviflorum* (Claviflorous satinash), confirmant le fort pouvoir de piégeage des radicaux libres de l'acide ascorbique (Ahmed et al., 2021). Par ailleurs, des valeurs plus élevées, de l'ordre de 0,01551mg/mL, ont également été observées dans des études impliquant des graines de *Linum usitatissimum* (Lin) (Koçak, 2024).

Ainsi, la valeur obtenue dans notre étude reste inférieure à ces valeurs, ce qui confirme une activité antioxydante particulièrement élevée.

Les résultats obtenus mettent en évidence un potentiel antioxydant important des extraits étudiés, à travers deux approches complémentaires : la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le test de piégeage du radical libre DPPH.

En effet, l'activité catalasique mesurée montre une capacité notable de dégradation du H_2O_2 , atteignant 1,22mM/mg de protéines après 90s. Cette valeur traduit une activité enzymatique, témoignant du rôle essentiel de la catalase dans l'élimination du H_2O_2 et la protection des graines contre le stress oxydatif. Cette activité reflète un mécanisme clé de défense cellulaire visant à maintenir l'équilibre redox (Mittler, 2002 ; Hasanuzzaman et al., 2020).

Parallèlement, le test DPPH a révélé aussi la présence d'une bonne activité antioxydante des extraits, avec une valeur d' IC_{50} de 0,3055mg/mL, indiquant une capacité de piégeage des radicaux libres. En comparaison, l'acide ascorbique utilisé comme standard présente une valeur d' IC_{50} beaucoup plus faible (0,0045mg/mL), traduisant une activité antioxydante très élevée. Cette observation est en accord avec les résultats rapportés pour différents extraits végétaux, où l'acide ascorbique est reconnu comme un antioxydant de référence en raison de sa forte capacité de neutralisation des radicaux libres (Klaus Apel et Heribert Hirt, 2004).

L'activité antioxydante observée peut être expliquée par la richesse de l'extrait aqueux des graines de *Helianthus annuus* en composés hydrosolubles (acide phénolique, flavonoïde et vitamine C). Ces composés sont capables de neutraliser les ERO par donation d'électrons ou d'atomes d'hydrogène (Mittler, 2002 ; Klaus Apel et Heribert Hirt, 2004).

Des études spécifiques ont montré que les graines de tournesol contiennent une proportion importante de composés phénoliques (l'acide chlorogénique et l'acide caféique), contribuant à leur activité antioxydante (Le et al., 2021 ; Salah Laaraj et al., 2025). Par ailleurs, bien que riches en tocophérols (vitamine E), ces composés liposolubles sont peu extraits dans les milieux aqueux, ce qui indique que l'activité observée est principalement due aux composés phénoliques hydrophiles (Kongsamai et al., 2010 ; Guo et al., 2017 ; Altemimi et al., 2017).

Ainsi, la combinaison des deux tests met en évidence la complémentarité entre les mécanismes enzymatiques et non enzymatiques de défense contre le stress oxydatif. Tandis que l'activité catalasique reflète la capacité des systèmes enzymatiques à détoxifier le H_2O_2 , le test DPPH évalue l'aptitude des composés antioxydants à piéger directement les radicaux libres. L'ensemble des résultats confirment que les extraits étudiés possèdent un potentiel antioxydant

réel, bien que moins puissant que celui de l'acide ascorbique (Mittler, 2002 ; Klaus Apel et Heribert Hirt, 2004 ; Hasanuzzaman et al., 2020).

3.2. Recherche d'activités enzymatiques dans les graines de *Helianthus annuus*

3.2.1. Recherche d'activité amylasique dans la solution des graines de *Helianthus annuus*

Afin de quantifier la dégradation de l'amidon par l'activité amylasique des graines de *Helianthus annuus*, une courbe d'étalonnage reliant la densité optique à 620nm (DO_{620nm}) à la concentration en amidon a été établie (Figure 16).

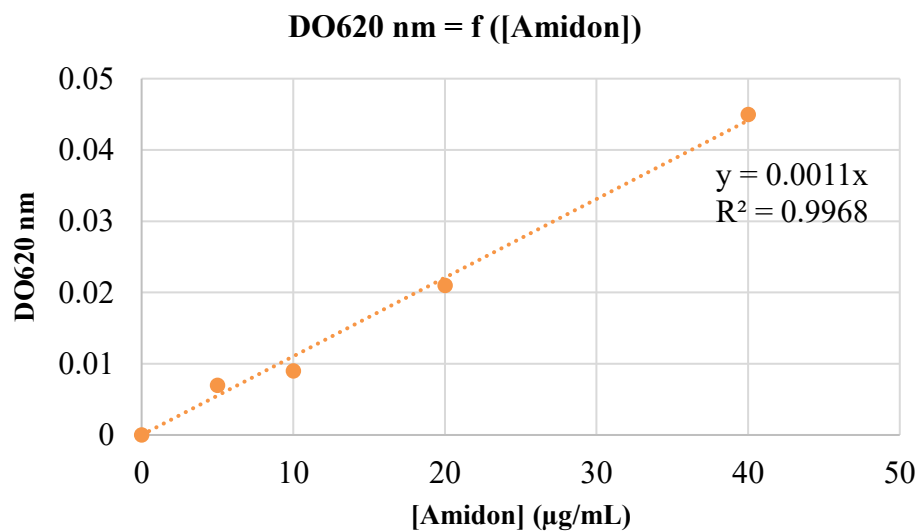


Figure 16 : Courbe étalon de l'amidon

La présence d'activité amylasique de l'extrait des graines de *Helianthus annuus*, a été évaluée après 10min d'incubation, comme décrit dans la section « Matériels et méthodes ».

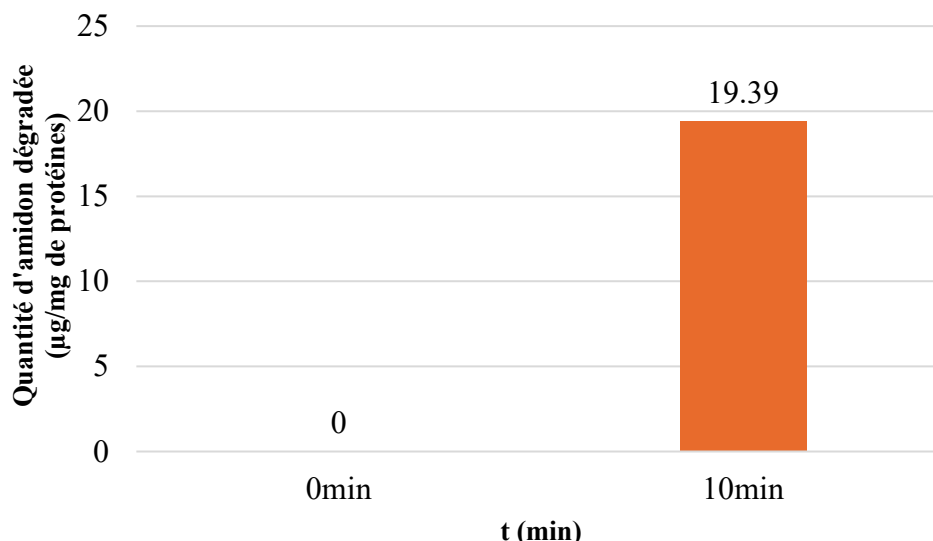


Figure 17 : mise en évidence d'activités amylasiques dans les graines de *Helianthus annuus*

Les résultats montrent une dégradation de l'amidon après 10min d'incubation ($\approx 19,40\mu\text{g/mg}$ de protéines).

En accord avec les résultats rapportés par K. Lorenz (1980), des activités enzymatiques, notamment amylasiques, ont été déterminées dans des extraits de graines de *Helianthus annuus*. De même, nos résultats montrent que les graines présentent une activité amylasique mesurable, traduisant la capacité de l' α -amylase à hydrolyser l'amidon en sucres plus simples.

Par ailleurs, la présence d' α -amylase dans les graines est largement décrite dans l'étude, où cette enzyme joue un rôle essentiel dans la mobilisation des réserves d'amidon, notamment lors de la germination (Kumari et al., 2010).

En effet, des résultats similaires ont été rapportés sur des graines germées de *Glycine max* (Soja), où une augmentation de la dégradation de l'amidon entre 5 et 10min d'incubation a été observée, traduisant une intensification de l'hydrolyse au début de la réaction (Agustini et al., 2020). De même, des études sur l'activité amylasique en fonction des conditions de germination ont été réalisées sur des graines germées de *Vigna radiata* (Haricot mungo) (Kalimuthu et al., 2023).

3.2.2. Recherche d'activités phytasique dans la solution des graines de *Helianthus annuus*

Afin de quantifier la production du phosphate par l'activité phytasique des graines de *Helianthus annuus*, une courbe d'étalonnage reliant la densité optique à 355nm ($\text{DO}_{355\text{nm}}$) à la concentration en phosphate a été établie (Figure 18).

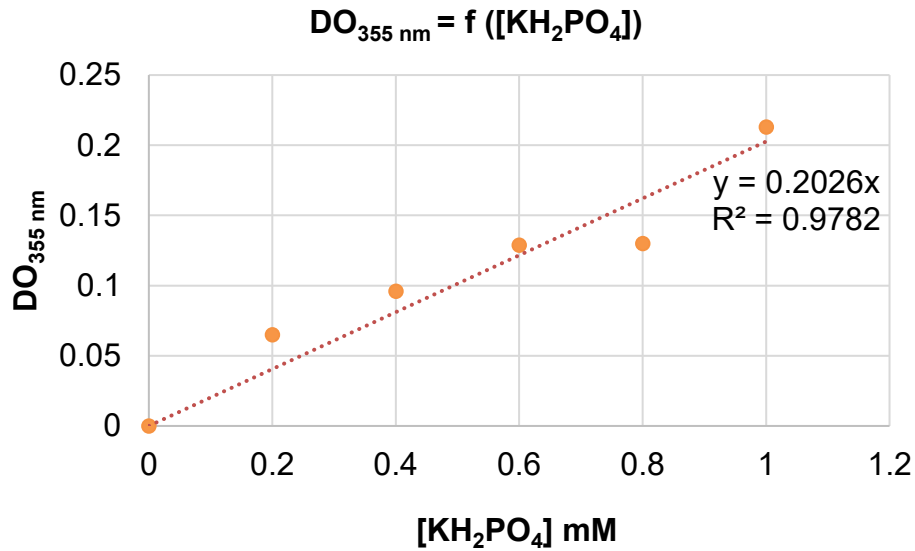


Figure 18 : Courbe étalon du phosphate

La présence d'activité phytasique de l'extrait des graines de *Helianthus annuus*, a été évalué après 10min d'incubation, comme décrit dans la section « Matériels et méthodes ».

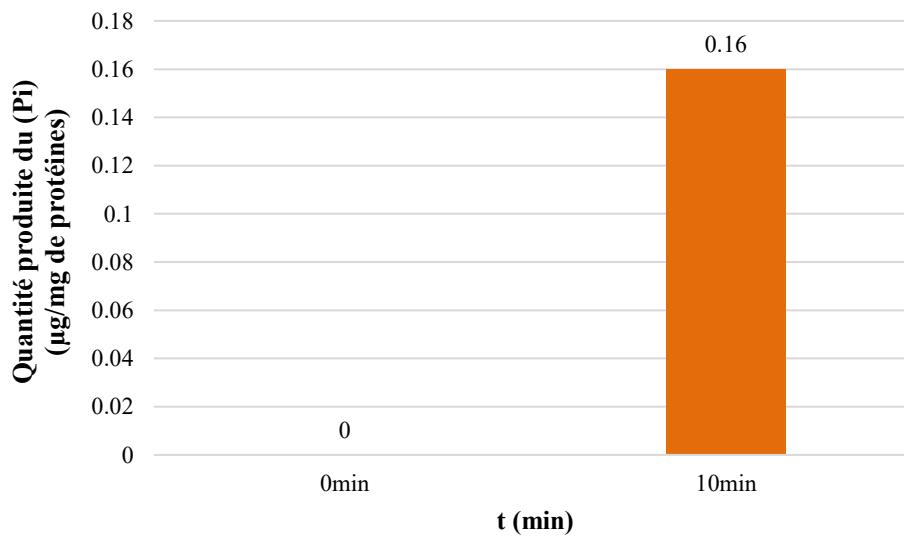


Figure 19 : mise en évidence d'activités phytasiques dans les graines de *Helianthus annuus*

Les résultats montrent une production du Pi après 10min d'incubation ($\approx 0,16\mu\text{g/mg}$ de protéines).

Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés chez *Helianthus annuus*, où une activité phytasique a été mise en évidence dans des extraits bruts de graines, capables d'hydrolyser efficacement le phytate avec libération de Pi (Agostini et Ida, 2006).

En effet, chez plusieurs espèces végétales, notamment les céréales et les légumineuses, une augmentation de l'activité phytasique et de la libération de Pi a été observée lors de la germination ou dans des conditions favorisant l'activation enzymatique. Par exemple, chez différentes graines telles que *Lens culinaris* (lentille), *Phaseolus vulgaris* (haricot) et *Triticum aestivum* (blé), l'hydratation et la germination induisent une augmentation de l'activité phytasique, accompagnée d'une dégradation du phytate et d'une libération accrue de Pi (Egli et al., 2002). De même, des études menées sur des graines de *Secale cereale* (seigle) ont montré une activité phytasique mesurable dans des extraits bruts, associée à une diminution du phytate et à une disponibilité accrue du phosphore (Fretzdorff et Weipert, 1986). De plus, plusieurs travaux ont mis en évidence des activités phytasiques *in vitro*, notamment chez *Vigna unguiculata* (Haricot) où l'activité enzymatique est déterminée par la libération de Pi après incubation du 30 à 60min (Affrifah et al., 2006), ainsi que chez *Corylus avellana* (Noisette) où la phytase a été extraite et caractérisée à partir de graines en conditions contrôlées (Andriotis et al., 2003). Des protocoles similaires basés sur l'incubation d'extraits enzymatiques et la mesure du Pi ont également été rapportés chez d'autres graines telles que *Cucumis sativus* (concombre), confirmant que l'activité phytasique peut être mise en évidence indépendamment de la germination (Kafka et al., 2023).

3.2.3. Caractérisation des activités amylasiques et phytasiques de la solution des graines de *Helianthus annuus*

A. Influence de la température sur les activités amylasiques et phytasiques des graines de *Helianthus annuus*

L'influence de la température sur les 2 activités enzymatiques des graines de *Helianthus annuus* a été étudiée, conformément au protocole décrit précédemment, en évaluant l'activité enzymatique à différentes températures d'incubation: 20, 30, 40 et 50°C (Figure 20).

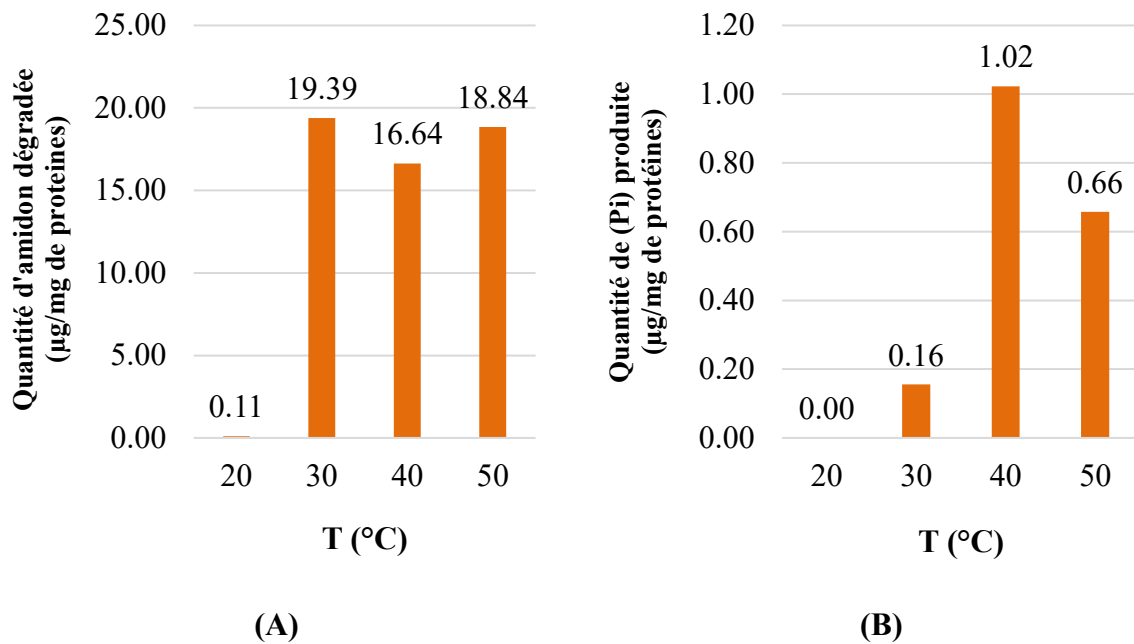


Figure 20 : Influence de la température sur les activités amylasiques (A) et phytasiques (B) des graines de *Helianthus annuus*

Les résultats obtenus montrent que l'activité amylasique dépend fortement de la température. En effet, une activité faible est observée à 20°C ($\approx 0,11 \mu\text{g}$ d'amidon dégradée/mg de protéines). À 40 et 50°C, une bonne activité amylasique est observée (respectivement, ≈ 17 et $19 \mu\text{g}$ d'amidon dégradée/mg de protéines). Des travaux réalisés sur différentes hydrolases (amylases, lipases, ...) de *Helianthus annuus*, notamment au niveau des graines germées ainsi que d'autres organes de la plante, ont montré que leur activité est fortement influencée par la température (Lorenz, 1980).

L'activité la plus forte est observée à 30°C ($\approx 19 \mu\text{g}$ d'amidon dégradée/mg de protéines), ce qui correspond à la température optimale de cette activité.

Ce résultat est en accord avec des travaux rapportés dans des systèmes d'origine végétale, où une activité amylasique maximale a été observée à $\approx 30^\circ\text{C}$, notamment dans des études associées aux graines (Saleem et Ebrahim, 2014). De même, que sur des graines germées de *Glycine max* (Soja) et de *Triticum aestivum* (Blé), où l'activité amylasique est généralement observée dans une gamme de températures modérées, comprise entre 20 et 40°C, correspondant à des conditions physiologiques proches des systèmes non purifiés (Helland et al., 2002 ; Kumari et al., 2010).

À cet effet, des travaux réalisés sur d'autres enzymes extraites de graines germées de tournesol, notamment la lipase, ont montré que l'activité enzymatique dépend fortement de la température

d'incubation, avec une activité optimale observée à des températures modérées (30°C), avec une activité encore appréciable dans une gamme plus large pouvant atteindre 40 et 50°C, avant de diminuer à des températures plus élevées en raison de la dénaturation enzymatique (Al-Haidari et al., 2021).

Par ailleurs, la production de phosphate inorganique (Pi) varie en fonction de la température. Aucune production n'est observée à 20°C (0µg du Pi produite/mg de protéines). À 30°C, une faible production apparaît ($\approx 0,16\mu\text{g}$ du Pi produite/mg de protéines). À 50°C, une diminution de la production est observée ($\approx 0,66\mu\text{g}/\text{mg}$ de protéines). Des travaux réalisés sur différentes enzymes de type phytase (phytases acides) dans les graines de *Helianthus annuus*, notamment au niveau des graines germées, ont montré que leur activité est fortement influencée par la température (Agostini et Ida, 2006).

L'activité la plus forte est observée à 40°C ($\approx 1,02\mu\text{g}$ du Pi produite/mg de protéines), ce qui correspond à la température optimale de cette activité.

Des travaux réalisés sur des graines de *Helianthus annuus* ont montré que l'activité phytasique augmente avec la température jusqu'à atteindre un optimum autour de 30 et 40°C, avant de diminuer à des températures plus élevées en raison d'une dénaturation partielle de l'enzyme (Agostini et Ida, 2006). De même, chez d'autres graines, notamment les céréales comme *Triticum aestivum* (blé) et *Secale cereale* (seigle), des températures optimales comprises entre 35 et 50°C ont été rapportées pour l'activité phytasique, confirmant le caractère thermodépendant de cette enzyme (Fretzdorff et Weipert, 1986 ; Egli et al., 2002).

B. Influence du pH sur les activités amylasiques et phytasiques des graines de *Helianthus annuus*

L'influence du pH sur les 2 activités enzymatiques des graines de *Helianthus annuus* a été étudiée, conformément au protocole décrit précédemment, en évaluant l'activité enzymatique à différents pH : 5, 7 et 9 (Figure 21).

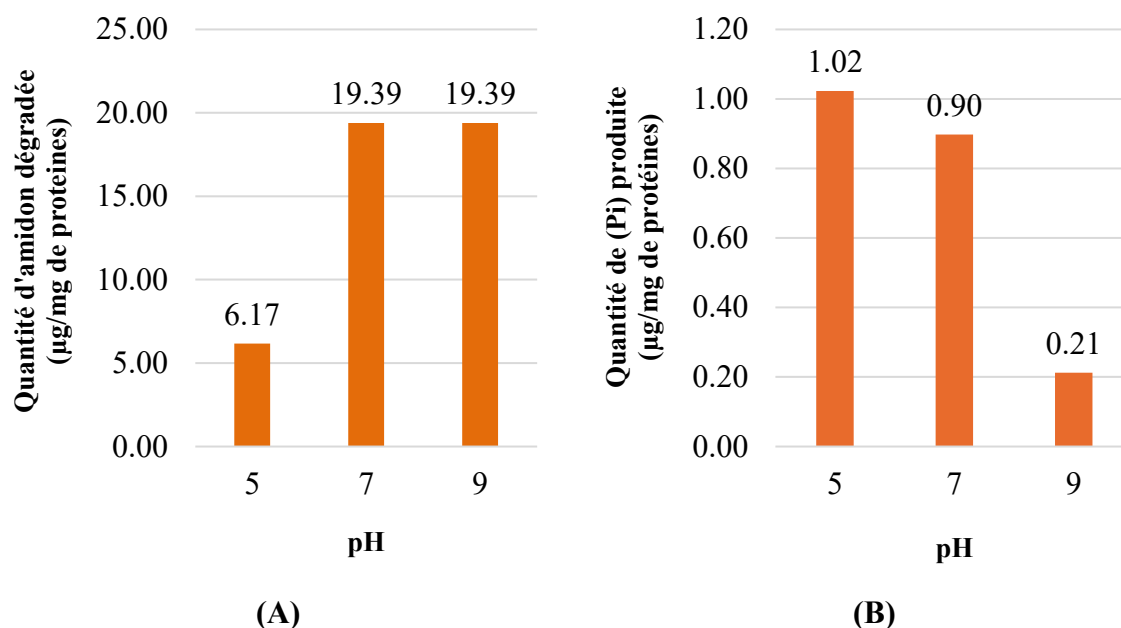


Figure 21 : Influence du pH sur les activités amylasiques (A) et phytasiques (B) des graines de *Helianthus annuus*

Les résultats obtenus montrent que l'activité amylasique des graines varie en fonction du pH. Une activité faible est observée à pH 5 ($\approx 6\mu\text{g}$ d'amidon dégradée/mg de protéines), suivie d'une augmentation importante à pH 7 et 9 ($\approx 19\mu\text{g}$ d'amidon dégradée/mg de protéines), correspondant aux pH optimaux de cette activité. Des travaux réalisés sur différentes hydrolases de *Helianthus annuus*, notamment au niveau des graines germées ainsi que d'autres organes de la plante, ont montré que leur activité est fortement influencée par le pH du milieu (Lorenz, 1980 ; Nasr et al., 2016).

Des études réalisées sur d'autres enzymes extraites de graines germées de tournesol, notamment la lipase, ont montré que l'activité enzymatique dépend fortement du pH du milieu, avec une activité optimale observée autour de la neutralité, et une diminution en milieu acide ou fortement basique en raison d'une altération de la conformation enzymatique (Al-Haidari et al., 2021).

Les graines de *Helianthus annuus* présentent une activité amylasique variable en fonction du pH, avec une activité plus élevée en conditions neutres à légèrement alcalines [pH 7-9], tandis qu'une diminution est observée en milieu acide, traduisant potentiellement une altération de la conformation de l'enzyme et de son site actif (Gupta et al., 2003 ; Singh et al., 2015).

Des résultats similaires ont été rapportés pour des extraits enzymatiques issus de graines germées de *Glycine max* (Soja), où l'activité amylasique est maximale à des pH neutres

(Kumari et al., 2010). De même, une activité optimale dans une gamme de pH neutre à légèrement alcaline a été observée dans des extraits bruts provenant de graines *Cucurbita moschata*, avec une activité maximale autour de pH 6-8 (Posoongnoen et al., 2025).

En parallèle, la production de phosphate inorganique (Pi) présente une évolution différente selon le pH. La quantité la plus élevée est enregistrée à pH 5 ($\approx 1\mu\text{g}$ du Pi produite/mg de protéines), suivie d'une légère diminution à pH 7 ($\approx 0,9\mu\text{g}$ du Pi produite/mg de protéines). À pH 9, une baisse importante est observée ($\approx 0,2\mu\text{g}$ du Pi produite/mg de protéines). Des travaux réalisés sur des phytases dans les graines de *Helianthus annuus*, notamment au niveau des graines germées ainsi que d'autres graines, ont montré que leur activité est fortement influencée par le pH du milieu (Agostini et Ida, 2006).

Ces résultats montrent que la production de Pi est favorisée en milieu acide et en milieu neutre, avec une activité optimale à pH 5 (selon le pH testé), et elle diminue en milieu alcalin.

Par rapport à ces résultats sont en accord avec d'autres études, en effet, des travaux réalisés sur des graines de *Helianthus annuus* ont montré que l'activité phytasique atteint un optimum autour de pH 5, avant de diminuer à des pH plus élevés (Agostini et Ida, 2006). De même, chez d'autres graines, notamment les céréales et les légumineuses, l'utilisation d'extraits bruts a révélé une activité phytasique plus élevée en milieu acide. Par exemple, chez *Triticum aestivum* (blé), *Hordeum vulgare* (orge) et *Secale cereale* (seigle), une activité maximale est généralement observée dans un intervalle de pH compris entre 5 et 6, tandis que chez *Glycine max* (soja) et *Vigna radiata* (haricot mungo), l'optimum est situé autour de pH 4,5 et 5,0. Dans tous les cas, une diminution progressive de l'activité est observée lorsque le pH devient alcalin (Egli et al., 2002).

C. Influence du NaCl sur les activités amylasiques et phytasiques des graines de *Helianthus annuus*

L'influence du NaCl sur les 2 activités enzymatiques des graines de *Helianthus annuus* a été étudiée, conformément au protocole décrit précédemment (Figure 22).

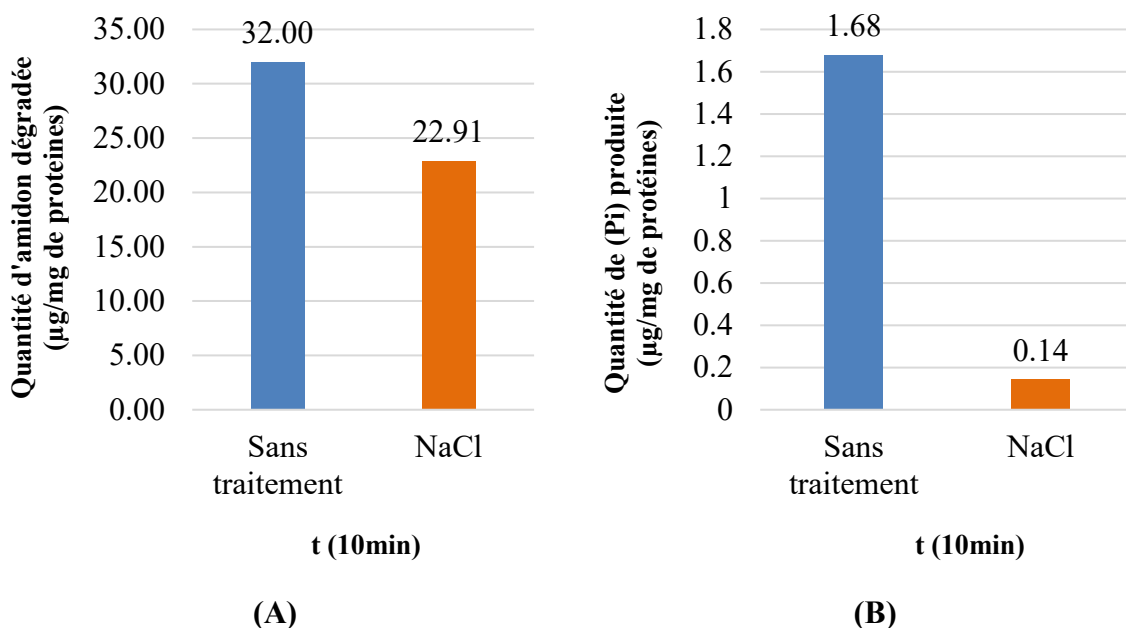


Figure 22 : Influence du NaCl sur les activités amylasiques (A) et phytasiques (B) des graines de *Helianthus annuus*

Les résultats obtenus montrent que l'activité amylasique des graines est influencée par la présence de NaCl. En absence de sel, une activité élevée est enregistrée ($\approx 32\mu\text{g}$ d'amidon dégradée/mg de protéines), tandis qu'une diminution est observée après ajout de NaCl ($\approx 23\mu\text{g}$ d'amidon dégradée/mg de protéines).

Des travaux réalisés sur différentes hydrolases de *Helianthus annuus* ont montré que leur activité est également influencée par les conditions salines, notamment la présence de NaCl (Lorenz, 1980 ; Nasr et al., 2016).

Les graines de *Helianthus annuus* présentent une diminution de l'activité amylasique en présence de NaCl, indiquant un effet inhibiteur des conditions salines sur l'enzyme. Cette inhibition peut s'expliquer par l'interaction des ions avec la structure de l'enzyme, entraînant une perturbation des interactions électrostatiques et une altération du site actif. Toutefois, cet effet dépend de la concentration en sel, certaines α -amylases pouvant conserver une activité relativement stable à faibles concentrations ioniques (Gupta et al., 2003 ; Posoongnoen et al., 2020).

Des résultats similaires ont été rapportés, notamment chez *Oryza sativa* (Riz), où un traitement au NaCl entraîne une diminution de l'activité amylasique (Liu et al., 2018). De même, une réduction de l'activité enzymatique a été observée chez des graines de coton avec

l'augmentation de la concentration en NaCl (Ashraf et al., 2002), confirmant l'effet inhibiteur des conditions salines sur l'hydrolyse de l'amidon.

Par ailleurs, la production de (Pi) est également impactée par la présence de NaCl. Une production beaucoup plus faible est détectée en présence de NaCl ($\approx 0,14\mu\text{g}$ du Pi produite/mg de protéines), comparé à celle en absence de traitement ($\approx 1,68\mu\text{g}$ du Pi produite/mg de protéines). Ces résultats confirment l'effet inhibiteur du milieu salin sur ces activités enzymatiques.

Des travaux réalisés sur différentes hydrolases de *Helianthus annuus*, notamment au niveau des graines germées ainsi que d'autres organes de la plante, ont montré que leur activité est influencée par les conditions salines, en particulier la présence de NaCl (Lorenz, 1980).

Un effet similaire du NaCl a été observé chez d'autres graines. En effet, chez des graines de lin (*Linum usitatissimum*), des études ont montré que la salinité modifie l'activité enzymatique dans les extraits de graines (Abdullah et al., 2022). De plus, chez d'autres graines, notamment les céréales comme le riz, la présence de NaCl inhibe l'activité des enzymes hydrolytiques telles que l' α -amylase (Liu et al., 2018).

Des résultats similaires ont été rapportés par Nasri et al., (2011) chez *Lactuca sativa* (Lettuce), où un traitement au NaCl a entraîné une diminution de l'activité phytasique ainsi qu'une réduction de l'hydrolyse du phytate au cours de la germination. Ces observations confirment l'effet inhibiteur des conditions salines sur les phytases endogènes des graines (Nasri et al., 2011).

3.2.4. Effet de facteurs physico-chimiques sur la stabilité des amylases et phytases des graines de *Helianthus annuus*

A. Effet du traitement thermique sur la stabilité des amylases et phytases des graines de *Helianthus annuus*

Ce test a été effectué, conformément au protocole décrit précédemment, après traitement à 90°C pendant 1h (Figure 23).

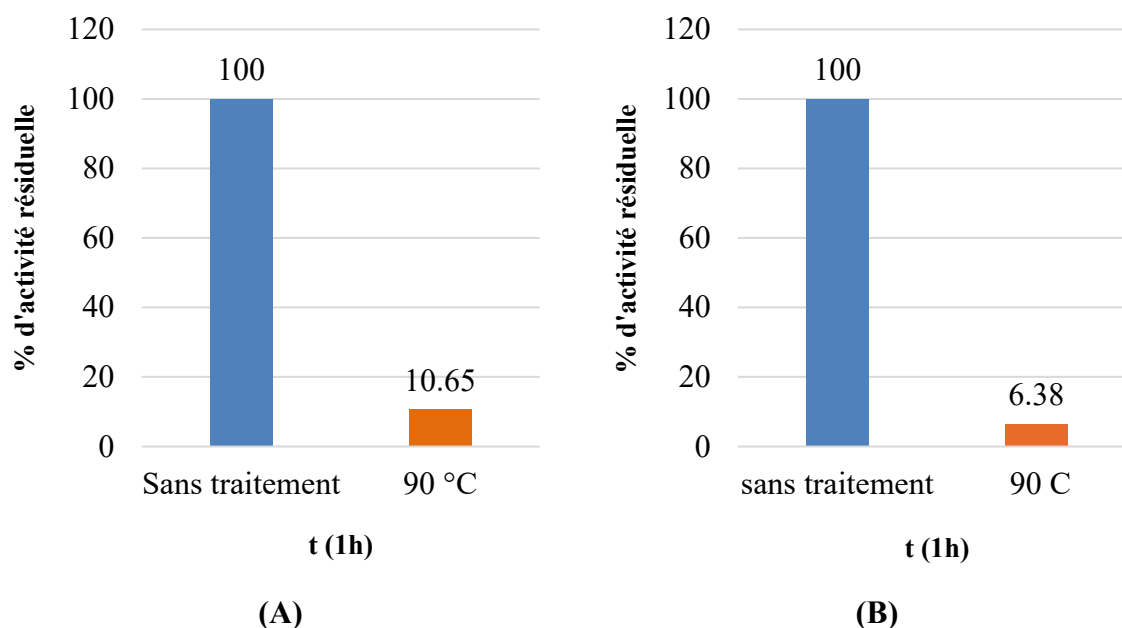


Figure 23 : Effet du traitement thermique sur la stabilité des amylases (A) et phytases (B) des graines de *Helianthus annuus*

Les résultats obtenus montrent que l'activité amylasique diminue après un traitement thermique à 90°C arrivant à $\approx 11\%$ d'activité résiduelle après ce traitement.

Les amylases des graines de *Helianthus annuus* présentent une diminution de leur activité après un traitement thermique à 90°C, traduisant une dénaturation partielle de l'enzyme et une altération de sa structure 3D, ce qui affecte sa capacité catalytique (Kumari et al., 2010 ; Singh et al., 2015).

Des observations similaires ont été rapportées des enzymes issues de graines telles que *Glycine max* (Soja), où une diminution de l'activité amylasique a été observée après exposition à des températures élevées (Kumari et al., 2010). De même, chez *Triticum aestivum* (Blé), une perte d'activité enzymatique a été signalée après traitement thermique, en raison de la déstabilisation des interactions faibles maintenant la structure de l'enzyme (Helland et al., 2002). Par ailleurs, une réduction marquée de l'activité de l' α -amylase après chauffage a également été rapportée dans des extraits enzymatiques de graines de *Oryza sativa* (Riz), confirmant la sensibilité thermique de cette enzyme (Sari, 2021).

Par rapport à ces résultats, ces enzymes peuvent être utilisées dans des applications industrielles à conditions modérées, notamment en agroalimentaire (hydrolyse de l'amidon, transformation des céréales, alimentation animale) ainsi que dans la production de sirops et autres procédés industriels (van der Maarel et al., 2002 ; Gupta et al., 2003 ; de Souza et de

Oliveira Magalhães, 2010). Leur activité résiduelle à 90°C permet leur utilisation dans des étapes comme la liquéfaction partielle de l'amidon. Cependant, leur thermostabilité limitée restreint leur emploi dans des procédés à haute température prolongée, où des amylases microbiennes plus thermostables sont préférées (Joshi et al., 2021 ; Eleni et Medhanit, 2021 ; Kong et al., 2021 ; Saeed et al., 2021 ; Tesfaye et al., 2025).

La production de (Pi) est plus fortement affectée par le traitement thermique arrivant à $\approx 6\%$ d'activité résiduelle après ce traitement. Cette baisse met en évidence un effet inhibiteur des températures élevées sur l'enzyme, traduisant une altération de son activité catalytique, ce qui confirme l'impact négatif de la température élevée sur le fonctionnement enzymatique.

Ainsi, ces résultats suggèrent que la phytase est sensible aux températures élevées, entraînant une dénaturation partielle voire importante de sa structure, ce qui réduit considérablement son activité enzymatique (Yadav et al., 2009).

Les phytases des graines de *Helianthus annuus* présentent une diminution de leur activité après un traitement thermique à des températures élevées, traduisant une dénaturation partielle de l'enzyme et une altération de sa structure tridimensionnelle, ce qui affecte sa capacité catalytique (Agostini et Ida, 2006). En effet, il est bien établi que les enzymes hydrolytiques issues d'extraits bruts de graines présentent une sensibilité aux températures élevées. Ainsi, des études ont montré qu'un traitement thermique élevé peut entraîner une diminution marquée de l'activité enzymatique en raison de la dénaturation de la structure 3D de l'enzyme (Fennema, 1996).

Par rapport à ces résultats, ces enzymes peuvent être utilisées dans des applications industrielles à conditions modérées, notamment en agroalimentaire (amélioration de la biodisponibilité du phosphore, réduction de l'acide phytique dans les céréales, alimentation animale) ainsi que dans la transformation des matières premières riches en phytate (Lei et al., 2013). Leur activité résiduelle après traitement à 90°C suggère une possible d'utilisation dans certaines étapes de traitement thermique modéré (Lei et al., 2013). Cependant, leur thermostabilité limitée restreint leur emploi dans des procédés à haute température prolongée, où des phytases microbiennes plus thermostables sont généralement préférées pour des applications industrielles intensives (Greiner et al., 2010 ; Venkataraman et al., 2024).

B. Effet du pH (HCl, NaOH) et NaCl sur la stabilité des amylases et phytases des graines de *Helianthus annuus*

➤ **Effet du pH (HCl, NaOH) sur la stabilité des amylases et phytases des graines de *Helianthus annuus***

Ce test a été effectué, conformément au protocole décrit précédemment, après traitement à pH (HCl, NaOH) pendant 1h (Figure 24).

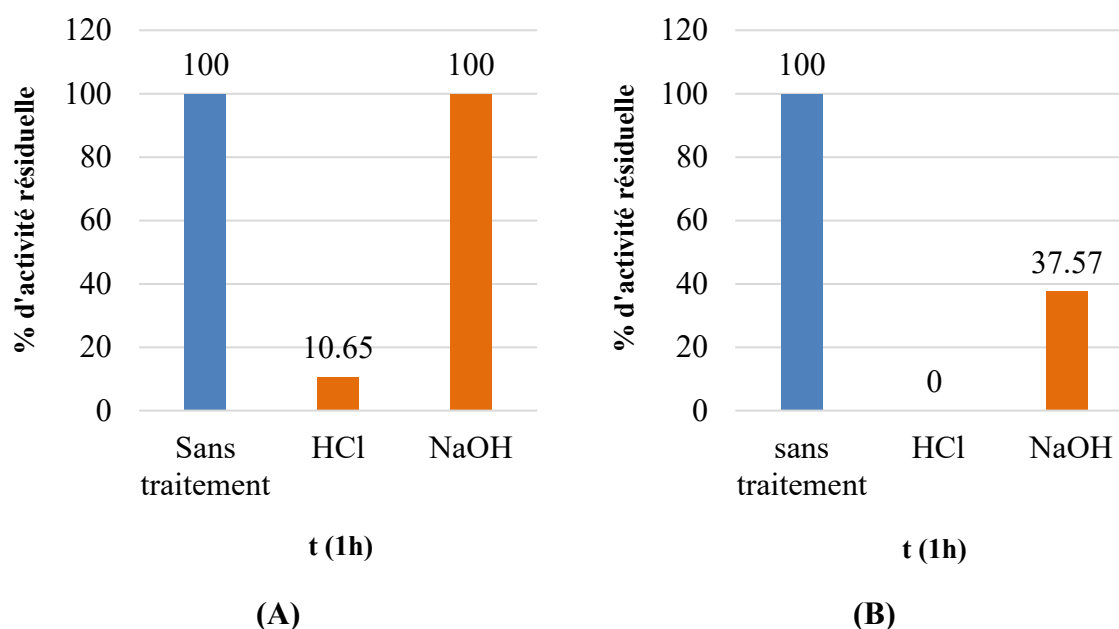


Figure 24 : Effet du pH (HCl, NaOH) sur la stabilité des amylases (A) et phytases (B) des graines de *Helianthus annuus*

Les résultats obtenus montrent que l'activité amylasique varie en fonction du traitement chimique appliqué. Après traitement par HCl, une diminution de l'activité est enregistrée (que 11% d'activité restante), traduisant un effet inhibiteur du milieu acide, dû à une protonation excessive des groupements fonctionnels impliqués dans la catalyse, entraînant une altération de la conformation de l'enzyme et de son site actif (Naik, 2016).

En revanche, en présence de NaOH, l'activité enzymatique est fortement maintenue (100%) et aucune diminution n'est observée, indiquant une meilleure stabilité de l'enzyme en milieu basique. Ces conditions permettent de préserver l'état d'ionisation optimal des résidus catalytiques et la structure 3D de l'enzyme (Singh et al., 2015).

Par rapport à ces résultats, les amylases extraites des graines de *Helianthus annuus* présentent un potentiel d'utilisation dans les industries fonctionnant à pH neutre à alcalin, notamment dans l'industrie des détergents (élimination des taches riches en amidon), (Gupta et al., 2003 ; Hmidet et al., 2009 ; Ugwuoji et al., 2023). L'industrie agroalimentaire (panification, brasserie, transformation des céréales et production de sirops de glucose) (van der Maarel et al.,

2002 ; de Souza et de Oliveira Magalhães, 2010; Kong et al., 2021), et l'alimentation animale (amélioration de la digestibilité des polysaccharides) (Bedford et Partridge, 2010 ; Adeola et Cowieson, 2011), grâce à leur bonne stabilité en milieu basique. Elles peuvent intervenir dans l'hydrolyse et la transformation de l'amidon, y compris lors d'étapes telles que la liquéfaction partielle (van der Maarel et al., 2002; Kong et al., 2021). De plus, la conservation d'une activité résiduelle en milieu acide ($\approx 11\%$) indique une certaine tolérance à ces conditions, ce qui permet d'envisager leur utilisation dans des procédés opérant à pH légèrement acide, tels que certaines étapes de transformation des aliments (fermentations, transformation des fruits ou des céréales acidifiés). Toutefois, leur efficacité y demeure inférieure à celle observée en milieu basique, en raison d'une altération partielle de la structure de l'enzyme et de son site actif (Gupta et al., 2003).

Par ailleurs, la production de phosphate inorganique (Pi) est également influencée par ces traitements. Aucune production de Pi n'est détectée après traitement par HCl, confirmant une inhibition totale en milieu acide. En présence de NaOH, une production modérée est enregistrée ($\approx 38\%$ d'activité résiduelle), suggérant une activité enzymatique partiellement maintenue en milieu basique.

Ainsi, ces résultats mettent en évidence que le milieu acide exerce un effet fortement inhibiteur sur l'activité des phytases tandis que le milieu basique n'a aucun effet. Pour la production de Pi le milieu acide exerce un effet fortement inhibiteur sur l'activité, tandis que le milieu basique permet de préserver, au moins en partie, l'activité enzymatique.

Cette propriété est particulièrement importante dans le cadre des applications industrielles. Les phytases sont largement utilisées dans l'industrie de l'alimentation animale afin d'améliorer la biodisponibilité du phosphore en hydrolysant les phytates présents dans les matières premières végétales, contribuant ainsi à la réduction des rejets phosphorés dans l'environnement (Handa et al., 2020 ; Jatuwong et al., 2020 ; Zhou et al., 2022). Pour ces applications, les enzymes doivent présenter une bonne stabilité dans des conditions de pH acide modéré, correspondant à celles du tractus digestif des animaux monogastriques, ainsi qu'une résistance aux conditions de procédé, notamment thermiques et enzymatiques (Nezhad et al., 2020). Par ailleurs, les phytases trouvent également des applications dans les industries agroalimentaires et biotechnologiques, en particulier dans les procédés de fermentation, où le contrôle du pH constitue un facteur clé pour optimiser et maintenir l'activité enzymatique (Jatuwong et al., 2020 ; Handa et al., 2020).

➤ **Effet du NaCl sur la stabilité des amylases et phytases des graines de *Helianthus annuus***

Ce test a été effectué, conformément au protocole décrit précédemment, après traitement à NaCl pendant 1h (Figure 25).

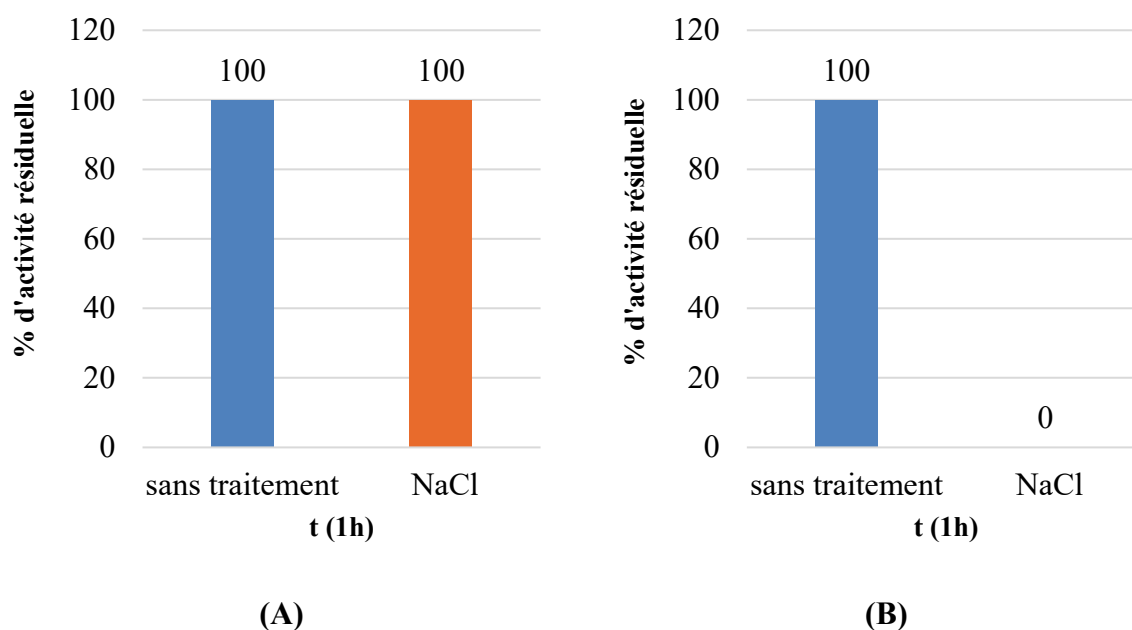


Figure 25 : Effet du NaCl sur la stabilité des amylases (A) et phytases (B) des graines de *Helianthus annuus*

Les résultats montrent que l'activité amylasique reste stable en présence de NaCl. En effet, aucune diminution de l'activité n'est observée après ce traitement avec du NaCl (100% d'activité maintenue). Ces observations indiquent que le NaCl n'a pas d'effet sur l'activité de l'amylase dans ces conditions expérimentales.

Par rapport à ces résultats, les amylases extraites des graines de *Helianthus annuus* présentent un intérêt pour des applications industrielles, grâce à leur tolérance à la présence de sels (Gupta et al., 2003). Bien que les procédés industriels tels que l'hydrolyse de l'amidon, la transformation des céréales, la fermentation (bioéthanol) ou l'alimentation animale n'impliquent pas nécessairement l'ajout de NaCl, la présence d'ions dans le milieu réactionnel est fréquente. (Van der Maarel et al., 2002; Gupta et al., 2003) Ainsi, la stabilité de l'enzyme en présence de NaCl constitue un avantage, garantissant le maintien de son activité dans des conditions industrielles variables (de Souza et de Oliveira Magalhães, 2010).

En revanche, la production de phosphate inorganique (Pi) est totalement affectée par la présence de NaCl. Aucune activité n'est détectée en présence de NaCl (0%). Cette absence totale de production indique un effet inhibiteur marqué du NaCl sur cette activité phytasique.

Par rapport à ces résultats, les phytases des graines de *Helianthus annuus* indiquent que l'activité phytasique est fortement inhibée en présence de NaCl, ce qui limite son utilisation dans des procédés industriels riches en sels, tout en la rendant adaptée à des applications en milieux faiblement ioniques, tels que certains procédés fermentaires et agroalimentaires (Lanciotti et al., 2004 ; Handa et al., 2020 ; Jatuwong et al., 2020 ; Zhou et al., 2022).

Par rapport aux résultats obtenus dans cette étude, l'analyse des activités antioxydantes (catalases et DPPH) de la solution des graines de *Helianthus annuus* apporte des informations complémentaires sur leur potentiel biologique. En effet, ces graines sont reconnues pour leur richesse en composés phénoliques, flavonoïdes et tocophérols, qui contribuent à leur activité antioxydante (Shahidi et Naczki, 2003 ; Zhongxiang et al., 2008).

Concernant les enzymes, les phytases et les amylases des graines de *Helianthus annuus* peuvent présenter des applications importantes dans plusieurs secteurs industriels. En alimentation animale, les phytases sont utilisées pour hydrolyser l'acide phytique et libérer le Pi, améliorant ainsi la biodisponibilité du phosphore et la croissance des animaux (Joudaki et al., 2023 ; Liu et al., 2023). Dans l'industrie agroalimentaire, elles interviennent dans la transformation des céréales et l'amélioration des propriétés nutritionnelles des aliments (Joudaki et al., 2023). Par ailleurs, ces enzymes jouent un rôle clé dans la valorisation des sous-produits agricoles en réduisant la concentration en phytate (Yassin et al., 2025). Les amylases peuvent également être exploitées dans la production de bioéthanol pour convertir l'amidon en sucres fermentescibles (Shetty et al., 2007). Enfin, les amylases peuvent être largement utilisées dans différentes industries pour l'hydrolyse des polysaccharides, notamment dans les formulations enzymatiques (Valente Junior et al., 2024).

Conclusion générale



Afin d'explorer les activités biologiques des graines de *Helianthus annuus*, une étude sur des activités antioxydantes (catalasique et de piégeage des radicaux libres) ainsi que sur des activités enzymatiques (amylasique et phytasique) a été réalisée.

Les résultats obtenus mettent en évidence une activité catalasique, caractérisée par une dégradation du H_2O_2 atteignant 1,22 mM/mg de protéines après 90 secondes d'incubation. Par ailleurs, l'évaluation du pouvoir antioxydant par le test DPPH révèle une capacité de piégeage des radicaux libres, avec un IC_{50} de 0,3055mg/mL, bien que cette valeur reste supérieure à celle de l'acide ascorbique ($IC_{50} = 0,0045$ mg/mL).

En ce qui concerne les activités enzymatiques, les extraits ont montré une activité amylasique correspondant à une hydrolyse d'environ 19,40 μ g d'amidon par mg de protéines dans des conditions optimales de 30°C et à pH neutre à légèrement alcalin (7-9). Cette activité apparaît sensible aux conditions physico-chimiques, notamment avec un effet inhibiteur des conditions salines et du traitement thermique, ainsi qu'une influence du milieu acide (HCl), alors que le milieu alcalin (NaOH) ne semble pas altérer l'activité enzymatique.

Par ailleurs, l'activité phytasique mesurée montre une libération de Pi d'environ 0,16 μ g/mg de protéines, avec des conditions optimales situées à 40°C et pH 5. Contrairement à l'amylase, cette enzyme présente une sensibilité marquée aux variations du milieu, notamment une inhibition en présence de NaCl et après traitement thermique (90°C), ainsi qu'un effet du NaOH, tandis que l'absence d'effet du HCl suggère une meilleure tolérance en milieu acide.

L'ensemble de ces résultats met en évidence une complémentarité entre les activités antioxydantes et enzymatiques des extraits de graines, tout en soulignant leur forte dépendance aux facteurs physico-chimiques. Cette variabilité reflète la sensibilité des enzymes aux conditions environnementales, ce qui constitue un paramètre clé pour toute valorisation appliquée.

Ainsi, les graines de *Helianthus annuus* apparaissent comme une source prometteuse de biomolécules d'intérêt, combinant des capacités antioxydantes et enzymatiques susceptibles d'être exploitées dans divers domaines industriels. Toutefois, une meilleure compréhension des mécanismes de stabilité et d'inhibition enzymatique demeure nécessaire pour optimiser leur utilisation.

Dans cette perspective, cette étude pourrait être approfondie par l'exploration d'autres types d'extraits (aqueux, méthanoliques ou éthanoliques), l'analyse détaillée des composés responsables de l'activité antioxydante, ainsi que par et la caractérisation des enzymes

impliquées. De plus, l'évaluation de leur potentiel d'application dans les secteurs industriels constituerait une voie de valorisation pertinente.

Références bibliographiques



Abdulfatah, H. F. (2023). *Non-enzymatic antioxidants in stressed plants: A review. Journal of University of Anbar for Pure Science, 16*, 25–37.

Abdullah, Mahmood, A., Bibi, S., Naqve, M., Javaid, M. M., Zia, M. A., Jabbar, A., Uddin, W., Attia, K. A., Khan, N., Al-Doss, A. A., & Fiaz, S. (2022). Physiological, biochemical, and yield responses of linseed (*Linum usitatissimum* L.) in α -tocopherol-mediated alleviation of salinity stress. *Frontiers in Plant Science, 13*, 867172.

Abeyrathne, E. D. N. S., Nam, K., Huang, X., & Ahn, D. U. (2022). Plant- and animal-based antioxidants' structure, efficacy, mechanisms, and applications: A review. *Antioxidants, 11*(5), 1025.

Adeleke, B. S., & Babalola, O. O. (2020). Oilseed crop sunflower (*Helianthus annuus*) as a source of food: Nutritional and health benefits. *Food Science & Nutrition, 8*(9), 4666–4684.

Adeola, O., & Cowieson, A. J. (2011). Board-invited review: Opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve nonruminant animal production. *Journal of Animal Science, 89*(10), 3189–3218.

Affrifah, N. S., Chinnan, M. S., & Fang, C. (2006). Modeling the thermal inactivation of phytase in steamed cowpea seeds. *LWT - Food Science and Technology, 39*(6), 598–604.

Agostini, J. da S., & Ida, E. I. (2006). Effect of sunflower germination conditions for reducing phytate content and to enhancing phytase and acid phosphatase activities. *Semina: Ciências Agrárias, 27*(1), 61–70.

Agostini, J. da S., & Ida, E. I. (2006). Partially characterization and application of phytase extracted from germinated sunflower seeds. *Pesquisa Agropecuária Brasileira, 41*(6), 1041–1047.

Agustini, R., & Herdyastuti, N. (2020). The study of amylase's reaction kinetics from soybean sprouts (*Glycine max* L.) in hydrolyzing starch. In *Proceedings of the International Joint Conference on Science and Engineering (IJCSE 2020)* (pp. 331–336). Atlantis Press.

Ahmad, M., Tahir, M., Hong, Z., Zia, M. A., Rafeeq, H., Ahmad, M. S., Rehman, S. U., & Sun, J. (2025). Plant and marine-derived natural products: Sustainable pathways for future drug discovery and therapeutic development. *Frontiers in Pharmacology, 15*, 1497668.

Ahmed, S., Jubair, A., Hossain, M. A., Hossain, M. M., Azam, M. S., & Biswas, M. (2021). Free radical-scavenging capacity and HPLC-DAD screening of phenolic compounds from pulp and seed of *Syzygium claviflorum* fruit. *Journal of Agriculture and Food Research, 6*, 100203.

- Alam, K., Mazumder, A., Sikdar, S., Zhao, Y.-M., Hao, J., Song, C., Wang, Y., Sarkar, R., Islam, S., Zhang, Y., & Li, A. (2022). *Streptomyces*: The biofactory of secondary metabolites. *Frontiers in Microbiology*, *13*, 968053.
- Alanazi, Y. F., Alrdahe, S. S., Moussa, Z., Darwish, D. B. E., Alrdahi, H., & Saber, W. I. A. (2025). Endophytic *Trichoderma asperellum* WNZ-21 produces novel bioactives with anticancer, anti-inflammatory, and hemoprotective properties from fermented bean biomass. *Frontiers in Microbiology*, *16*, 1609361.
- Albenzio, M., Santillo, A., Caroprese, M., Della Malva, A., & Marino, R. (2017). Bioactive peptides in animal food products. *Foods*, *6*(5), 35.
- Alexandrino, T. D., da Silva, M. G., Ferrari, R. A., Ruiz, A. L. T. G., Duarte, R. M. T., Simabuco, F. M., Bezerra, R. M. N., & Pacheco, M. T. B. (2021). Evaluation of some *in vitro* bioactivities of sunflower phenolic compounds. *Current Research in Food Science*, *4*, 662–669.
- Al-Haidari, A. M. D., Alsaadawi, I. S., & Khudhair, S. H. (2021). Determination the optimum conditions of the activity and stability of lipase extracted from sunflower germinated seeds. *Iraqi Journal of Science*, *62*(2), 431–440.
- Ali, H. M., Abo-Shady, A., Sharaf Eldeen, H. A., Soror, H. A., Shousha, W. G., Abdel-Barry, O. A., & Saleh, A. M. (2013). Structural features, kinetics and SAR study of radical scavenging and antioxidant activities of phenolic and anilinic compounds. *Chemistry Central Journal*, *7*(1).
- Ali, S., Khalil, A. A. K., Akhtar, M. S., Amin, A., & Zaman, W. (2026). Comprehensive insights into natural bioactive compounds: From chemical diversity and mechanisms to biotechnological innovations and applications. *ChemistryOpen*, *15*(4), e202500469.
- Almoselhy, R. I. M., Usmani, A., & Siddiqui, M. A. (2025). Evolution of chia seeds from ancient times to modern superfood. *Food Science & Nutrition Technology*, *10*(1).
- Altemimi, A., Lakhssassi, N., Baharlouei, A., Watson, D. G., & Lightfoot, D. A. (2017). Phytochemicals: Extraction, isolation, and identification of bioactive compounds from plant extracts. *Plants*, *6*(4), 42.
- Álvarez-Martínez, F. J., Barrajón-Catalán, E., Herranz-López, M., & Micol, V. (2021). Antibacterial plant compounds, extracts and essential oils: An updated review on their effects and putative mechanisms of action. *Phytomedicine*, *90*, 153626.
- Amarowicz, R. (2020). Legume seeds as an important component of human diet. *Foods*, *9*(12), 1812.

- Andriotis, V. M. E., & Ross, J. D. (2003). Isolation and characterisation of phytase from dormant *Corylus avellana* seeds. *Phytochemistry*, 64(3), 689–699.
- Ariza, A., Moroz, O. V., Blagova, E. V., Turkenburg, J. P., Waterman, J., Roberts, S. M., Vind, J., Sjøholm, C., Lassen, S. F., De Maria, L., Glitsoe, V., Skov, L. K., & Wilson, K. S. (2013). Degradation of phytate by the 6-phytase from *Hafnia alvei*: A combined structural and solution study. *PLOS ONE*, 8(5), e65062.
- Ashraf, M. Y., Sarwar, G., Ashraf, M., Afaf, R., & Sattar, A. (2002). Salinity induced changes in α -amylase activity during germination and early cotton seedling growth. *Biologia Plantarum*, 45(4), 589–591.
- Atamian, H. S., Creux, N. M., Brown, R. I., Garner, A. G., Blackman, B. K., & Harmer, S. L. (2016). Circadian regulation of sunflower heliotropism, floral orientation, and pollinator visits. *Science*, 353(6299), 587–590.
- Ban, X., Xie, X., Li, C., Gu, Z., Hong, Y., Cheng, L., Kaustubh, B., & Li, Z. (2021). The desirable salt bridges in amylases: Distribution, configuration and location. *Food Chemistry*, 354, 129475.
- Barba-Ostria, C., Carrera-Pacheco, S. E., Gonzalez-Pastor, R., Heredia-Moya, J., Mayorga-Ramos, A., Rodríguez-Pólit, C., Zúñiga-Miranda, J., Arias-Almeida, B., & Guamán, L. P. (2022). Evaluation of biological activity of natural compounds: Current trends and methods. *Molecules*, 27(14), 4490.
- Bar-Even, A., Noor, E., Savir, Y., Liebermeister, W., Davidi, D., Tawfik, D. S., & Milo, R. (2011). The moderately efficient enzyme: Evolutionary and physicochemical trends shaping enzyme parameters. *Biochemistry*, 50(21), 4402–4410.
- Barrett, J. J. (2021, June 1). *What is heliotropism?* West Virginia University Extension.
- Barros, M., Fleuri, L. F., & Macedo, G. A. (2010). Seed lipases: Sources, applications and properties—A review. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 27(1), 15–29.
- Batiha, G. E., Akhtar, N., Alsayegh, A. A., Abusudah, W. F., Almohmadi, N. H., Shaheen, H. M., Singh, T. G., & De Waard, M. (2022). Bioactive compounds, pharmacological actions, and pharmacokinetics of genus *Acacia*. *Molecules*, 27(21), 7340.
- Bedford, M. R., & Partridge, G. G. (2010). *Enzymes in farm animal nutrition* (2nd ed.). CABI.

- Benincasa, P., Falcinelli, B., Lutts, S., Stagnari, F., & Galieni, A. (2019). Sprouted grains: A comprehensive review. *Nutrients*, *11*(2), 421.
- Ben-Othman, S., Joudu, I., & Bhat, R. (2020). Bioactives from agri-food wastes: Present insights and future challenges. *Molecules*, *25*(3), 510.
- Bernfeld, P. (1955). [17] Amylases, α and β . In *Methods in Enzymology* (pp. 149–158). Elsevier.
- Bewley, J. D. (1997). Seed germination and dormancy. *The Plant Cell*, *9*(7), 1055–1066.
- Bhat, Z. F., Kumar, S., & Bhat, H. F. (2015). Bioactive peptides of animal origin: A review. *Journal of Food Science and Technology*, *52*(9), 5377–5392.
- Bhattacharya, S. (2020). Seeds as herbal drugs. In V. R. Preedy & R. R. Watson (Eds.), *Nuts and seeds in health and disease prevention* (2nd ed., pp. 471–483). Academic Press.
- Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organization Journal*, *5*(1), 9–19.
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, *181*(4617), 1199–1200.
- Bouyahya, A., Bakrim, S., Aboulaghras, S., El Kadri, K., Aanniz, T., Khalid, A., Abdalla, A. N., Abdallah, A. A., Ardianto, C., Ming, L. C., & El Omari, N. (2024). Bioactive compounds from nature: Antioxidants targeting cellular transformation in response to epigenetic perturbations induced by oxidative stress. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *174*, 116432.
- Boyer, P. D. (1997). The ATP synthase—A splendid molecular machine. *Annual Review of Biochemistry*, *66*(1), 717–749.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, *72*(1–2), 248–254.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, *28*(1), 25–30.
- Cádiz-Gurrea, M. L., Villegas-Aguilar, M. D. C., Leyva-Jiménez, F. J., Pimentel-Moral, S., Fernández-Ochoa, Á., Alañón, M. E., & Segura-Carretero, A. (2020). Revalorization of bioactive compounds from tropical fruit by-products and industrial applications by means of sustainable approaches. *Food Research International*, *138*(Pt B), 109786.

- Caetano, B. (2023). Enzyme catalytic mechanisms: Unlocking the secrets of biological catalysts. *Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 6, 193.
- Cantúa-Ayala, J. A., Borbón-Gracia, A., Marroquín-Morales, J. Á., & Castillo-Torres, N. (2025). Assessment of sunflower hybrid yield in southern Sonora. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 16(7).
- Carocho, M., Morales, P., & Ferreira, I. C. F. R. (2018). Antioxidants: Reviewing the chemistry, food applications, legislation and role as preservatives. *Trends in Food Science & Technology*, 71, 107–120.
- Carr, A. C., & Maggini, S. (2017). Vitamin C and immune function. *Nutrients*, 9(11), 1211.
- Castro, C., & Leite, R. M. V. B. C. (2018). Main aspects of sunflower production in Brazil. *OCL*, 25(1), D104.
- Çetinbaş-Genç, A., & Ünal, M. (2012). Comparative ontogeny of hermaphrodite and pistillate florets in *Helianthus annuus* L. (Asteraceae). *Notulae Scientia Biologicae*, 4(2), 30–40.
- Chagas, M. D. S. S., Behrens, M. D., Moragas-Tellis, C. J., Penedo, G. X. M., Silva, A. R., & Gonçalves-de-Albuquerque, C. F. (2022). Flavonols and flavones as potential anti-inflammatory, antioxidant, and antibacterial compounds. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2022, 9966750.
- Chandra, P., Sharma, R. K., & Arora, D. S. (2020). Antioxidant compounds from microbial sources: A review. *Food Research International*, 129, 108849.
- Chapman, J., Ismail, A. E., & Dinu, C. Z. (2018). Industrial applications of enzymes: Recent advances, techniques, and outlooks. *Catalysts*, 8(6), 238.
- Charlton, N. C., Mastuygin, M., Török, B., & Török, M. (2023). Structural features of small molecule antioxidants and strategic modifications to improve potential bioactivity. *Molecules*, 28(3), 1057.
- Chase, M. W., Christenhusz, M. J. M., Fay, M. F., Byng, J. W., Judd, W. S., Soltis, D. E., Mabberley, D. J., Sennikov, A. N., Soltis, P. S., & Stevens, P. F. (2016). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 181(1), 1–20.

- Chaudhary, S., Jain, S., Agarwal, J., Prajapati, A., & Shrivastava, S. (2026). Production of industrial enzymes. In A. Kumari, S. Shrivastava, A. Pandey, & M. Taherzadeh (Eds.), *Sustainable technologies for value addition to biomass waste* (pp. 483–501). Elsevier.
- Chelikani, P., Fita, I., & Loewen, P. C. (2004). Diversity of structures and properties among catalases. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 61(2), 192–208.
- Chen, L., Teng, H., Jia, Z., Battino, M., Miron, A., Yu, Z., Cao, H., & Xiao, J. (2018). Intracellular signaling pathways of inflammation modulated by dietary flavonoids: The most recent evidence. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(17), 2908–2924.
- Chen, S., Wang, X., Cheng, Y., Gao, H., & Chen, X. (2023). A review of classification, biosynthesis, biological activities and potential applications of flavonoids. *Molecules*, 28(13), 4982.
- Chimenti, C. A., Hall, A. J., & Sol López, M. (2001). Embryo-growth rate and duration in sunflower as affected by temperature. *Field Crops Research*, 69(1), 81–88.
- Choe, E., & Min, D. B. (2006). Mechanisms and factors for edible oil oxidation. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5(4), 169–186.
- Cooper, G. M. (2000). *The cell: A molecular approach* (2nd ed.). Sinauer Associates.
- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564–582.
- Csire, G., Canabady-Rochelle, L., Averlant-Petit, M.-C., Selmeczi, K., & Stefan, L. (2020). Both metal-chelating and free radical-scavenging synthetic pentapeptides as efficient inhibitors of reactive oxygen species generation. *Metallomics*, 12(8), 1220–1229.
- Dabeer, S., Rather, M. A., Rasool, S., Rehman, M. U., Alshahrani, S., Jahan, S., Rashid, H., Halawi, M., & Khan, A. (2022). History and traditional uses of black seeds (*Nigella sativa*). In A. Khan & M. Rehman (Eds.), *Black seeds (Nigella sativa)* (pp. 1–28). Elsevier.
- Daud, N. M., Putra, N. R., Jamaludin, R., Norodin, N. S. M., Sarkawi, N. S., Hamzah, M. H. S., Nasir, H. M., Zaidel, D. N. A., Che Yunus, M. A., & Salleh, L. M. (2022). Valorisation of plant seed as natural bioactive compounds by various extraction methods: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 119, 201–214.
- Davidova, S., Galabov, A. S., & Satchanska, G. (2024). Antibacterial, antifungal, antiviral activity, and mechanisms of action of plant polyphenols. *Microorganisms*, 12(12), 2502.

Day, L. (2013). Proteins from land plants—Potential resources for human nutrition and food security. *Trends in Food Science & Technology*, 32(1), 25–42.

de la Lastra, J. M. P., Andrés, C. M. C., Munguira, E. B., Juan, C. A., & Pérez-Lebeña, E. (2026). Pathophysiology of reactive oxygen species (ROS). *Archives of Toxicology*, 100(2), 475–513.

de Souza, P. M., & de Oliveira Magalhães, P. (2010). Application of microbial α -amylase in industry—A review. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41(4), 850–861.

de Souza, P. M., Bittencourt, M. L., Caprara, C. C., de Freitas, M., de Almeida, R. P., Silveira, D., Fonseca, Y. M., Ferreira Filho, E. X., Pessoa Junior, A., & Magalhães, P. O. (2015). A biotechnology perspective of fungal proteases. *Brazilian Journal of Microbiology*, 46(2), 337–346.

Debaeke, P., Casadebaig, P., & Langlade, N. B. (2021). New challenges for sunflower ideotyping in changing environments and more ecological cropping systems. *OCL*, 28, 29.

Ding, D.-S., Patel, A. K., Singhanian, R. R., Chen, C.-W., & Dong, C.-D. (2022). Effects of temperature and salinity on growth, metabolism and digestive enzymes synthesis of *Goniopora columna*. *Biology*, 11(3), 436.

Dodson, G. (1998). Catalytic triads and their relatives. *Trends in Biochemical Sciences*, 23(9), 347–352.

Echave, J., Pereira, A. G., Carpena, M., Prieto, M. Á., & Simal-Gandara, J. (2020). *Capsicum* seeds as a source of bioactive compounds: Biological properties, extraction systems, and industrial application. In *Capsicum*. IntechOpen.

Egli, I., Davidsson, L., Juillerat, M.-A., Barclay, D., & Hurrell, R. F. (2002). The influence of soaking and germination on the phytase activity and phytic acid content of grains and seeds potentially useful for complementary feeding. *Journal of Food Science*, 67, 3484–3488.

Eleni Belay, & Medhanit Teshome. (2021). Production of bacterial amylase and evaluation for starch hydrolysis. *International Journal of Microbiology and Biotechnology*, 6(2), 34–44.

Elomaa, P., Zhao, Y., & Zhang, T. (2018). Flower heads in Asteraceae—Recruitment of conserved developmental regulators to control the flower-like inflorescence architecture. *Horticulture Research*, 5(1).

- El-Saadony, M. T., Yang, T., Saad, A. M., Alkafaas, S. S., Elkafas, S. S., Eldeeb, G. S., Mohammed, D. M., Salem, H. M., Korma, S. A., Loutfy, S. A., Alshahran, M. Y., Ahmed, A. E., Mosa, W. F. A., Abd El-Mageed, T. A., Ahmed, A. F., Fahmy, M. A., El-Tarabily, M. K., Mahmoud, R. M., AbuQamar, S. F., El-Tarabily, K. A., & Lorenzo, J. M. (2024). Polyphenols: Chemistry, bioavailability, bioactivity, nutritional aspects and human health benefits: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 277(Part 3), 134223.
- El-Saadony, M. T., Saad, A. M., Mohammed, D. M., Alkafaas, S. S., Abd El-Mageed, T. A., Fahmy, M. A., Ahmed, A. E., Algopishi, U. B., Abu-Elsaoud, A. M., Mosa, W. F. A., AbuQamar, S. F., & El-Tarabily, K. A. (2025). Plant bioactive compounds: Extraction, biological activities, immunological and nutritional aspects, food applications, and human health benefits—A comprehensive review. *Frontiers in Nutrition*, 12, 1659743.
- Elsalam, R. M., Goh, K. W., Mahadi, M., Mohammad, N., Kassab, Y. W., Mohamad Zin, N., & Chin, K.-Y. (2022). The antibacterial activities of secondary metabolites derived from *Streptomyces* sp. *Progress in Microbes & Molecular Biology*, 5(1).
- Evrard, J. (2005). Les tourteaux d'oléagineux, source de protéines en alimentation animale. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*, 12(3), 224–227.
- Fatema, F., Khan, Z. H., Khan, N. D., & Mular, S. M. (2017). Determination of amylase activity from germinated *Syzygiumcumini* seed (jamun). *International Journal of Applied Research*, 3(1), 573-575.
- Favas, R., Monteiro, M., Almeida, H., Ferreira, D., Peixoto, A. F., & Silva, A. C. (2026). Marine bioactive compounds: Sustainable sources, green extraction, and healthcare applications. *Chinese Chemical Letters*, 37(6), 111482.
- Fennema, O. R. (1996). *Food chemistry* (3rd ed.). Marcel Dekker.
- Ferreira, A. M., & Abreu, F. G. (2001). Description of development, light interception and growth of sunflower at two sowing dates and two densities. *Mathematics and Computers in Simulation*, 56(4–5), 369–384.
- Fischer, E. (1894). Einfluss der Configuration auf die Wirkung der Enzyme. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, 27, 2985–2993.
- Francenia Santos-Sánchez, N., Salas-Coronado, R., Villanueva-Cañongo, C., & Hernández-Carlos, B. (2019). Antioxidant compounds and their antioxidant mechanism. In *Antioxidants*. IntechOpen.

- Fretzdorff, B., & Weipert, D. (1986). Phytinsäure in Getreide und Getreideerzeugnissen. Mitteilung I: Phytinsäure und Phytase in Roggen und Roggenprodukten [Phytic acid in cereals and cereal products. I: Phytic acid and phytase in rye and rye products]. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung*, 182(4), 287–293.
- Fridovich, I. (1998). Oxygen toxicity: A radical explanation. *The Journal of Experimental Biology*, 201(Pt 8), 1203–1209.
- Gallo, G., & Martino, G. (2009). Red blood cell glutathione peroxidase activity in female nulligravid and pregnant rats. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 7, 7.
- Giannini, V., Maucieri, C., Vamerali, T., Zanin, G., Schiavon, S., Pettenella, D. M., Bona, S., & Borin, M. (2022). Sunflower: From Cortuso's description (1585) to current agronomy, uses and perspectives. *Agriculture*, 12(12), 1978.
- Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(12), 909–930.
- Miliauskas, G., Venskutonis, P. R., & van Beek, T. A. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*, 85(2), 231–237.
- González-Pérez, S., & Vereijken, J. M. (2007). Sunflower proteins: Overview of their physicochemical, structural and functional properties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(12), 2173–2191.
- Greiner, R., & Konietzny, U. (2010). Phytases: Biochemistry, enzymology and characteristics relevant to animal feed use. In *Enzymes in Farm Animal Nutrition* (2nd ed., pp. 96–128).
- Grieshaber, D., MacKenzie, R., Vörös, J., & Reimhult, E. (2008). Electrochemical biosensors—Sensor principles and architectures. *Sensors*, 8(3), 1400–1458.
- Guerrand, D. (2017). Lipases industrial applications: Focus on food and agroindustries. *OCL*, 24(4), D403.
- Gulcin, İ. (2025). Antioxidants: A comprehensive review. *Archives of Toxicology*, 99(5), 1893–1997.
- Guo, S., Ge, Y., & Na Jom, K. (2017). A review of phytochemistry, metabolite changes, and medicinal uses of the common sunflower seed and sprouts (*Helianthus annuus* L.). *Chemistry Central Journal*, 11(1), 95.

- Gupta, R. K., Gangoliya, S. S., & Singh, N. K. (2013). Reduction of phytic acid and enhancement of bioavailable micronutrients in food grains. *Journal of Food Science and Technology*, 52(2), 676–684.
- Gupta, R., Gigras, P., Mohapatra, H., Goswami, V. K., & Chauhan, B. (2003). Microbial α -amylases: A biotechnological perspective. *Process Biochemistry*, 38(11), 1599–1616.
- Hajam, Y. A., Rani, R., Ganie, S. Y., Sheikh, T. A., Javaid, D., Qadri, S. S., Pramodh, S., Alsulimani, A., Alkhanani, M. F., Harakeh, S., Hussain, A., Haque, S., & Reshi, M. S. (2022). Oxidative stress in human pathology and aging: Molecular mechanisms and perspectives. *Cells*, 11(3), 552.
- Halliwell, B. (2024). Understanding mechanisms of antioxidant action in health and disease. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 25, 13–33.
- Handa, V., Sharma, D., Kaur, A., & Arya, S. K. (2020). Biotechnological applications of microbial phytase and phytic acid in food and feed industries. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 25, 101600.
- Hasan, F., Shah, A. A., & Hameed, A. (2006). Industrial applications of microbial lipases. *Enzyme and Microbial Technology*, 39(2), 235–251.
- Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. H. M. B., Zulfiqar, F., Raza, A., Mohsin, S. M., Mahmud, J. A., Fujita, M., & Fotopoulos, V. (2020). Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator. *Antioxidants*, 9(8), 681.
- He, L., He, T., Farrar, S., Ji, L., Liu, T., & Ma, X. (2017). Antioxidants maintain cellular redox homeostasis by elimination of reactive oxygen species. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 44(2), 532–553.
- Helland, M. H., Wicklund, T., & Narvhus, J. A. (2002). Effect of germination time on α -amylase production and viscosity of maize porridge. *Food Research International*, 35(2–3), 315–321.
- Hepel, M., & Andreescu, S. (2015). Oxidative stress and human health. In *Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention, and Therapy* (Vol. 2, ACS Symposium Series, Vol. 1200, pp. 1–33). American Chemical Society.

- Hewezi, T., Léger, M., & Gentzbittel, L. (2008). A comprehensive analysis of the combined effects of high light and high temperature stresses on gene expression in sunflower. *Annals of Botany*, 102(1), 127–140.
- Hite, D. R., Auh, C., & Scandalios, J. G. (1999). Catalase activity and hydrogen peroxide levels are inversely correlated in maize scutella during seed germination. *Redox Report*, 4(1–2), 29–34.
- Hmidet, N., El-Hadj Ali, N., Haddar, A., Kanoun, S., Alya, S. K., & Nasri, M. (2009). Alkaline proteases and amylases from *Bacillus licheniformis* NH1: Potential application as detergent additives. *Biochemical Engineering Journal*, 47(1–3), 71–79.
- Hu, M., Li, L., Sui, Y., Li, J., Wang, Y., Lu, W., & Dupont, S. (2015). Effect of pH and temperature on antioxidant responses of the thick shell mussel *Mytilus coruscus*. *Fish & Shellfish Immunology*, 46(2), 573–583.
- Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 1841–1856.
- Hussain, M., Farooq, S., Hasan, W., Ul-Allah, S., Tanveer, M., Farooq, M., & Nawaz, A. (2018). Drought stress in sunflower: Physiological effects and its management through breeding and agronomic alternatives. *Agricultural Water Management*, 201, 152–166.
- Ibba, M., & Söll, D. (2000). Aminoacyl-tRNA synthesis. *Annual Review of Biochemistry*, 69(1), 617–650.
- Ighodaro, O. M., & Akinloye, O. A. (2018). First line defence antioxidants—Superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*, 54(4), 287–293.
- International Union of Biochemistry and Molecular Biology International Union of Biochemistry. (1961). *Report of the Commission on Enzymes*. Pergamon Press.
- International Union of Biochemistry and Molecular Biology International Union of Biochemistry and Molecular Biology. (2018). *EC 7 translocases*.
- aeger, K.-E., & Eggert, T. (2002). Lipases for biotechnology. *Current Opinion in Biotechnology*, 13(4), 390–397.

- Jatuwong, K., Suwannarach, N., Kumla, J., Penkhrue, W., Kakumyan, P., & Lumyong, S. (2020). Bioprocess for production, characteristics, and biotechnological applications of fungal phytases. *Frontiers in Microbiology*, *11*, 188.
- Jegannathan, K. R., & Nielsen, P. H. (2013). Environmental assessment of enzyme use in industrial production—A literature review. *Journal of Cleaner Production*, *42*, 228–240.
- Jeong, H., Tombor, B., Albert, R., Oltvai, Z. N., & Barabási, A.-L. (2000). The large-scale organization of metabolic networks. *Nature*, *407*(6804), 651–654.
- Jomova, K., Alomar, S. Y., Alwasel, S. H., Alhazza, I. M., Alghanem, A. F., Rhodes, C. J., Valko, M., & Kuča, K. (2024). Several lines of antioxidant defense against oxidative stress: Antioxidant enzymes, nanomaterials with multiple enzyme-mimicking activities, and low-molecular-weight antioxidants. *Archives of Toxicology*, *98*, 1323–1367.
- Joudaki, H., Aria, N., Moravej, R., et al. (2023). Microbial phytases: Properties and applications in the food industry. *Current Microbiology*, *80*, 374.
- Juan, C. A., Pérez de la Lastra, J. M., Plou, F. J., & Pérez-Lebeña, E. (2021). The chemistry of reactive oxygen species (ROS) revisited: Outlining their role in biological macromolecules (DNA, lipids and proteins) and induced pathologies. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(9), 4642.
- Kafka, A., Wieczorek, D., Żyszka-Haberecht, B., & Lipok, J. (2023). Metabolic study of cucumber seeds and seedlings in the light of the new, controversial trend of preventive use of systemic fungicides. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(6), 5554.
- Kalimuthu, R., Meenachi Sellan, K., Antony, D., Rajaprakasam, S., Chokkalingam, V., Chidambaram, P., & Kanagarajan, S. (2023). Nanoprimering action of microwave-assisted biofunctionalized ZnO nanoparticles to enhance the growth under moisture stress in *Vigna radiata*. *ACS Omega*, *8*(31), 28143–28155.
- Kalsi, H. K., Singh, R., Dhaliwal, H. S., & Kumar, V. (2016). Phytases from *Enterobacter* and *Serratia* species with desirable characteristics for food and feed applications. *3 Biotech*, *6*(1).
- Karamać, M., Kosińska, A., Estrella, I., Hernández, T., & Dueñas, M. (2012). Antioxidant activity of phenolic compounds identified in sunflower seeds. *European Food Research and Technology*, *235*, 221–230.
- Kedare, S. B., & Singh, R. P. (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology*, *48*(4), 412–422.

- Keilin, D., & Hartree, E. F. (1943). Decomposition of hydrogen peroxide by catalase. *Nature*, 152(3865), 626–626.
- Kirk, O., Borchert, T. V., & Fuglsang, C. C. (2002). Industrial enzyme applications. *Current Opinion in Biotechnology*, 13(4), 345–351.
- Kissman, E. N., Sosa, M. B., Millar, D. C., et al. (2024). Expanding chemistry through *in vitro* and *in vivo* biocatalysis. *Nature*, 631, 37–48.
- Apel, K., & Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology*, 55, 373–399.
- Koçak, M. Z. (2024). Phenolic compounds, fatty acid composition, and antioxidant activities of some flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) varieties: A comprehensive analysis. *Processes*, 12(4), 689.
- Kong, H., Yu, L., Gu, Z., Li, Z., Ban, X., Cheng, L., Hong, Y., & Li, C. (2021). Fine structure impacts highly concentrated starch liquefaction process and product performance. *Industrial Crops and Products*, 164, 113347.
- Kongsamai, B., Junjerm, J., & Promdang, S. (2010). Seed alpha-tocopherol and oil content in sunflower (*Helianthus annuus* L.) inbreds, open-pollinated varieties and commercial hybrids. *Thai Agricultural Research Journal*, 28(3), 317.
- Konietzny, U., & Greiner, R. (2002). Molecular and catalytic properties of phytate-degrading enzymes (phytases). *International Journal of Food Science and Technology*, 37(7), 791–812.
- Koshland, D. E., Jr. (1958). Application of a theory of enzyme specificity to protein synthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 44(2), 98–104.
- Kumari, A., Singh, V. K., Fitter, J., Polen, T., & Kayastha, A. M. (2010). α -Amylase from germinating soybean (*Glycine max*) seeds—Purification, characterization and sequential similarity of conserved and catalytic amino acid residues. *Phytochemistry*, 71(14–15), 1657–1666.
- Kurutas, E. B. (2016). The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: Current state. *Nutrition Journal*, 15(1), 71.
- Lanciotti, R., Gianotti, A., Patrignani, F., Belletti, N., Guerzoni, M. E., & Gardini, F. (2004). Use of natural aroma compounds to improve shelf-life and safety of minimally processed fruits. *Trends in Food Science & Technology*, 15(3–4), 201–208.

- Le Gal, K., Schmidt, E. E., & Sayin, V. I. (2021). Cellular redox homeostasis. *Antioxidants*, *10*(9), 1377.
- Le, T. T., Ropars, A., Aymes, A., Fripiat, J. P., & Kapel, R. (2021). Multicriteria optimization of phenolic compounds capture from a sunflower protein isolate production process by-product by adsorption column and assessment of their antioxidant and anti-inflammatory effects. *Foods*, *10*(4), 760.
- Lei, X. G., & Porres, J. M. (2003). Phytase enzymology, applications, and biotechnology. *Biotechnology Letters*, *25*(21), 1787–1794.
- Lei, X. G., Weaver, J. D., Mullaney, E., Ullah, A. H., & Azain, M. J. (2013). Phytase, a new life for an “old” enzyme. *Annual Review of Animal Biosciences*, *1*, 283–309.
- Lemes, A. C., Egea, M. B., Oliveira Filho, J. G., Gautério, G. V., Ribeiro, B. D., & Coelho, M. A. Z. (2022). Biological approaches for extraction of bioactive compounds from agro-industrial by-products: A review. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, *9*, 802543.
- Leyane, T. S., Jere, S. W., & Houreld, N. N. (2022). Oxidative stress in ageing and chronic degenerative pathologies: Molecular mechanisms involved in counteracting oxidative stress and chronic inflammation. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(13), 7273.
- Li, H.-T., Luo, Y., Gan, L., Ma, P.-F., Gao, L.-M., Yang, J.-B., et al. (2021). Plastid phylogenomic insights into relationships of all flowering plant families. *BMC Biology*, *19*, 232.
- Li, S., Yang, X., Yang, S., Zhu, M., & Wang, X. (2012). Technology prospecting on enzymes: Application, marketing and engineering. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, *2*, e201209017.
- Li, Z., Xiang, F., Huang, X., Liang, M., Ma, S., Gafurov, K., Gu, F., Guo, Q., & Wang, Q. (2024). Properties and characterization of sunflower seeds from different varieties of edible and oil sunflower seeds. *Foods*, *13*(8), 1188.
- Littlechild, J. A. (2015). Enzymes from extreme environments and their industrial applications. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, *3*, 161.
- Liu, F., Li, J., Ni, H., Azad, M. A. K., Mo, K., & Yin, Y. (2023). The effects of phytase and non-starch polysaccharide-hydrolyzing enzymes on trace element deposition, intestinal morphology, and cecal microbiota of growing-finishing pigs. *Animals*, *13*(4), 549.

- Liu, L., Xia, W., Li, H., Zeng, H., Wei, B., Han, S., & Yin, C. (2018). Salinity inhibits rice seed germination by reducing α -amylase activity via decreased bioactive gibberellin content. *Frontiers in Plant Science*, 9, 275.
- Liu, X.-S., Gao, B., Li, X.-L., Li, W.-N., Qiao, Z.-A., & Han, L. (2020). Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of essential oil of sunflower (*Helianthus annuus* L.) receptacle. *Molecules*, 25(22), 5244.
- López-García, G., Dublan-García, O., Arizmendi-Cotero, D., & Gómez Oliván, L. M. (2022). Antioxidant and antimicrobial peptides derived from food proteins. *Molecules*, 27(4), 1343.
- Lorenz, K. (1980). Enzyme activities in ‘non-oilseed’ sunflowers and sunflower products (variety greystripe). *Food Chemistry*, 5(2), 155–161.
- Lu, C., Song, G., & Lin, J.-M. (2006). Reactive oxygen species and their chemiluminescence detection methods. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 25(10), 985–995.
- Lü, J. M., Lin, P. H., Yao, Q., & Chen, C. (2010). Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: Experimental approaches and model systems. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 14(4), 840–860.
- Mahmoudi, M., Abdellaoui, R., Boughalleb, F., Yahia, B., Mabrouk, M., & Nasri, N. (2021). Characterization of lipids, proteins, and bioactive compounds in the seeds of three *Astragalus* species. *Food Chemistry*, 339, 127824.
- Malaguti, M., Dinelli, G., Leoncini, E., Bregola, V., Bosi, S., Cicero, A., & Hrelia, S. (2014). Bioactive peptides in cereals and legumes: Agronomical, biochemical and clinical aspects. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(11), 21120–21135.
- Marengo, B., Nitti, M., Furfaro, A. L., Colla, R., Ciucis, C. D., Marinari, U. M., Pronzato, M. A., Traverso, N., & Domenicotti, C. (2016). Redox homeostasis and cellular antioxidant systems: Crucial players in cancer growth and therapy. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 6235641.
- Marreiros, B. C., Calisto, F., Castro, P. J., Duarte, A. M., Sena, F. V., Silva, A. F., Sousa, F. M., Teixeira, M., Refojo, P. N., & Pereira, M. M. (2016). Exploring membrane respiratory chains. *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics*, 1857(8), 1039–1067.
- Marsh, J. J., & Lebherz, H. G. (1992). Fructose-bisphosphate aldolases: An evolutionary history. *Trends in Biochemical Sciences*, 17(3), 110–113.

- Matin, M., Koszarska, M., Atanasov, A. G., Król-Szmajda, K., Jóźwik, A., Stelmasiak, A., & Hejna, M. (2024). Bioactive potential of algae and algae-derived compounds: Focus on anti-inflammatory, antimicrobial, and antioxidant effects. *Molecules*, 29(19), 4695.
- McKie, V. A., & McCleary, B. V. (2016). A novel and rapid colorimetric method for measuring total phosphorus and phytic acid in foods and animal feeds. *Journal of AOAC International*, 99(3), 738–743.
- Mehrabi, Z., Pironon, S., Kantar, M., Ramankutty, N., & Rieseberg, L. (2019). Shifts in the abiotic and biotic environment of cultivated sunflower under future climate change. *OCL*, 26, 9.
- Mehta, D., & Satyanarayana, T. (2016). Bacterial and archaeal α -amylases: Diversity and amelioration of the desirable characteristics for industrial applications. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1129.
- Mehta, P. K., Hale, T. I., & Christen, P. (1993). Aminotransferases: Demonstration of homology and division into evolutionary subgroups. *European Journal of Biochemistry*, 214(2), 549–561.
- Mensor, L. L., Menezes, F. S., Leitão, G. G., Reis, A. S., dos Santos, T. C., Coube, C. S., & Leitão, S. G. (2001). Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytotherapy Research*, 15(2), 127–130.
- Mercedes, P., Dulhoste, S., Ribot, F., Pehau-Arnaudet, G., Bouvet, O. M. M., Livage, J., & Nassif, N. (2023). Bacteria metabolic adaptation to oxidative stress: The case of silica. *Journal of Biotechnology*, 374, 80–89.
- Merino, N., Aronson, H. S., Bojanova, D. P., Feyhl-Buska, J., Wong, M. L., Zhang, S., & Giovannelli, D. (2019). Living at the extremes: Extremophiles and the limits of life in a planetary context. *Frontiers in Microbiology*, 10.
- Michiels, C., Raes, M., Toussaint, O., & Remacle, J. (1994). Importance of Se-glutathione peroxidase, catalase, and Cu/Zn-SOD for cell survival against oxidative stress. *Free Radical Biology & Medicine*, 17(3), 235–248.
- Mitropoulou, G., Stavropoulou, E., Vaou, N., Tsakris, Z., Voidarou, C., Tsiotsias, A., Tsigalou, C., Taban, B. M., Kourkoutas, Y., & Bezirtzoglou, E. (2023). Insights into antimicrobial and anti-inflammatory applications of plant bioactive compounds. *Microorganisms*, 11(5), 1156.

- Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 7(9), 405–410.
- Mohanty, D. P., Mohapatra, S., Misra, S., & Sahu, P. S. (2016). Milk derived bioactive peptides and their impact on human health—A review. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 23(5), 577–583.
- Mohanty, D., Jena, R., Choudhury, P. K., Pattnaik, R., Mohapatra, S., & Saini, M. R. (2016). Milk derived antimicrobial bioactive peptides: A review. *International Journal of Food Properties*, 19(4), 837–846.
- Muñoz, N., Liu, A., Kan, L., Li, M. W., & Lam, H. M. (2017). Potential uses of wild germplasms of grain legumes for crop improvement. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(2), 328.
- Murru, M., & Calvo, C. L. (2020). Sunflower protein enrichment. Methods and potential applications. *OCL*, 27, 17.
- Muscolo, A., Mariateresa, O., Giulio, T., & Mariateresa, R. (2024). Oxidative stress: The role of antioxidant phytochemicals in the prevention and treatment of diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(6), 3264.
- Mushtaq, S., Abbasi, B. H., Uzair, B., & Abbasi, R. (2018). Natural products as reservoirs of novel therapeutic agents. *EXCLI Journal*, 17, 420–451.
- Mutha, R. E., Tatiya, A. U., & Surana, S. J. (2021). Flavonoids as natural phenolic compounds and their role in therapeutics: An overview. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7(1).
- Nabloussi, A., & El Fechtali, M. (2018, April 16). *Performance et qualité des semences de cultivars de tournesols marocains et espagnols utilisés pour la grignotine ou graines de bouche*. Magazine INRA Meknès.
- Naik, P. (2016). *Essentials of biochemistry*. Jaypee Brothers Medical Publishers.
- Nandha, R., Singh, H., Garg, K., & Rani, S. (2014). Therapeutic potential of sunflower seeds: An overview. *International Journal of Research and Development in Pharmacy & Life Sciences*, 3(3), 967–972.
- Nasr, A. I., Mohamed Ahmed, I. A., & Hamid, O. I. (2016). Characterization of partially purified milk-clotting enzyme from sunflower (*Helianthus annuus*) seeds. *Food Science & Nutrition*, 4(5), 733–741.

- Nasri, N., Kaddour, R., Rabhi, M., et al. (2011). Effect of salinity on germination, phytase activity and phytate content in lettuce seedling. *Acta Physiologiae Plantarum*, 33, 935–942.
- Ndhlala, A. R., Moyo, M., & Van Staden, J. (2010). Natural antioxidants: Fascinating or mythical biomolecules? *Molecules*, 15(10), 6905–6930.
- Nezhad, N. G., Raja Abd Rahman, R. N. Z., Normi, Y. M., Oslan, S. N., Shariff, F. M., & Leow, T. C. (2020). Integrative structural and computational biology of phytases for the animal feed industry. *Catalysts*, 10(8), 844.
- Nimse, S. B., & Pal, D. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Advances*, 5(35), 27986–28006.
- Nolfi-Donagan, D., Braganza, A., & Shiva, S. (2020). Mitochondrial electron transport chain: Oxidative phosphorylation, oxidant production, and methods of measurement. *Redox Biology*, 37, 101674.
- Nonogaki, H., Bassel, G. W., & Bewley, J. D. (2010). Germination—Still a mystery. *Plant Science*, 179(6), 574–581.
- Özacar, M., Mehde, A. A., Mehdi, W. A., Özacar, Z. Z., & Severgün, O. (2019). The novel multi cross-linked enzyme aggregates of protease, lipase, and catalase production from the sunflower seeds, characterization and application. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 173, 58–68.
- Özcan, M. M., Yılmaz, F. G., Uslu, N., Akçay Kulluk, D., Dursun, N., & Yılmaz, H. (2024). Determination of bioactive compounds, phenolic contents, fatty acid and biogenic element profiles of the seeds of sunflower (*Helianthus annuus* L.) genotypes. *Food and Humanity*, 2, 100222.
- Özcan, O., Erdal, H., Çakırca, G., & Yönden, Z. (2015). Oxidative stress and its impacts on intracellular lipids, proteins and DNA. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 6(3), 331–336.
- Pal, D. (2011). Sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds in health and nutrition. In *Nuts and seeds in health and disease prevention* (pp. 1097–1105). Elsevier.
- Pandey, A., Nigam, P., Soccol, C. R., Soccol, V. T., Singh, D., & Mohan, R. (2000). Advances in microbial amylases. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 31(2), 135–152.

- Paraschiv, M., Turcov, D., Zbranca-Toporaș, A., Ciubotaru, B.-I., Grădinaru, I., & Galaction, A.-I. (2025). Engineering antioxidants with pharmacological applications: Biotechnological perspectives. *Antioxidants*, 14(9), 1110.
- Park, S. V., Yang, J.-S., Jo, H., Kang, B., Oh, S. S., & Jung, G. Y. (2019). Catalytic RNA, ribozymes and its applications in synthetic biology. *Biotechnology Advances*, 37(8), 107452.
- Patlevič, P., Vašková, J., Švorc, P., Jr., Vaško, L., & Švorc, P. (2016). Reactive oxygen species and antioxidant defense in human gastrointestinal diseases. *Integrative Medicine Research*, 5(4), 250–258.
- Petraru, A., Ursachi, F., & Amariei, S. (2021). Evaluation of the nutritional characteristics of sunflower seeds, oil and cake. Perspective of using sunflower cake as a functional ingredient. *Plants*, 10(11), 2487.
- Petrovska, B. B. (2012). Historical review of medicinal plants' usage. *Pharmacognosy Reviews*, 6(11), 1–5.
- Pham-Huy, L. A., He, H., & Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International Journal of Biomedical Science*, 4(2), 89–96.
- Pisoschi, A. M., & Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97, 55–74.
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., & Bitto, A. (2017). Oxidative stress: Harms and benefits for human health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017, Article 8416763.
- Pokorný, J. (2007). Are natural antioxidants better—and safer—than synthetic antioxidants? *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109(6), 629–642.
- Posoongnoen, S., Thummavongsa, T., Junthip, J., Jandaruang, J., & Preecharram, S. (2025). Potential application of α -amylase from germinating *Cucurbita moschata* Duchesne seeds in eco-friendly bioethanol production. *Scientific Reports*, 15(1), 25499.
- Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290–4302.
- Pullar, J. M., Carr, A. C., & Vissers, M. C. M. (2017). The roles of vitamin C in skin health. *Nutrients*, 9(8), 866.

- Puttha, R., Venkatachalam, K., Hanpakdeesakul, S., Wongsu, J., Parametthanuwat, T., Srean, P., Pakeechai, K., & Charoenphun, N. (2023). Exploring the potential of sunflowers: Agronomy, applications, and opportunities within bio-circular-green economy. *Horticulturae*, 9(10), 1079.
- Qamer, Z., Chaudhary, M. T., Du, X., et al. (2021). Review of oxidative stress and antioxidative defense mechanisms in *Gossypium hirsutum* L. in response to extreme abiotic conditions. *Journal of Cotton Research*, 4, 9.
- Radanović, A., Miladinović, D., Cvejić, S., Jocković, M., & Jocić, S. (2018). Sunflower genetics from ancestors to modern hybrids—A review. *Genes*, 9(11), 528.
- Ramalingum, N., & Mahomoodally, M. F. (2014). The therapeutic potential of medicinal foods. *Advances in Pharmacological Sciences*, 2014, 354264.
- Rani, A., Saini, K. C., Bast, F., Mehariya, S., Bhatia, S. K., Lavecchia, R., & Zuorro, A. (2021). Microorganisms: A potential source of bioactive molecules for antioxidant applications. *Molecules*, 26(4), 1142.
- Rao, M. B., Tanksale, A. M., Ghatge, M. S., & Deshpande, V. V. (1998). Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62(3), 597–635.
- Ratha, J., Padumanonda, T., Yongram, C., Siriparu, P., Datham, S., Subhan, M., Chenboonthai, C., & Puthongking, P. (2026). Network pharmacology of the phytochemical content of sunflower seed (*Helianthus annuus* L.) extract from LC-MS on wound-healing activity and the in vitro wound scratch assay. *Plants*, 15(2), 187.
- Raveendran, S., Parameswaran, B., Ummalyma, S. B., Abraham, A., Mathew, A. K., Madhavan, A., Rebello, S., & Pandey, A. (2018). Applications of microbial enzymes in food industry. *Food Technology and Biotechnology*, 56(1), 16–30.
- Reddy, N. R., Sathe, S. K., & Salunkhe, D. K. (1982). Phytates in legumes and cereals. In C. O. Chichester, E. M. Mrak, & G. F. Stewart (Eds.), *Advances in food research* (Vol. 28, pp. 1–92). Academic Press.
- Ren, Y., Li, J., & Dai, X. (2026). Reactive oxygen species in health and disease. *Molecular Biomedicine*, 7(1), 30.

- Reymond, C., Beaudoin, J.-D., & Perreault, J.-P. (2009). Modulation of RNA structure and catalysis: Lessons from small cleaving ribozymes. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 66(24), 3937–3950.
- Richards, L. (2023, June 21). *Sunflower seeds: Nutritional and health benefits*. Medical News Today.
- Rinnerthaler, M., Bischof, J., Streubel, M. K., Trost, A., & Richter, K. (2015). Oxidative stress in aging human skin. *Biomolecules*, 5(2), 545–589.
- Rotariu, D., Babes, E. E., Tit, D. M., Moisi, M., Bustea, C., Stoicescu, M., Radu, A.-F., Vesa, C. M., Behl, T., Bungau, A. F., & Bungau, S. G. (2022). Oxidative stress—Complex pathological issues concerning the hallmark of cardiovascular and metabolic disorders. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 152, 113238.
- Rustamova, N., Movlanov, J., Alimova, D., Yin, H., Huang, G., Isokov, M., Li, T., Khodjaeva, N., Nurniyozov, A., Sasmakov, S., Khasanov, B., Murodullayev, D., Mamarasulov, B., Umruzokov, A., Gulyamova, T., Jiang, H., Sun, W., Liu, X. C., Chen, S., Davranov, K., & Yili, A. (2026). Soil-associated microorganisms: A natural source of biologically active compounds. *Phytochemistry*, 246, 114820.
- Sadeghi, Z., Yang, J. L., Venditti, A., & Moridi Farimani, M. (2022). A review of the phytochemistry, ethnopharmacology and biological activities of *Teucrium* genus (Germander). *Natural Product Research*, 36(21), 5647–5664.
- Saeed, A. M., El-Shatoury, E. H., & Sayed, H. A. E. (2021). Statistical factorial designs for optimum production of thermostable α -amylase by the degradative bacterium *Parageobacillus thermoglucosidasius* Pharon1 isolated from Sinai, Egypt. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 19(1), 24.
- Sajidan, Wulandari, R., Sari, E. N., Ratriyanto, A., Weldekiros, H., & Greiner, R. (2015). Phytase-producing bacteria from extreme regions in Indonesia. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 58(5), 711–717.
- Salah Laaraj, Hussain, A., Shahid, E., Bakhtawar, F., Zia, M., Najam, A., Zulfiqar, N., Sweilam, S. H., Ed-Dra, A., & Elfazazi, K. (2025). Nutritional, pharmaceutical, and health benefits of sunflower seeds (*Helianthus annuus* L.): A comprehensive review of food applications. *Food and Humanity*, 5, 100641.

- Salazar-Alekseyeva, K., Herndl, G. J., & Baltar, F. (2024). Influence of salinity on the extracellular enzymatic activities of marine pelagic fungi. *Journal of Fungi*, 10(2), 152.
- Saleem, A., & Ebrahim, M. K. H. (2014). Production of amylase by fungi isolated from legume seeds collected in Almadinah Almunawwarah, Saudi Arabia. *Journal of Taibah University for Science*, 8(2), 90–97.
- Salwa, M. (2021). Antioxidant activity of sunflower (*Helianthus annuus* L.) ethanolic extract with DPPH method and determination of total phenolic and flavonoid levels. *Journal of Nutraceuticals, Herbal Medicine*, 4, 31–42.
- Salwan, R., & Sharma, V. (2020). Bioactive compounds of *Streptomyces*: Biosynthesis to applications. In A.-U.-R. (Ed.), *Studies in Natural Products Chemistry* (Vol. 64, pp. 467–491). Elsevier.
- Santiya, M., Aluko, R. E., Dhewa, T., & Moreno-Rojas, J. M. (2021). Potential health benefits of plant food-derived bioactive components: An overview. *Foods*, 10(4), 839.
- Sandberg, A.-S., & Andlid, T. (2002). Phytogetic and microbial phytases in human nutrition. *International Journal of Food Science and Technology*, 37(7), 823–833.
- Sari, A. (2021). The effect of high temperature on α -amylase enzyme activity in the germination of several rice varieties (*Oryza sativa* L.). *JERAMI: Indonesian Journal of Crop Science*, 3(2), 50–54.
- Sathe, S. K. (2002). Dry bean protein functionality. *Critical Reviews in Biotechnology*, 22(2), 175–223.
- Schertl, P., & Braun, H.-P. (2014). Respiratory electron transfer pathways in plant mitochondria. *Frontiers in Plant Science*, 5, 163.
- Seiler, G. J., Qi, L. L., & Marek, L. F. (2017). Utilization of sunflower crop wild relatives for cultivated sunflower improvement. *Crop Science*, 57(3), 1083–1101.
- Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review. *Journal of Functional Foods*, 18, 820–897.
- Shahidi, F., & Naczki, M. (2003). *Phenolics in Food and Nutraceuticals* (2nd ed.). CRC Press.
- Shahidi, F., & Zhong, Y. (2010). New antioxidants for the preservation of food quality and promotion of health. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 112(9), 930–940.

- Sharma, B., & Bhatla, S. C. (2013). Structural analysis of stigma development in relation with pollen–stigma interaction in sunflower. *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 208(7), 420–429.
- Sharma, R., Chisti, Y., & Banerjee, U. C. (2001). Production, purification, characterization, and applications of lipases. *Biotechnology Advances*, 19(8), 627–662.
- Shetty, J. K., Lantero, O., & Dunn-Coleman, N. (2007). State-of-the-art production of fuel ethanol using granular starch hydrolyzing enzymes (GSHE). In *Proceedings of the 29th Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals*.
- Shewry, P. R., Napier, J. A., & Tatham, A. S. (1995). Seed storage proteins: Structures and biosynthesis. *The Plant Cell*, 7(7), 945–956.
- Shim, S. Y., & Kim, H. S. (2013). Oxidative stress and the antioxidant enzyme system in the developing brain. *Korean Journal of Pediatrics*, 56(3), 107–111.
- Shukla, E., Bendre, A. D., & Gaikwad, S. M. (2022). Hydrolases: The most diverse class of enzymes. In S. Haider, A. Haider, & A. Catalá (Eds.), *Hydrolases*. IntechOpen.
- Sieniawska, E., & Georgiev, M. I. (2021). Metabolomics: Towards acceleration of antibacterial plant-based leads discovery. *Phytochemistry Reviews*, 21(3), 765–781.
- Sikder, M. M., Li, X., Akumwami, S., & Labony, S. A. (2025). Reactive oxygen species: Role in pathophysiology, and mechanism of endogenous and dietary antioxidants during oxidative stress. *Chonnam Medical Journal*, 61(1), 32–45.
- Singh, B., Singh, J. P., Kaur, A., & Singh, N. (2017). Phenolic composition and antioxidant potential of grain legume seeds: A review. *Food Research International*, 101, 1–16.
- Singh, K., Shandilya, M., Kundu, S., & Kayastha, A. M. (2015). Heat, acid and chemically induced unfolding pathways, conformational stability and structure–function relationship in wheat α -amylase. *PLOS ONE*, 10(6), e0129203.
- Singh, R., Kumar, M., Mittal, A., & Mehta, P. K. (2016). Microbial enzymes: Industrial progress in 21st century. *3 Biotech*, 6(2).
- Skoric, D. (2009). Sunflower breeding for resistance to abiotic stresses. *Helia*, 32(50), 1–15.
- Sławińska, N., & Olas, B. (2022). Selected seeds as sources of bioactive compounds with diverse biological activities. *Nutrients*, 15(1), 187.

- Soliman, M. M., Ibrahim, M., Dawoud, M. A., et al. (2026). Isolation, identification, and bioactivity evaluation of novel metabolites from soil-derived actinomycetes with antimicrobial, antioxidant, and anticancer potential: *In silico* molecular docking insights. *Annals of Microbiology*, 76, 17.
- Starkov, A. A. (2008). The role of mitochondria in reactive oxygen species metabolism and signaling. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1147, 37–52.
- Suhag, R., Angeli, L., Scampicchio, M., & Ferrentino, G. (2025). From quantity to reactivity: Advancing kinetic-based antioxidant testing methods for natural compounds and food applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 24(4), e70229.
- Swain, R. P., Dkhar, D. S., Chandra, P., Patel, G. K., & Dubey, R. (2025). Plant-derived enzymes as sustainable biocatalysts for biosensing and industrial applications. *Industrial Crops and Products*, 233, 121336.
- Tanner, N. K. (1999). Ribozymes: The characteristics and properties of catalytic RNAs. *FEMS Microbiology Reviews*, 23(3), 257–275.
- Tauffenberger, A., & Magistretti, P. J. (2021). Reactive oxygen species: Beyond their reactive behavior. *Neurochemical Research*, 46(1), 77–87.
- Tesfaye, E. L., Kumar, P., Jutur, P. P., Tefera, A. T., Jiru, T. M., & Gaur, N. A. (2025). The role of amylase in bioethanol production: Advances in amylase-producing strains using CRISPR/Cas9 technology. *Fuel Communications*, 23, 100142.
- Therond, P. (2006). Oxidative stress and damages to biomolecules (lipids, proteins, DNA). *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 64(6), 383–389.
- Thiruvengadam, M., Venkidasamy, B., Subramanian, U., Samynathan, R., Ali Shariati, M., Rebezov, M., Girish, S., Thangavel, S., Dhanapal, A. R., Fedoseeva, N., Lee, J., & Chung, I. M. (2021). Bioactive compounds in oxidative stress-mediated diseases: Targeting the NRF2/ARE signaling pathway and epigenetic regulation. *Antioxidants*, 10(12), 1859.
- Tiwari, V. (2016). *In vitro* engineering of novel bioactivity in natural enzymes. *Frontiers in Chemistry*, 4, 39.
- Toney, M. D. (2005). Reaction specificity in pyridoxal phosphate enzymes. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 433(1), 279–287.

- Tostain, S., Chervier, P., Laulan, A., & Kermorgant, T. (2012). Amélioration de l'autonomie énergétique et de l'impact environnemental d'une unité de trituration de tournesol par l'implantation conjointe d'un atelier de décorticage et d'une chaudière à coques. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*, 19(6), 332–340.
- Treichel, H., de Oliveira, D., Mazutti, M. A., Di Luccio, M., & Oliveira, J. V. (2009). A review on microbial lipases production. *Food and Bioprocess Technology*, 3(2), 182–196.
- Turner, A. P. F. (2013). Biosensors: Sense and sensibility. *Chemical Society Reviews*, 42(8), 3184.
- Ugwuoji, E. T., Nwagu, T. N. T., & Ezeogu, L. I. (2023). Detergent-stable amylase production by *Paenibacillus lactis* strain OPSA3 isolated from soil: Optimization by response surface methodology. *Biotechnology Reports*, 39, e00808.
- Unsal, V., Dalkiran, T., Çiçek, M., & Kölükçü, E. (2020). The role of natural antioxidants against reactive oxygen species produced by cadmium toxicity: A review. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 10(2), 184–202.
- Valente Junior, D. T., Genova, J. L., Kim, S. W., Saraiva, A., & Rocha, G. C. (2024). Carbohydrases and phytase in poultry and pig nutrition: A review beyond the nutrients and energy matrix. *Animals*, 14(2), 226.
- van der Maarel, M. J. E. C., van der Veen, B., Uitdehaag, J. C. M., Leemhuis, H., & Dijkhuizen, L. (2002). Properties and applications of starch-converting enzymes of the α -amylase family. *Journal of Biotechnology*, 94(2), 137–155.
- Vats, P., & Banerjee, U. C. (2004). Production studies and catalytic properties of phytases (myo-inositolhexakisphosphate phosphohydrolases): An overview. *Enzyme and Microbial Technology*, 35(1), 3–14.
- Vellard, M. (2003). The enzyme as drug: Application of enzymes as pharmaceuticals. *Current Opinion in Biotechnology*, 14(4), 444–450.
- Venkataraman, S., Karthikanath, P. R., Gokul, C. S., Adhithya, M., Vaishnavi, V. K., Rajendran, D. S., Vaidyanathan, V. K., Natarajan, R., Balakumaran, P. A., & Kumar, V. V. (2024). Recent advances in phytase thermostability engineering towards potential application in the food and feed sectors. *Food Science and Biotechnology*, 34(1), 1–18.

- Verma, V., Singhal, G., Sharma, S., & Srivastava, N. (2022). Plant extracts as enzymes. In S. A. Mir, A. Manickavasagan, & M. A. Shah (Eds.), *Plant extracts: Applications in the food industry* (pp. 209–223). Elsevier.
- Vinicius De Melo Pereira, G., De Carvalho Neto, D. P., Junqueira, A. C. D. O., Karp, S. G., Letti, L. A. J., Magalhães Júnior, A. I., & Soccol, C. R. (2019). A review of selection criteria for starter culture development in the food fermentation industry. *Food Reviews International*, 36(2), 135–167.
- Vitolo, M. (2021). Decomposition of hydrogen peroxide by catalase. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 10(8), 47–56.
- Vohra, A., & Satyanarayana, T. (2003). Phytases: Microbial sources, production, purification, and potential biotechnological applications. *Critical Reviews in Biotechnology*, 23(1), 29–60.
- Walter, N. G., & Engelke, D. R. (2002). Ribozymes: Catalytic RNAs that cut things, make things, and do odd and useful jobs. *Biologist (London, England)*, 49(5), 199–203.
- Warshel, A., Sharma, P. K., Kato, M., Xiang, Y., Liu, H., & Olsson, M. H. M. (2006). Electrostatic basis for enzyme catalysis. *Chemical Reviews*, 106(8), 3210–3235.
- Wu, X., Zha, J., & Koffas, M. A. (2020). Production microbienne de composés bioactifs bénéfiques pour la santé humaine. *Current Opinion in Food Science*, 32, 9–16.
- Yadav, J. K., & Prakash, V. (2009). Thermal stability of alpha-amylase in aqueous cosolvent systems. *Journal of Biosciences*, 34(3), 377–387.
- Yahfoufi, N., Alsadi, N., Jambi, M., & Matar, C. (2018). The immunomodulatory and anti-inflammatory role of polyphenols. *Nutrients*, 10(11), 1618.
- Yassin, M., Mohsen, E., George, N., et al. (2025). Bioprocessing and characterization of thermostable phytase from *Aspergillus terreus*, an endophyte of *Catharanthus roseus*, with a potential activity to hydrolyze phytic acid in wheat bran. *BMC Biotechnology*, 25, 68.
- Zhang, Y., Xiao, H., Lv, X., Wang, D., Chen, H., & Wei, F. (2022). Comprehensive review of composition, distribution, and advances in profiling of phenolic compounds in oilseeds. *Frontiers in Nutrition*, 9, 1044871.
- Zhazykbayeva, S., Pabel, S., Mügge, A., & Sossalla, S. (2020). Molecular mechanisms associated with the physiological responses to inflammation and oxidative stress in cardiovascular diseases. *Biophysical Reviews*, 12, 947–968.

Zhongxiang, F., Hu, Y., Liu, D., Chen, J., & Ye, X. (2008). Changes of phenolic acids and antioxidant activities during potherb mustard (*Brassica juncea*, Coss.) pickling. *Food Chemistry*, 108(3), 811–817.

Zhou, Y. X., Cao, X. Y., & Peng, C. (2022). Antimicrobial activity of natural products against MDR bacteria: A scientometric visualization analysis. *Frontiers in Pharmacology*, 13, 1000974.

Zhou, Y., Anoopkumar, A. N., Tarafdar, A., Madhavan, A., Binoop, M., Lakshmi, N. M., Arun, K. B., Sindhu, R., Binod, P., Sirohi, R., Pandey, A., Zhang, Z., & Awasthi, M. K. (2022). Microbial engineering for the production and application of phytases to the treatment of toxic pollutants: A review. *Environmental Pollution*, 308, 119703.

Zhou, Z., & Guo, Y. (2012). Bioactive natural products from Chinese marine flora and fauna. *Acta Pharmacologica*