

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 Temouchent- Belhadj Bouchaib
Faculté des Sciences et de Technologie
Département des Sciences Biologiques



Projet de Fin d'Etudes
Pour 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
*Linum usitatissimum***

Présenté Par :

- 1) Melle HADJ ABDERRAHMANE Bouchra
- 2) Melle HENNI Nour El Houda

Devant le jury composé de :

Dr. Ouassila BENHABIB M C A UAT.B.B (Ain Temouchent) Présidente
Dr. Farid BENNABI M C A UAT.B.B (Ain Temouchent) Examineur
Dr. Sofiane Mourad BENYAMINA M C B UAT.B.B (Ain Temouchent) Encadrant

Année Universitaire 2024/2025

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à exprimer notre profonde gratitude à Dieu, pour la force, la patience et la clarté d'esprit qu'Il nous a accordées tout au long de cette aventure. C'est dans Sa lumière que nous avons puisé l'énergie nécessaire pour mener ce travail à bien. Nos remerciements les plus sincères vont à notre encadrant, Monsieur Sofiane Mourad BENYAMINA, pour son excellence, sa rigueur, sa disponibilité constante et sa grande maîtrise du sujet. Votre accompagnement ne s'est pas limité à une direction scientifique : Vous avez été un véritable guide, un soutien moral, et une source d'inspiration à chaque étape. Nous vous sommes profondément reconnaissantes pour votre confiance et vos encouragements.

Nous remercions également avec chaleur les membres du jury : Madame Benhabib, pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider ce jury, Et Monsieur Farid BENNABI, pour avoir accepté d'évaluer notre travail, ainsi que pour leurs observations constructives, leur bienveillance et leur expertise, qui ont enrichi notre réflexion et valorisé notre mémoire.

Nos remerciements s'étendent aussi à tous les professeurs de l'Université d'Aïn Témouchent, pour leur investissement, leurs enseignements et leur présence précieuse tout au long de notre parcours académique.

Enfin, nous souhaitons exprimer notre reconnaissance à toutes les personnes, proches ou moins proches, qui, par un mot, un geste, un conseil ou une prière, ont contribué de près ou de loin à l'aboutissement de ce mémoire.

Merci infiniment pour votre soutien, votre bienveillance et votre foi en nous.

Dédicace

À Dieu, mon refuge dans le silence, celui qui connaît mes larmes quand personne ne les voit, celui qui a mis la lumière même dans mes nuits les plus longues.

À moi, à celle qui a douté, qui a pleuré en secret, mais qui s'est levée chaque matin avec un peu plus de force. Je me dédie ces pages comme un hommage à mon propre courage.

À ma mère, femme au cœur immense, qui m'a aimée au-delà des mots, portée sans se plaindre, et dont chaque prière est un bouclier autour de moi.

À mon père, ce regard discret qui en dit long, cette fierté silencieuse qui m'a poussée à viser plus haut. Je t'entends même quand tu ne parles pas.

À mes petites sœurs, petites étoiles encore en chemin, je vous regarde grandir avec tendresse et espoir. Je ne vous souhaite pas de me ressembler, mais d'aller plus loin, plus haut, avec plus de paix. Que vos pas soient plus légers, vos combats plus doux, et vos victoires encore plus belles.

À mon encadrant, Monsieur Benyamina, Avant d'être un encadrant, vous êtes une source d'inspiration. Un exemple d'humilité, de rigueur, de bienveillance et de passion. Votre présence a été bien plus qu'un simple accompagnement scientifique, Elle a été une lumière, un repère, un moteur.

À ma binôme Nour El Houda, plus qu'une coéquipière, une âme sœur dans cette aventure, merci d'avoir marché avec moi, même quand le chemin tremblait sous nos pas. Ton amitié est un trésor.

À Fatima, Abderrahmane et Jawida, présences fidèles, sourires sincères, épaules solides. Vous avez été là, tout simplement, et ça vaut tout.

À ma famille paternelle Hadj Abderrahmane, et à ma famille maternelle Habib Zahmani, vous êtes mes racines, ma mémoire, ma force tranquille. Merci de m'avoir portée, chacun à votre manière, dans l'amour, la foi, et la fierté.

Ce travail, c'est un bout de moi, mais c'est surtout un morceau de vous tous.

Bouchra

Dédicace

À ma mère, à toi qui as incarné la sagesse dans les moments de confusion, la force dans les instants de faiblesse, et l'amour inconditionnel à chaque étape de ma vie, ton soutien constant, ta bienveillance et tes prières silencieuses ont été les fondations de mon parcours. Je te rends hommage avec toute ma gratitude et mon profond respect.

À mon père, que Dieu ait son âme, tu es parti en corps, mais ta présence ne quitte jamais mon cœur. Que Dieu te fasse miséricorde et t'accorde une place parmi les gens du Paradis.

À mon frère, celui qui fut pour moi un père quand j'en avais besoin, une épaule quand j'étais épuisé, ta présence fut une bénédiction qui a illuminé mon chemin.

À mes chères sœurs, vous êtes la lumière quand la vie s'assombrit, la joie quand le cœur s'alourdit, merci pour votre amour et votre soutien sans limite.

Et à ma compagne de route dans ce parcours, ma binôme Bouchra, nos ambitions nous ont réunies, nos défis nous ont unies. Nous avons partagé la fatigue et les veillées, et surmonté ensemble des moments qui n'étaient pas faciles. Merci pour ta sincère collaboration. Notre expérience a prouvé que la coopération mène au succès.

Et à mon professeur encadrant, Monsieur Benyamina, je vous adresse tout mon respect et ma gratitude, pour vos orientations qui ont été la pierre angulaire de l'accomplissement de ce mémoire judicieux, pour votre patience et votre soutien constant. Vous avez été plus qu'un encadrant... vous avez été un guide, un motivateur et un véritable soutien à chaque étape.

Nour El Houda

Liste des figures

Figure 1 : Relation entre les espèces réactives de l'oxygène (ERO), le système de défense (antioxydant) et le stress oxydatif	6
Figure 2 : Activation d'une enzyme par un cofacteur : Formation de l'holoenzyme	7
Figure 3 : L'action enzymatique : transformation d'un substrat en produit par une enzyme	8
Figure 4 : La plante de <i>Linum usitatissimum</i>	14
Figure 5 : Les graines de <i>Linum usitatissimum</i>	16
Figure 6 : Les graine de <i>Linum usitatissimum</i>	17
Figure 7 : Courbe étalon de l'hémoglobine	28
Figure 8 : Courbe étalon d'H ₂ O ₂	29
Figure 9 : Capacité de dégradation de l' H ₂ O ₂ par la solution des graines <i>Linum usitatissimum</i>	30
Figure 10 : Détermination de l'IC ₅₀ de dégradation de l'H ₂ O ₂ par la solution des graines de <i>Linum usitatissimum</i> préparée à température ambiante	32
Figure 11 : Détermination de l'IC ₅₀ de dégradation de l'H ₂ O ₂ par la solution des graines de <i>Linum usitatissimum</i> préparée à 50 °C.....	32
Figure 12 : Courbe étalon du DPPH.....	34
Figure 13 : Suivi de piégeage de DPPH par les différentes concentrations de la solution des graines <i>Linum usitatissimum</i>	35
Figure 14 : L'IC ₅₀ du piégeage de DPPH par la solution des graines de <i>Linum usitatissimum</i> préparée à température ambiante.....	36
Figure 15 : L'IC ₅₀ du piégeage de DPPH par la solution des graines de <i>Linum usitatissimum</i> préparée à 50 °C.....	37
Figure 16 : L'IC ₅₀ du piégeage de DPPH par l'acide ascorbique.....	38
Figure 17 : Courbe étalon de l'amidon.....	40
Figure 18 : Cinétique de l'activité amylasique de la solution des graines de <i>Linum usitatissimum</i>	41

Figure 19 : Influence de la température sur l'activité amylasique de la solution des graines de <i>Linum usitatissimum</i>	43
Figure 20 : Influence du pH sur l'activité amylasique de la solution des graines de <i>Linum usitatissimum</i>	45
Figure 21 : Influence du CaCl ₂ sur l'activité amylasique de la solution des graines de <i>Linum usitatissimum</i>	47
Figure 22 : Effet du traitement thermique sur la stabilité des amylases présentes dans la solution des graines de <i>Linum usitatissimum</i>	48
Figure 24 : Effet du NaOH sur la stabilité des amylases présentes dans la solution des graines de <i>Linum usitatissimum</i>	50
Figure 25 : Effet du CaCl ₂ sur la stabilité des amylases présentes dans la solution des graines de <i>Linum usitatissimum</i>	52
Figure 26 : Courbe étalon du KH ₂ PO ₄	54
Figure 27 : Cinétique de l'activité phytasique de la solution des graines de <i>Linum usitatissimum</i>	55
Figure 28 : Influence de la température sur l'activité phytasique de la solution des graines de <i>Linum usitatissimum</i>	56
Figure 29 : Influence du pH sur l'activité phytasique de la solution des graines de <i>Linum usitatissimum</i>	58
Figure 30 : Influence du CaCl ₂ sur l'activité phytasique de la solution des graines de <i>Linum usitatissimum</i>	59
Figure 31 : Effet du traitement thermique sur la stabilité des phytases de la solution des graines de <i>Linum usitatissimum</i>	60
Figure 32 : Effet du HCl sur la stabilité des phytases de la solution des graines de <i>Linum usitatissimum</i>	62
Figure 33 : Effet du NaOH sur la stabilité des phytases de la solution des graines de <i>Linum usitatissimum</i>	64
Figure 34 : Effet du CaCl ₂ sur la stabilité des phytases de la solution des graines de <i>Linum usitatissimum</i>	64

Liste de tableaux

Tableau 1 : Les espèces réactives de l'Oxygène	3
Tableau 2 : Classes d'enzymes, fonctions et types de réactions	9
Tableau 3 : Classification de la plante <i>Linum usitatissimum</i>	14
Tableau 4 : La gamme étalon pour la préparation de la courbe étalon de l'hémoglobine.....	19
Tableau 5 : La gamme étalon pour la préparation de la courbe étalon de l'H ₂ O ₂	19
Tableau 6 : La gamme étalon du DPPH pour la préparation de la courbe étalon.....	21
Tableau 7 : La gamme étalon des solutions de l'amidon	22
Tableau 8 : La gamme étalon de la solution du KH ₂ PO ₄	25
Tableau 9 : Tableau récapitulatif des résultats des activités biologiques des graines de <i>Linum usitatissimum</i>	68

Liste des abréviations

M : Molaire

mg : Milligramme

mg/mL : Milligramme par millilitre

mL : Millilitre

mm : Millimètre

mM : millimolaire

µg : microgramme

Min : Minute

IC₅₀: half-maximal Inhibitory Concentration

trs/min : Tours par minute

µg /mL: Microgramme par millilitre

µL : Microlitre

°C : degrés Celsius

ADN : acide désoxyribonucléique

AH: molécule donneuse de l'atome d'hydrogène.

ERO : Espèces Réactives de l'oxygène

ERN : Espèces Réactives de l'Azote

nm : nanomètres

SOD : superoxydes dismutase

CAT : catalases

APX: l'ascorbate peroxydase

GSH : glutathion

GPx : glutathion peroxydase

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène

OH : le radical hydroxyle.

O₂^{•-} : l'anion superoxyde

RO₂ : le radical peroxyde organique.

RO₂H : un hydroperoxyde organique.

GSSG : Glutathion

DO : Densité Optique

H₂O : Eau

O₂ : Dioxygène

DPPH : 1,1-DiPhényl-2-PicrylHydrazyl

pH : Potentiel d'Hydrogène

CaCl₂ : le chlorure de calcium

Sommaire

Liste des figures	I
Liste de tableaux	II
Liste des abréviations	III
Introduction générale	1
Synthèse Bibliographique	2
1. Les propriétés biologiques	2
1.1. Les oxydants et les propriétés antioxydantes	3
1.2. Les propriétés enzymatiques	6
1.3. Autres propriétés biologiques.....	10
2. Importance des propriétés biologiques dans les différents secteurs industriels	10
3. Les différents sources et provenances des propriétés biologique	11
3.1. Les sources microbiennes.....	11
3.2. Les sources animales	12
3.3. Les sources végétales	12
4. La plante <i>Linum usitatissimum</i> et les propriétés biologiques	13
5. Les graines de la plante <i>Linum usitatissimum</i> et les propriétés biologiques	15
Matériels et Méthodes	17
1. Matériel biologique	17
2. Préparation de la solution des graines de <i>Linum usitatissimum</i>	17
3. Dosage des protéines	18
4. Recherche d'activités antioxydantes dans la solution des graines de <i>Linum usitatissimum</i>	19
4.1. Recherche d'activités catalasiques dans la solution des graines de <i>Linum usitatissimum</i>	19

4.2. Recherche des capacités de piégeage du DPPH dans la solution des graines <i>Linum usitatissimum</i>	20
5. Recherche d'activités enzymatiques dans la solution des graines de <i>Linum usitatissimum</i>	21
5.1. Recherche d'activités amylasiques dans la solution des graines de <i>Linum usitatissimum</i>	21
5.2. Recherche d'activités phytasique dans la solution des graines de <i>Linum usitatissimum</i>	25
Résultats et Discussion	28
1. Le matériel biologique.....	28
2. Préparation de la solution des graines de <i>Linum usitatissimum</i>	28
3. Dosage des protéines de la solution de <i>Linum usitatissimum</i>	28
4. Recherche d'activités antioxydants dans les graines de <i>Linum usitatissimum</i>	29
4.1. Recherche d'activité catalasique dans les graines de <i>Linum usitatissimum</i>	29
4.2. Recherche des capacités de piégeage du DPPH dans la solution des graines <i>Linum usitatissimum</i>	34
5. Recherche d'activités enzymatiques dans la solution des graines de <i>Linum usitatissimum</i>	40
5.1. Recherche d'activités amylasiques dans la solution des graines de <i>Linum usitatissimum</i>	40
5.2. Recherche d'activités phytasique dans la solution des graines de <i>Linum usitatissimum</i>	53
Conclusion et Perspectives	69
Références bibliographiques	71
Résumé	86

Introduction générale

La survie et le bon fonctionnement des organismes vivants reposent sur un ensemble de réactions biochimiques régulées par des composés aux propriétés biologiques variées (Judge et Michael, 2020). En plus de leur importance au niveau des cellules, ces propriétés sont activement recherchées pour diverses applications industrielles, en particulier dans les secteurs pharmaceutique, alimentaire, cosmétique et biotechnologique (Newman et Cragg, 2012). Parmi ces propriétés biologiques figurent les activités antioxydantes (Pincemail et *al.*, 2002), enzymatiques (Kingsley et Lill, 2015), anti-inflammatoires (Arulselvan et *al.*, 2016) et antimicrobiennes (Gislin et *al.*, 2018). Ces propriétés sont issues principalement de trois grandes sources, les plantes (Benavente-García et *al.*, 1997), les microorganismes (Okudoh et Wallis, 2007) et les animaux (Mahawar et Jaroli, 2006).

Les plantes jouent un rôle important en tant que source majeure de métabolites secondaires aux effets biologiques variés (Benavente-García et *al.*, 1997). Parmi ces plantes, *Linum usitatissimum* communément appelée lin (Jhala et Hall, 2010), se distingue par la richesse de ses graines en composés bioactifs, notamment en lignanes (Mueed et *al.*, 2022), reconnus pour leurs effets antioxydants et anti-inflammatoires (Schmidt et *al.*, 2012). Grâce à sa richesse nutritionnelle et fonctionnelle, la graine de lin est considérée comme un aliment fonctionnel à haute valeur ajoutée (Hu et *al.*, 2020), avec de nombreuses applications dans le domaine de la santé et de l'industrie (Dzuvor et *al.*, 2018).

Vu l'importance des graines de cette plante et la richesse de ses composés, l'objectif de notre travail est de rechercher des propriétés biologiques antioxydantes (activité catalasique et anti-radicalaire) ainsi que des propriétés enzymatiques (activités amylasiques et phytasiques) au niveau de ces graines, afin de les utiliser potentiellement en industrie.

Synthèse Bibliographique

1. Les propriétés biologiques

La nature constitue une source inestimable de composés bioactifs, caractérisés par des propriétés biologiques essentielles à la santé et à la survie des organismes vivants (Cragg et Newman, 2013), parmi lesquelles, on peut citer les propriétés antioxydantes neutralisent les radicaux libres, protégeant les cellules contre le stress oxydatif (Hasanuzzaman et *al.*, 2020), les propriétés anti-inflammatoires réduisent les inflammations, offrant des pistes thérapeutiques contre les maladies chroniques (Arulselvan et *al.*, 2016), les propriétés antimicrobiennes qui jouent un rôle clé dans la lutte contre les infections (Gislin et *al.*, 2018), ou encore les propriétés enzymatiques qui favorisent les réactions biochimiques vitales et trouvent des applications industrielles variées (Robinson, 2015).

Les organismes vivants produisent une variété de composés bioactifs qui résultent de leur métabolisme secondaire, contribuant ainsi à une défense efficace contre les stress environnementaux et les maladies (Silva et Fernandes, 2010). Les plantes, les microorganismes et les animaux sont les principales sources de ces composés bioactifs. Les plantes par exemple produisent des huiles essentielles et des métabolites secondaires aux propriétés antimicrobiennes et antioxydantes (Benavente-García et *al.*, 1997), les microorganismes, notamment les actinomycètes, génèrent des antibiotiques naturels essentiels à la santé et à l'agriculture (Okudoh et Wallis, 2007) et les animaux peuvent contribuer à des thérapies, comme la zoothérapie, pour traiter des maladies humaines (Alves et Alves, 2011).

Ces propriétés biologiques, en plus de leurs bénéfices pour les organismes vivants, sont exploitées dans des secteurs industriels tels que la pharmacie et l'agroalimentaire, pour répondre aux défis de santé et de durabilité (Newman et Cragg, 2012).

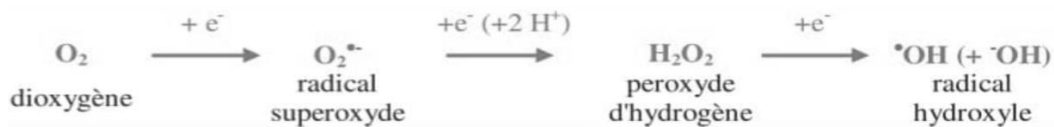
Étant donné leur importance dans les processus cellulaires et leurs multiples applications industrielles, de nombreuses recherches ont été réalisées pour étudier les propriétés biologiques des différents organismes vivants. Parmi ces propriétés biologiques, on peut citer les propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes et enzymatiques.

1.1. Les oxydants et les propriétés antioxydantes

1.1.1. Les oxydants

Les oxydants sont des molécules réactives produites dans les cellules, notamment par l'action d'enzymes spécifiques appelées oxydases qui utilisent l'oxygène moléculaire (O_2) comme substrat, générant ainsi des espèces réactives de l'oxygène (ERO) par transfert d'électrons (Finkel, 2003). Les ERO (Tableau 1) sont des radicaux libres ou des précurseurs de radicaux (Santos-Sánchez et al., 2019).

La réduction complète du dioxygène (O_2) en eau (H_2O) suit la réaction globale suivante (Gardès-Albert et al., 2003) :



Une réduction incomplète de l' O_2 entraîne la génération d'espèces réactives de l'oxygène, qui peuvent être toxiques ou destructrices dans certains systèmes biologiques (Dini, 2021).

Un dysfonctionnement du métabolisme de l'oxygène peut entraîner un excès de ces ERO, parmi lesquels se trouvent des radicaux libres tels que OH , $O_2^{\bullet-}$ et RO_2^{\bullet} , ainsi que des produits non radicalaires comme H_2O_2 et RO_2H (Gardès-Albert et al., 2003).

Tableau 1 : Les espèces réactives de l'Oxygène (Migdal et Serres, 2011).

Espèces Réactives de l'Oxygène		Réaction
Anion superoxyde	$O_2^{\bullet-}$	$O_2 + e^- \longrightarrow O_2^{\bullet-}$
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2	$O_2^{\bullet-} + e^- + 2H^+ \longrightarrow H_2O_2$
Radical hydroxyle	HO^{\bullet}	$H_2O_2 + Fe^{2+} \longrightarrow HO^{\bullet} + HO^{\bullet} + Fe^{3+}$ (1) $H_2O_2 + O_2^{\bullet-} \longrightarrow O_2 + HO^{\bullet} + HO^{\bullet}$ (2) $H_2O_2 + H_2O_2 \longrightarrow 2 H_2O + O_2$ $H_2O_2 + 2 GSH \longrightarrow 2 H_2O + GSSG$
Radical Peroxyle	RO_2^{\bullet}	$R^{\bullet} + O_2 \longrightarrow RO_2^{\bullet}$
Hydroperoxyde	RO_2H	$RO_2^{\bullet} + RH \longrightarrow RO_2H + R^{\bullet}$

Réaction (1) correspond à la réaction de Fenton et la réaction (2) à la réaction d'Haber Weiss. O_2 : oxygène ; e^- : électron ; H^+ : ion hydrogène ; Fe^{2+} : ions ferreux, Fe^{3+} : ions ferriques, GSH : glutathion réduit ; GSSG : Glutathion oxydé ; HO^- : anion hydroxyde.

Les ERO sont produites naturellement par les cellules dans le cadre de processus physiologiques, mais lorsqu'elles s'accumulent de manière excessive, elles provoquent un déséquilibre entre la production de radicaux libres et la capacité de l'organisme à les éliminer (Santos-Sánchez et *al.*, 2019). Ce déséquilibre conduit à un état de stress oxydatif, où les cellules ne parviennent plus à neutraliser efficacement ces espèces réactives. En conséquence, les ERO causent des dommages majeurs aux biomolécules cellulaires, affectant principalement les lipides, les protéines et l'ADN (Schieber et Chandel, 2014).

A savoir, il existe aussi, les espèces réactives de l'azote (ERN) sont des dérivés chimiques du monoxyde d'azote (NO^*). Elles incluent des molécules comme le peroxyde d'azote ($ONOO^-$), le trioxyde de diazote (N_2O_3) et d'autres formes réactives. Cependant, en excès, notamment sous l'effet de la NO^- synthase inductible (iNOS), elles peuvent générer du stress oxydant et nitrosant (Massionet *al.*, 2002).

Cependant, il existe un système de défense capable d'inhiber ou de neutraliser les réactions des radicaux libres, contribuant ainsi à retarder ou empêcher les dommages cellulaires (Nimse et Palb, 2015). Ce système agit par exemple par le don d'hydrogène, la neutralisation de l'oxygène singulet, la décomposition des peroxydes et l'inhibition des enzymes oxydatives (Pisoschi et Pop, 2015).

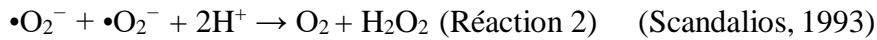
1.1.2. Les propriétés antioxydantes

Les antioxydants sont des substances chimiques capables de ralentir ou d'inhiber l'oxydation (Santos-Sánchez et *al.*, 2019). Les antioxydants agissent en éliminant les espèces réactives de l'oxygène (ERO) ou en régulant leur production, ce qui permet de protéger les lipides, les protéines et les acides nucléiques des dommages oxydatifs provoqués par les ERO (Hasanuzzaman et *al.*, 2020).

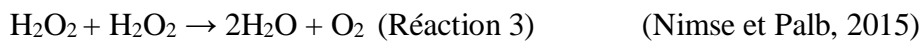
Les systèmes antioxydants qui interviennent, afin de limiter l'accumulation des espèces réactives de l'oxygène (ERO), comprenant des activités enzymatiques et non enzymatiques (Matés et *al.*, 1999).

• Les antioxydants enzymatiques comme la superoxyde dismutase (SOD) (voir la réaction 2), les catalases (CAT) (voir la réaction 3) et l'ascorbate peroxydase (APX) (voir la réaction 4) (Hasanuzzaman et *al.*, 2020). Ces enzymes par exemple corrigent les altérations des biomolécules et restaurent l'intégrité de la membrane cellulaire endommagée (Panda, 2012).

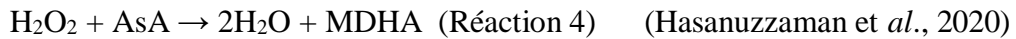
SOD



CAT



APX



• Les antioxydants non enzymatiques comme les composés phénoliques caroténoïdes, la vitamine C (voir la réaction 5) et certains minéraux tels que le sélénium et le zinc (Santos-Sánchez et *al.*, 2019).



Le maintien de l'équilibre redox à l'intérieur des cellules est un processus fondamental pour assurer la stabilité cellulaire et le bon déroulement des fonctions biologiques (Meng et *al.*, 2017). Cet équilibre repose sur une régulation fine entre la production des espèces réactives et les systèmes de défense antioxydants (Figure 1) (Santos-Sánchez et *al.*, 2019). Lorsque ce mécanisme est perturbé en faveur des ERO, un stress oxydatif s'installe, pouvant causer des dommages cellulaires (Haleng et *al.*, 2007). Ce processus repose donc essentiellement sur l'action de molécules antioxydantes, en particulier le glutathion réduit (GSH) pour neutraliser ces espèces réactives (Gasmi et *al.*, 2024).

Le GSH un tripeptide contenant un groupement thiol, présent dans la plupart des cellules vivantes, des bactéries aux mammifères (Gaucher et *al.*, 2018). Il s'agit d'un puissant antioxydant impliqué dans le maintien de l'équilibre redox intracellulaire. Il participe à la neutralisation des ERO et des ERA, conduisant à sa conversion en glutathion oxydé (GSSG) (Georgiou-Siafis et Tsiftoglou, 2023) (voir

la réaction 6). Ceci montre l'implication du GSH dans la protection cellulaire contre le stress oxydatif, notamment en inactivant des molécules toxiques telles que le peroxyde d'hydrogène (Birben et *al.*, 2012).

GPX

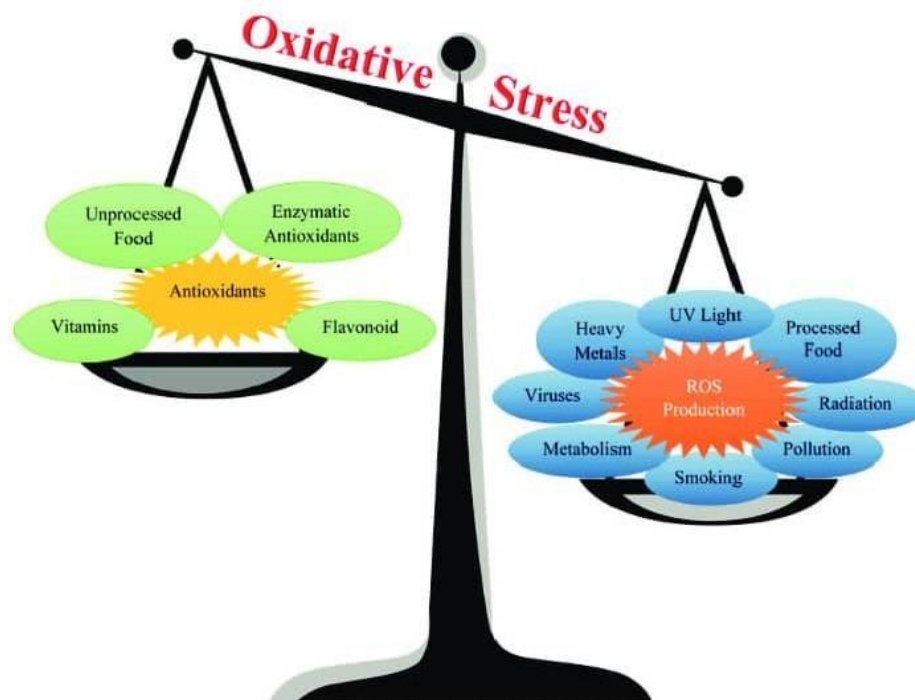


Figure 1 : Relation entre les espèces réactives de l'oxygène (ERO), le système de défense (antioxydant) et le stress oxydatif (Koçer, 2023).

Une autre propriété biologique importante pour les organismes vivants et pour l'industrie, c'est la propriété enzymatique.

1.2. Les propriétés enzymatiques

Les enzymes sont des catalyseurs biologiques, également appelés biocatalyseurs, qui accélèrent les réactions biochimiques dans les organismes vivants (Robinson, 2015). Les enzymes sont extrêmement efficaces, elles accélèrent les réactions en réduisant l'énergie d'activation, elles sont actives à faibles concentrations

et ne sont ni consommées ni altérées au cours de la réaction (Kumar et *al.*, 2020).

La structure fonctionnelle de l'enzyme comprend une partie protéique appelée apoenzyme et, dans certains cas, un composant non protéique appelé groupe prosthétique. L'ensemble formé, nommé holoenzyme (apoenzyme + groupe prosthétique), représente la forme active de l'enzyme (Singh, 2021) (Figure 2). Bien que certaines enzymes soient constituées uniquement de protéines, d'autres nécessitent un cofacteur pour fonctionner. Ce cofacteur peut être une molécule organique (coenzyme) ou un ion métallique inorganique comme le fer, le cuivre ou le zinc (Robinson, 2015).

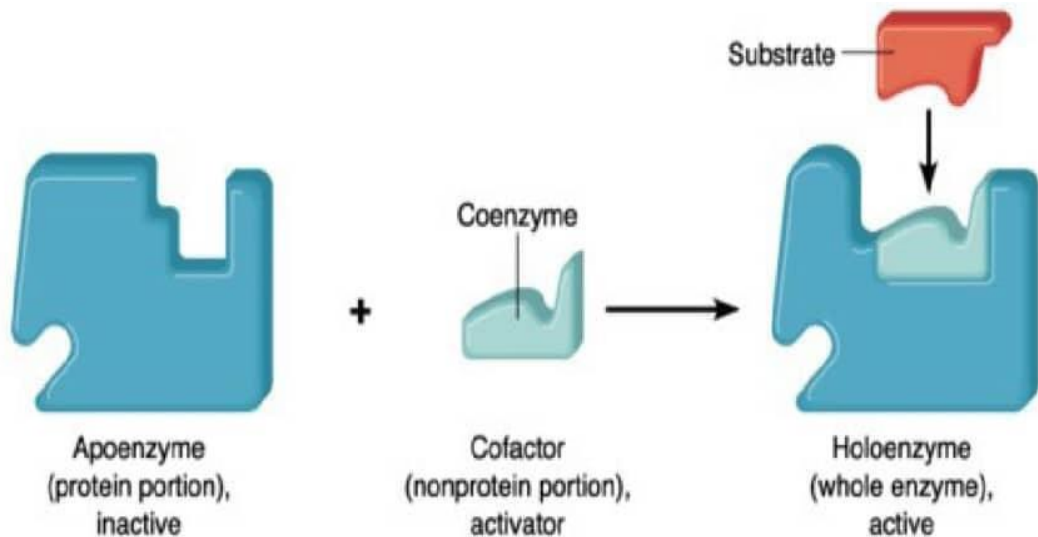


Figure 2 : Activation d'une enzyme par un cofacteur : Formation de l'holoenzyme (Patel, 2021).

Le substrat se lie à une enzyme, formant un complexe enzyme-substrat. Cette interaction provoque un ajustement induit, c'est-à-dire une modification de la forme de l'enzyme qui facilite la catalyse. Le substrat est alors transformé en produit (Figure 3) (Friedman et Terry, 2021).

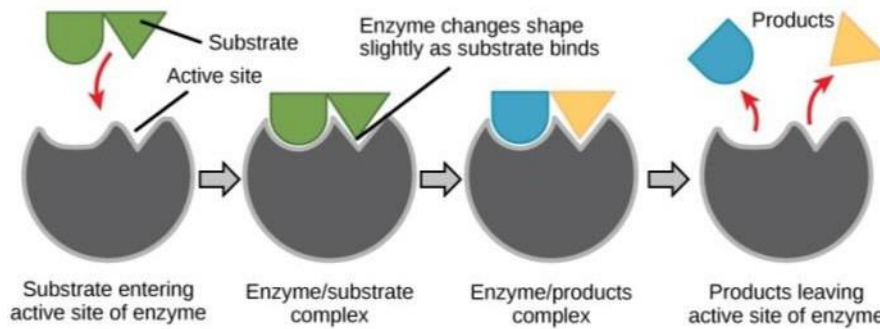


Figure 3 : L'action enzymatique : transformation d'un substrat en produit par une enzyme (Friedman et Terry, 2021).

Le site actif est la région de l'enzyme où les substrats sont chimiquement transformés en produits (Kingsley et Lill, 2015). Si la catalyse dépend souvent d'un petit groupe de résidus au sein du site actif (Bartlett et *al.*, 2002), d'autres éléments structuraux, comme la spécificité du substrat et l'efficacité catalytique, peuvent impliquer des résidus éloignés du site actif (Shimotohno et *al.*, 2001).

Enfin, les enzymes subissent des changements conformationnelles au cours du processus catalytique, facilitant la reconnaissance du substrat, la catalyse proprement dite et l'interaction avec des molécules régulatrices. Ces changements sont essentiels pour garantir l'efficacité et la spécificité de l'enzyme (Kumar et *al.*, 2020).

La classification des enzymes repose sur le type de réaction chimique qu'elles catalysent. Selon la nomenclature officielle de l'Union internationale de biochimie et biologie moléculaire (IUBMB) (Boyce et Tipton, 2001), les enzymes sont classées en 7 classes principales. La nomenclature est composée de 4 parties qui identifient la classe principale, la sous-classe, la sous-sous-classe et la classe de substrat de l'enzyme (Tao et *al.*, 2020). Le tableau suivant résume ces 7 classes avec leur fonction et exemples.

Tableau 2 : Classes d'enzymes, fonctions et types de réactions.

Numéro de classe (EC)	Nom de classe	Fonctions et réactions
1	Oxydoréductases	Enzymes catalysant les oxydoréductions entre deux substrats, S et S' (Singh, 2021). $AH_2 + B^+ = A + BH + H^+$ ou $AH_2 + B = A + BH_2$
2	Transférases	Enzymes catalysant le transfert d'un groupe fonctionnel (G) autre que l'hydrogène entre substrats (Singh, 2021). $AX + B = A + BX$
3	Hydrolases	Enzymes catalysant l'hydrolyse des liaisons ester, peptidique ou glycosidique (Singh, 2021). $A-B+H_2O=AH+BOH$
4	Lyases	Enzymes catalysant l'élimination de groupes des substrats par un mécanisme autre que l'hydrolyse, laissant une double liaison dans l'un des produits (Singh, 2021). $A = B + X-Y = A-B$ <div style="text-align: center;"> $\begin{array}{cc} & \\ X & Y \end{array}$ </div>
5	Isomérasés	Enzymes catalysant l'interconversion d'isomères optiques, géométriques ou de position (Singh, 2021). $A=B$
6	Ligases	Enzymes catalysant la jonction de deux composés avec l'hydrolyse d'un composé à haute énergie (Singh, 2021). $A + B + NTP = A-B+NDP + P$ ou $A + B + NTP = A-B + NMP + PP$
7	Translocase	Enzymes qui catalysent le mouvement des ions ou des molécules à travers les membranes ou leur séparation au sein de celles-ci (McDonald et Tipto, 2023). $AX + B \text{ [side 1] } = A + X + B \text{ [side 2]}$

1.3. Autres propriétés biologiques

En plus des propriétés antioxydantes et enzymatiques, il existe d'autres propriétés biologiques aussi importantes, telles que des activités anti-inflammatoires, anticancéreuses et antimicrobiennes.

Pour les activités anti-inflammatoires, les composés polyphénoliques, en particulier les flavonoïdes (Maleki et *al.*, 2019), exercent des effets anti-inflammatoires significatifs en régulant la production de cytokines (Leyva-López et *al.*, 2016). Par ailleurs, les propriétés anticancéreuses sont principalement liées à l'induction de l'apoptose, à la régulation du cycle cellulaire et à l'inhibition de la prolifération des cellules tumorales (Fulda et Debatin, 2006). Enfin, certains peptides antimicrobiens sont capables d'inhiber la croissance ou de détruire divers microorganismes pathogènes, qu'ils soient bactériens, fongiques ou viraux (Luo et Song, 2021).

2. Importance des propriétés biologiques dans les différents secteurs industriels

Les microorganismes constituent une source prometteuse de composés bioactifs, exploitables dans les secteurs médical, agricole, alimentaire et industriel (Chandra et *al.*, 2020). En parallèle, les matières premières d'origine végétale demeurent essentielles pour les industries pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires (Harhaun et *al.*, 2020).

Parmi ces composés naturels, les antioxydants occupent une place importante. Ces antioxydants sont présents dans les aliments et les plantes médicinales, ils sont largement utilisés dans les aliments fonctionnels, les produits pharmaceutiques et les additifs alimentaires (Xu et *al.*, 2017). De plus, les emballages aux propriétés antimicrobiennes et antioxydantes jouent un rôle clé dans l'industrie agroalimentaire, en améliorant la qualité des produits et en prolongeant leur durée de conservation (Dos Anjos et *al.*, 2020).

Un autre domaine d'application majeur des propriétés biologiques est celui des enzymes, largement utilisées pour catalyser des réactions dans des procédés industriels variés (Robinson, 2015). Dans l'industrie alimentaire, les enzymes sont ajoutées à différentes étapes de la production, de la transformation, au stockage notamment dans les secteurs de la boulangerie, des boissons, des jus, du vin, des produits laitiers et des huiles (Patel et *al.*, 2016). Par exemple, les enzymes

amylolytiques, sont utilisées pour la production de sirops (glucose, fructose, maltose), la réduction de la viscosité et de la turbidité des jus, ainsi que dans la fabrication de la bière (Nigam, 2013). Aussi, les phytases représentent une avancée biotechnologique majeure, avec des applications croissantes dans l'alimentation humaine et animale (Handa et al., 2020).

Enfin, les extrémozymes, issues d'organismes vivants dans des conditions extrêmes, sont de plus en plus étudiées et utilisées pour leur robustesse dans des environnements difficiles, notamment dans les industries alimentaire, pharmaceutique, agricole et en biologie moléculaire (Chatterjee et al., 2023).

3. Les différents sources et provenances des propriétés biologiques

3.1. les sources microbiennes

Les composés naturels produits par les microorganismes ont démontré une valeur considérable dans des domaines clés tels que la nutrition, l'agriculture et la santé humaine (Singh et al., 2017). Ces microorganismes, incluant les bactéries, les champignons, les cyanobactéries et autres formes marines ou telluriques,

Les cyanobactéries marines, sont considérées comme les microorganismes procaryotes les plus anciens, appartiennent à un groupe monophylétique ayant évolué pour produire des substances naturelles d'intérêt pharmaceutique, notamment des composés anticancéreux et antimicrobiens (Shah et al., 2017). De même, Les microorganismes marins sont aujourd'hui reconnus comme une source précieuse de produits bioactifs, notamment des peptides médicinaux aux effets variés (Youssef et al., 2019).

Aussi, les bactéries du sol, en particulier celles isolées de la rhizosphère, se sont révélées être d'excellentes candidates dans la production d'antibiotiques naturels. Des études ont mis en évidence leur efficacité contre certains pathogènes humains (Gislin et al., 2018). D'autres études ont également conduit à la découverte de nouveaux organismes producteurs d'antibiotiques, prometteurs pour des applications biologiques et commerciales dans la lutte contre les maladies des plantes (Okudoh et Wallis, 2007).

Aussi concernant les enzymes, de nombreuses d'enzymes microbiennes sont utilisées dans l'industrie (Nigam, 2013). Par exemple, la bactérie *Bacillus* sp est capable de produire une enzyme résistante à la chaleur, au sel et aux milieux alcalins

(Johnvesly et Naik, 2001). Ces enzymes sont utiles dans les détergents, le cuir, la médecine, l'agroalimentaire et le traitement des déchets (Kumar et Takagi, 1999).

3.2. Les sources animales

Les animaux représentent une source importante utilisée en médecine traditionnelle et dans l'industrie pharmaceutique pour le traitement de diverses affections humaines, grâce à leurs produits et composés bioactifs (Alves et Alves, 2011). Parmi ces animaux, les reptiles se distinguent par la richesse de leur venin et de leur plasma sanguin en métabolites bioactifs, qui servent de substrats pour la fabrication de médicaments (James, 2017). Outre les vertébrés, les insectes suscitent également un grand intérêt thérapeutique en raison de leurs peptides antimicrobiens, de leur capacité à améliorer l'utilisation du glucose, ainsi que de leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires (Dutta et *al.*, 2019). Les concombres de mer sont riches en composés bioactifs, notamment des phénols, des polysaccharides, des protéines comme le collagène, des peptides, des caroténoïdes et des saponines, qui leur confèrent d'importantes propriétés antioxydantes et des effets bénéfiques pour la santé (Hossain et *al.*, 2022).

3.3. Les sources végétales

Les plantes produisent de nombreux métabolites secondaires impliqués dans leur défense contre les herbivores et les microbes, et dans la signalisation. Ces substances présentent aussi diverses activités biologiques et pharmacologiques (Wink, 2015). Aussi les dérivés des plantes ou leurs extraits sont une source importante de ces propriétés biologiques, par exemple les composés phénoliques sont largement impliqués dans les activités antioxydantes, enzymatiques, anti-inflammatoires, anticancéreuses et antimicrobiennes (Benavente-García et *al.*, 1997).

Des substances extraites et purifiées à partir de différentes parties végétales présentent des bioactivités variées, faisant des plantes une source importante de nouveaux composés bioactifs (Bergonzi et *al.*, 2022). Par exemple, *Peganum Harmala* contient de l'harmine, un agent anticancéreux puissant capable d'induire l'apoptose et d'inhiber la prolifération cellulaire (Meinguet et Wouters, 2015). De plus, la plante *Clerodendrum infortunatum* renferme des extraits particulièrement riches en ces composés, ce qui explique sa forte activité antioxydante (Gouthamchandra et *al.*, 2010).

Les parties comestibles des plantes, comme les fruits, les feuilles, les fleurs et les graines, sont reconnues comme sources riches en composés phénoliques et flavonoïdes, des molécules aux effets biologiques variés (Gentile, 2021). Par ailleurs, certaines feuilles, notamment celles de *Myrtus communis* et de *Verben aofficinalis*, ont montré une activité antibactérienne notable (Vaou et al., 2021). Enfin, les graines de riz blanc contiennent des concentrations élevées de composés phénoliques avec une capacité antioxydante importante (Pang et al., 2018), tandis que celles d'avocat (*Persea americana L*) présentent des propriétés enzymatiques intéressantes, telles que les protéases, les superoxydes dismutases et les peroxydases (Kupnik et al., 2023).

Parmi ces plantes, il existe aussi la plante du lin (*Linum usitatissimum*), une plante importante et polyvalente, utilisée dans plusieurs secteurs tels que l'alimentation, les cosmétiques, la pharmacie et le textile (Prabha et al., 2017). Ses graines, en particulier, renferment divers composés présentant des activités biologiques (Imran et al., 2015). Ces composés, appelés phyto-composés sont biologiquement actifs (Chera et al., 2022). Dans cette continuité, la présente étude s'intéresse aux graines de *Linum usitatissimum* afin d'explorer leur potentiel en composés bioactifs et leurs éventuelles propriétés biologiques.

4. La plante *Linum usitatissimum* et les propriétés biologiques

La plante du lin appelée scientifiquement *Linum usitatissimum* (Figure 4), est l'une des plus anciennes plantes cultivées pour la production d'huile et de fibres (Jhala et Hall, 2010). Le lin est une plante élancée pouvant atteindre jusqu'à 1,2 mètre de hauteur. Ses feuilles, de couleur verte glauque, sont simples, étroites et allongées, mesurant entre 20 et 40 mm de long pour environ 3 mm de large (Saleem et al., 2020).

Le lin se développe particulièrement bien dans les régions au climat tempéré et humide. Les zones maritimes de l'Europe de l'Ouest, comme la Belgique, les Pays-Bas et la France, offrent des conditions idéales à sa culture (Goudenhoft et al., 2019). On distingue deux grands types de cultivars : ceux cultivés pour la production de graines ou d'huile, qui sont plutôt courts et ramifiés avec de nombreuses capsules à graines, et ceux destinés à la fibre, qui présentent une croissance plus haute, des tiges droites et peu de ramifications (Jhala et Hall, 2010).



Figure 4 : La plante de *Linum usitatissimum* (Anurag et al., 2020).

Cette plante est largement reconnue pour ses nombreux bienfaits sur la santé. Cette plante médicinale appartient à la famille des Lianacées (Tableau 3) (Barozai, 2012).

Tableau 3 : Classification de la plante *Linum usitatissimum* selon Badole et al, 2013.

Règne	<i>Plantae</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Ordre	Malpighiales
Famille	<i>Linacées</i>
Genre	<i>Linum</i>
Espèce	<i>Usitatissimum</i>

La plante de lin, présente une source de nutriments et de composés bioactifs, tels que l'acide alpha-linolénique, les acides gras, les protéines, les peptides, les fibres, les glucides, le mucilage, les micronutriments et surtout les lignanes (Mueed et *al.*, 2022). Les lignanes sont des composés diphénoliques complexes appartenant à la classe des phytoestrogènes. Ils constituent des métabolites spécialisés majeurs des plantes, dotés d'attributs biologiques exceptionnels (Chhillar et *al.*, 2021). Ils peuvent exercer des actions antibactériennes, antivirales et antifongiques, et possèdent également des propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes (Schmidt et *al.*, 2012).

Parmi ces lignanes, le sécoisolaricirésinol diglucoside (SDG), le matairésinol, le sécoisolaricirésinol et le laricirésinol diglucoside sont particulièrement notables pour leurs propriétés antioxydantes et leur rôle dans la prévention et le traitement de plusieurs cancers, notamment ceux du sein, du côlon et de la prostate (Hano et *al.*, 2006).

En raison de son adaptabilité et de la diversité de ses produits dérivés, le lin est également considéré comme une plateforme prometteuse pour le développement de nouveaux bioproduits (Jhala et Hall, 2010).

5. Les graines de la plante *Linum usitatissimum* et les propriétés biologiques

Les graines de lin (*Linum usitatissimum*) proviennent de la plante de lin. Il en existe deux variétés principales : dorée et brune (Figure 5). Les graines de lin ont une forme plate ou ovale, mesurant entre 4 et 6 mm de long, avec une extrémité pointue (Imran et *al.*, 2015). Les graines de lin contiennent des photocomposés comme les acides phénoliques, les acides cinnamiques et les flavonoïdes, qui influencent positivement la croissance et la viabilité cellulaires (Amin et Thakur, 2014). Grâce à sa richesse nutritionnelle et fonctionnelle, la graine de lin est classée parmi les aliments fonctionnels ou bioactifs (Hu et *al.*, 2020). Par ailleurs, les avancées en biotransformation permettent d'améliorer la biodisponibilité de ses composants pour des applications dans les domaines des nutraceutiques, des cosmétiques et de l'industrie alimentaire (Dzuvor et *al.*, 2018).



Figure 5 : Les graines de *Linum usitatissimum* (Anurag et al, 2020).

Les graines de *Linum usitatissimum* sont dotées de nombreuses actions et effets bénéfiques pour la santé, notamment des propriétés antitumorales, antioxydantes, anti-inflammatoires (Chera et al., 2022), antibactériennes, antivirales et antifongiques (Schmidt et al., 2012). Ces graines possèdent également des effets antihypertenseurs, immunosuppresseurs et antidiabétiques (Mueed et al., 2022). Par ailleurs, la graine de lin contient plusieurs enzymes importantes, telles que des amylases (Taubner et al., 2023), des hydrolases comme la cystéine protéase (Nandish et al., 2020) et des transférases, notamment les glycosyltransférases (Ghose et al., 2014).

Étant donné l'importance des graines de *Linum usitatissimum* dans les domaines biologiques, médicaux et industriels, l'objectif de notre étude est de rechercher des propriétés antioxydantes et enzymatiques présentes au niveau de ces graines.

Matériels et Méthodes

Ce travail a été réalisé au sein du Laboratoire de Biochimie de l'Université Belhadj Bouchaib-Ain Temouchente durant le second semestre du Master 2 de l'année universitaire 2024/2025, afin de rechercher des activités biologiques dans les graines de *Linum usitatissimum* (graines de Lin).

1. Matériel biologique

Les graines de *Linum usitatissimum* (Figure 6-A), ont été achetées au niveau d'un commerce de la ville d'Ain-Temouchent, ensuite ils ont été broyés pour être utilisés sous forme de poudre (Figure 6-B).



Figure 6 : Les graine de *Linum usitatissimum* (A) et leur poudre obtenus après broyage (B).

2. Préparation de la solution des graines de *Linum usitatissimum*

Afin de rechercher des activités biologiques dans la solution des graines de *Linum usitatissimum*, deux solutions ont été préparées. La première solution a été obtenue en dissolvant la poudre de graines dans de l'eau distillée à une concentration de 2 mg/mL, puis en la mettant sous agitation pendant 1 h 30 min à 2 h à température ambiante. La seconde solution a été préparée de manière similaire, en dissolvant la poudre de graines dans de l'eau distillée à une concentration de 2 mg/mL, mais cette

fois incubée dans un bain-marie à 50 °C pendant 1 h 30 min. Ces deux préparations seront utilisées pour évaluer leurs activités biologiques.

Ensuite, la solution obtenue est ensuite centrifugée à 6000 tours/min pendant 5min. Le surnageant présentant un aspect laiteux a été récupéré pour être utilisé dans la recherche des activités biologiques.

3. Dosage des protéines (méthode de Bradford, 1976)

Afin de doser la quantité de protéines dans la solution de la poudre des graines de *Linum usitatissimum*, la méthode de Bradford a été utilisée.

Le test de Bradford repose sur la réaction du Coomassie Bleu Brillant G-250, avec les résidus d'acides aminés basiques présents dans les protéines. Cette méthode est populaire en raison de sa simplicité d'utilisation, de sa rapidité, de sa sensibilité relative et de sa faible interférence avec d'autres substances (Ku et *al.*, 2013).

Pour déterminer la quantité des protéines dans la solution des graines, une courbe étalon $DO_{595\text{ nm}} = f([\text{protéine de référence}])$ a été préparée en utilisant une solution mère de la protéine de référence à une concentration de 1 mg/mL.

A partir de la solution mère de l'hémoglobine à 1 mg/mL, une gamme de solution étalon à différentes concentrations (0,05. 0,1. 0,25. 0,5. 1 mg/mL) à été préparée. Ensuite, 0,2 mL du réactif de Bradford ont été ajoutés à 0,8 mL de chacune des concentrations. Le mélange est ensuite laissé à l'obscurité et à température ambiante pendant 5 min.

La densité optique (DO) est mesurée à 595 nm afin d'établir la courbe d'étalonnage $DO_{595\text{ nm}} = f(\text{Hémoglobine})$.

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
Solution mère de l'hémoglobine [1 mg/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 antioxydantes dans la solution des graines de *Linum usitatissimum*

4.1. Recherche d'activités catalasiques dans la solution des graines de *Linum usitatissimum*

a) préparation de la courbe étalon d'H₂O₂

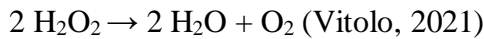
Pour évaluer la quantité de l'H₂O₂ dégradée par l'activité catalasique des graines de *Linum usitatissimum*, une courbe d'étalonnage $DO_{240nm} = f([H_2O_2])$ a été établie à partir d'une solution mère d'H₂O₂ à 10 mM. À cet effet, une série de solutions étalons de concentrations variables en H₂O₂ (0, 0,1, 0,5, 1, 5 et 10 mM) a été préparée.

Tableau 5 : La gamme étalon pour la préparation de la courbe étalon de l'H₂O₂.

[H₂O₂] (mM)	0	0,1	0,5	1	5	10
Solution mère de l'H₂O₂ à 10 Mm (mL)	0	0,01	0,05	0,1	0,5	1
Eau distillée (mL)	1	0,99	0,95	0,9	0,5	0

b) Recherche des activités catalasiques

Pour évaluer l'activité catalasique des graines de *Linum usitatissimum*, un mélange réactionnel est préparé avec 1 mL d'H₂O₂ à 10 mM, 0,5 mL de tampon phosphate (0,1 mM, pH 7) et 0,5 mL de l'échantillon testé à différentes concentrations (25 %, 50 %, 75 % et 100 %). L'incubation se déroule à température ambiante pendant 15 minutes. La catalase permet de neutraliser le peroxyde d'hydrogène (Tehrani et Moosavi-Movahedi, 2018). La catalase est une enzyme qui catalyse préférentiellement la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en oxygène et en eau selon la réaction suivante :

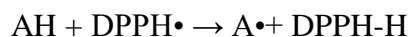


4.2. Recherche des capacités de piégeage du DPPH dans la solution des graines *Linum usitatissimum*

La recherche d'activité antioxydant par la technique du dosage du 1,1-DiPhényl-2-PicrylHydrazyl (DPPH) a été développé par Blois en 1958. Cette technique repose sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical libre DPPH (Kedare et Singh, 2011).

La molécule (DPPH) est un radical libre stable. Lorsqu'une solution de DPPH de couleur violette entre en contact avec un antioxydant capable de lui donner un atome d'hydrogène (Molyneux, 2004), la molécule de DPPH subit une réduction pour donner une couleur jaune pâle stable (Sirivibulkovit et *al.*, 2018).

La réaction de réduction du radical DPPH en DPPH-H est décrite dans l'équation suivante (Angeli et *al.*, 2023) :



AH est un antioxydant donneur de proton.

a) Préparation de la courbe étalon du DPPH

Pour déterminer les quantités de DPPH consommées, une courbe étalon DO_{517nm} = f ([DPPH]) a été préparée à partir d'une gamme étalon (0,0125. 0,025. 0,05. 0,1 mM) à

&²différentes concentrations de DPPH, préparées à partir d'une solution mère à 0.1mM de DPPH (Tableau 6). La DO est ensuite mesuré à 517 nm.

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 à 0.1mM (mL)	0	0,125	0.25	0,5	1
Ethanol (mL)	1	0,975	0,75	0,5	0

b) Recherche de l'activité de piégeage du DPPH

Pour déterminer les capacités du piégeage du DPPH, un mélange réactionnel a été préparé. Ce mélange est constitué de 1mL de la solution du DPPH à 0,1 mM (Chaves et al, 2020) et 1 mL de la solution à différentes concentrations (25 %, 50 %,75 %, 100 %) et après 30 minutes d'incubation de ce mélange, un suivi de la disparition du DPPH(par rapport à la concentration du DPPH au temps 0 minute d'incubation) a été réalisé par mesure d'absorbance par spectrophotométrie à 517 nm (Herrera-Hernández et *al.*, 2018), contre un blanc préparé dans les mêmes conditions mais en absence du DPPH.

Afin de comparer l'activité de piégeage du DPPH par la solution avec un antioxydant de référence, l'acide ascorbique à différentes concentrations (0,0007. 0,001. 0,003. 0,006. 0,0125. 0,025 mg/mL) a été utilisé comme un antioxydant standard (Talbi et *al.*, 2015).

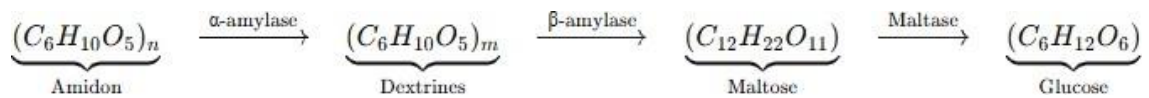
5. Recherche d'activités enzymatiques dans la solution des graines de *Linum usitatissimum*

5.1. Recherche d'activités amylasiques dans la solution des graines de *Linum usitatissimum*

Afin de rechercher l'activité amylasique dans des graines de *Linum usitatissimum*, une méthode basée sur le dosage de la disparition de l'amidon a été effectué.

Les amylases sont des enzymes qui ont la capacité de décomposer les liaisons glycosidiques au sein des molécules d'amidon, transformant ainsi les glucides complexes en sucres plus simples (Akinfemiwa et *al.*, 2023).

L'amidon est d'abord hydrolysé en dextrans par l'activité de l'alpha-amylase, et que le maltose a été produit à partir de dextrans par l'activité bêta-amylase, puis hydrolysé en glucose par maltase, comme indiqué dans la réaction suivante (Ogori et Taofeek, 2021) :



a) Préparation de la solution de substrat

Pour doser l'activité des amylases, la méthode de Caraway Somogyi iode/potassium iodure (IKI) a été utilisée. La préparation de la solution du substrat consiste à ajouter 40 mL d'une solution d'amidon à 1 %, à 50 mL d'eau distillée en ébullition. Après agitation et refroidissement de cette solution d'amidon à température ambiante, une quantité suffisante pour 100 mL d'eau distillée a été ajouté (Fatema, 2017). Un volume de cette solution est récupéré et dilué 10 fois dans de l'eau distillée pou être utilisé comme substrat (Fatema, 2017).

b) Préparation de la courbe étalon de l'amidon

Pour préparer la courbe étalon de l'amidon, une série des concentrations allant de 20 à 400 µg/mL a été préparée à partir d'une solution mère d'amidon à 400 µg/mL (Tableau 7).

La courbe étalon a été préparé à partir de l'absorbance, correspondant aux différentes concentrations de l'amidon, l'absorbance est mesurée à 620 nm (Syn et Chen, 1997).

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

Solutions étalons d'amidon (µg/mL)	0	20	40	60	80	100
Solution mère d'amidon	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5

(400µg/mL)						
Eau distillée (mL)	2	1,9	1,8	1,7	1,6	1,5

c) Recherche des activités amylasiques

Le milieu réactionnel est constitué de 0,1 mL de cette solution d'amidon préparée, 0,750 mL de tampon phosphate à 0,1 M et pH 7 et de 0,4 mL de l'extrait brut enzymatique. Le mélange réactionnel est incubé à 30 °C. Puis 0,750 mL de Lugol sont ajoutés au mélange réactionnel.

Afin de stopper la réaction enzymatique 1,5 mL d'HCl à 10 % ont été ajouté à 1 mL du mélange réactionnel (Fatema, 2017). L'absorbance est mesurée à 620 nm (Syn et Chen, 1997), contre un blanc préparé et incubé dans les mêmes conditions.

5.1.1. Caractérisation des activités amylasiques

a) Influence du temps d'incubation sur les activités amylasiques

Afin d'étudier l'influence le temps sur l'activité des amylases, les milieux réactionnels, décrits précédemment, sont incubés à 30°C pendant différents temps 2, 5, 10, 15 et 20 minutes.

b) Influence de la température sur les activités amylasiques

Afin d'étudier l'influence de la température sur l'activité des amylases, les milieux réactionnels, décrits précédemment, sont incubés à différentes températures 20, 25, 35, 40, 45 et 50 °C pendant 5 min.

c) Influence du pH sur les activités amylasiques

Pour étudier l'influence du pH sur l'activité des amylases, le tampon phosphate 0,1 M à pH 7 (neutre) du milieu réactionnel est remplacé par différents tampons : un tampon acétate d'ammonium - acide acétique 0,1 M à pH 5 et un tampon phosphate 0,1 M à pH 6 pour les conditions acides, ainsi qu'un tampon phosphate 0,1 M à pH 8 et un tampon Glycine-NaOH 0,1 M à pH 9 pour les conditions basiques. Ensuite, les milieux réactionnels, décrits précédemment, sont incubés à 30 °C pendant 5 min.

d) Influence du CaCl₂ sur les activités amylasiques

Pour déterminer l'effet du CaCl₂ sur l'activité des amylases, le tampon phosphate à 0,1 M et pH 7 est additionné du CaCl₂ à 0,1 M. Ensuite, les milieux réactionnels, décrits précédemment, sont incubés à 30 °C pendant 5 minutes.

5.1.2. Effet de différents traitements, thermique, pH et CaCl₂ sur la stabilité de l'activité amylasique

a) Effet du traitement thermique sur la stabilité de l'enzyme

La thermostabilité d'amylase est déterminée par incubation, dans un bain-marie, des échantillons à 90 °C (Saxena et *al.*, 2007) pendant 2 h. Après traitement thermique de 1 h et 2 h, l'activité résiduelle de l'enzyme est mesurée en suivant le protocole standard utilisé précédemment pour évaluer l'activité amylasique.

b) Effet du pH sur la stabilité de l'enzyme

L'effet du pH sur la stabilité d'amylase est testé par une pré-incubation des échantillons (en absence du substrat) en présence de quantités d'acide ou de base à l'échantillon (Acosta-Pavasa et *al.*, 2020). L'acide utilisé est l'acide chlorhydrique (HCl) à 1 M, tandis que la base utilisée est l'hydroxyde de sodium (NaOH) à 1 M. Le traitement acido-basique est effectuée pendant 1 h et 2 h à température ambiante. L'activité résiduelle de l'enzyme est mesurée en suivant le protocole standard utilisé précédemment pour évaluer l'activité amylasique.

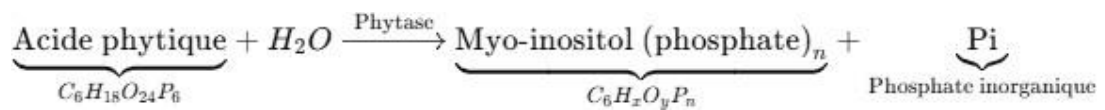
c) Effet du CaCl₂ sur la stabilité de l'enzyme

L'effet du CaCl₂ sur la stabilité d'amylase (Yadav, 2012) est testé par une pré-incubation des échantillons (en absence du substrat) dans le tampon acétate d'ammonium–acide acétique additionné de 1M de CaCl₂, pendant 1h et 2 h à température ambiante. Après traitement au CaCl₂, l'activité résiduelle de l'enzyme est mesurée en suivant le protocole standard utilisé précédemment pour évaluer l'activité amylasique.

5.2. Recherche d'activités phytasique dans la solution des graines de *Linum usitatissimum*

Afin de rechercher l'activité phytasique dans les graines de *Linum usitatissimum*, une méthode basée sur la quantification du phosphate inorganique (Pi) libéré a été utilisée.

Les phytases (enzymes) sont des hydrolases qui catalysent l'hydrolyse du phytate (substrat) (myo-inositol hexakisphosphate) (Ariza et al., 2013). Cette réaction produit le myo-inositol (phosphate)_n et le phosphate inorganique (Pi) (McKie et Mccleary, 2016), comme indiqué dans la réaction suivante :



a) Préparation de la courbe étalon du phosphate

Afin de calculer la concentration de Pi libérée par l'activité phytasique, une courbe étalon $DO_{355nm} = f([KH_2PO_4])$ a été tracée. Pour cela, une série de concentrations allant de 0,2 à 1 mM a été préparée à partir d'une solution mère de KH_2PO_4 à 1 mM.

Tableau 8 : La gamme étalon de la solution du KH_2PO_4 .

[KH_2PO_4] mM	0	0,2	0,4	0,6	0,8	1
Volume (mL) de la solution mère du KH_2PO_4 de 1 mM	0	0,2	0,4	0,6	0,8	1
Eau distillé (mL)	1	0,8	0,6	0,4	0,2	0

b) Recherche des activités phytasiques

Afin de doser les activités phytasiques dans les graines de *Linum usitatissimum*, la méthode de Sajidan et al. (2015) avec quelque modification a été utilisée.

Le mélange réactionnel est constitué de 125 μL de tampon d'acétate d'ammonium-acide acétique à 0,1 M et pH 5, contenant le phytate de sodium à 5 mM et 25 μL de la solution des graines de *Linum usitatissimum*.

Le Pi libéré est mesuré selon la méthode modifiée de Heinonen et lahti, (1981) in Sajidan et al. (2015). La réaction enzymatique est arrêtée par addition à ce mélange réactionnel un volume de 750 μL d'une solution préparée au dernier moment et contenant de l'acétone, de l'acide sulfurique à 2,5 M et de molybdate d'ammonium à 10mM aux rations suivants de 2 : 1 : 1 v/v. Ensuite, 100 μL d'acide citrique à 1 M sont ajoutés à ce mélange. L'absorbance est déterminée à 355 nm (Sajidan et al., 2015).

5.2.1. Caractérisation des activités phytasiques

a) Influence du temps d'incubation sur les activités phytasiques

Afin d'étudier l'influence le temps sur l'activité phytique, les milieux réactionnels, décrits précédemment, sont incubés à 30 °C pendant différents temps 2, 5, 10 et 15 minutes.

b) Influence de la température sur les activités phytasiques

Afin d'étudier l'influence de la température sur l'activité phytique, les milieux réactionnels, décrits précédemment, sont incubés à différentes températures 20, 25, 35, 40, 45 et 50 °C pendant 15 min.

c) Influence du pH sur les activités phytasiques

Pour étudier l'influence du pH sur l'activité phytique, le tampon phosphate 0,1 M à pH 5 du milieu réactionnel est remplacé par différents tampons : un tampon phosphate 0,1 M à pH 6 pour les conditions acides, un tampon phosphate 0,1 M à pH 7 pour les conditions neutres, des tampons phosphate 0,1 M à pH 8 et Glycine-NaOH 0,1 M à pH 9 pour les conditions basiques. Les milieux réactionnels ainsi préparés sont ensuite incubés à 30 °C pendant 15 minutes.

d) Influence du CaCl₂ sur les activités phytasiques

Pour déterminer l'effet du CaCl₂ sur l'activité des amylases, le tampon phosphate à 0,1 M et pH 5 est additionné du CaCl₂ à 0,1 M. Ensuite, les milieux réactionnels, décrits précédemment, sont incubés à 30 °C pendant 15 minutes.

5.2.2. Effet de différents traitements, thermique, pH et CaCl₂ sur la stabilité de l'activité phytasique

a) Effet du traitement thermique sur la stabilité de l'enzyme

La thermostabilité de phytase est déterminée par incubation, dans un bain-marie, des échantillons à 90 °C (Kim et *al.*, 1998) pendant 2 h. Après traitement thermique de 1 h et 2 h, l'activité résiduelle de l'enzyme est mesurée en suivant le protocole standard utilisé précédemment pour évaluer l'activité phytique.

b) Effet du pH sur la stabilité de l'enzyme

L'effet du pH sur la stabilité de phytase est testé par une pré-incubation des échantillons (en absence du substrat) dans du (HCl) à 1 M et dans du NaOH à 1 M. Le traitement acido-basique est effectuée pendant 1 h et 2 h à température ambiante. L'activité résiduelle de l'enzyme est mesurée en suivant le protocole standard utilisé précédemment pour évaluer l'activité phytique.

c) Effet du CaCl₂ sur la stabilité de l'enzyme

L'effet du CaCl₂ sur la stabilité de phytase (Ou et *al.*, 2011) est testé par une pré-incubation des échantillons (en absence du substrat) dans le tampon phosphate additionné de 1M de CaCl₂, pendant 1 h et 2 h à température ambiante. Après traitement au CaCl₂, l'activité résiduelle de l'enzyme est mesurée en suivant le protocole standard utilisé précédemment pour évaluer l'activité phytique.

Résultats et Discussion

1. Le matériel biologique

Pour rechercher les activités biologiques (antioxydantes et enzymatiques), dans la solution des graines de *Linum usitatissimum* (Figure 6) achetées du commerce de la ville d'Ain Témouchent ont été utilisées.

2. Préparation de la solution des graines de *Linum usitatissimum*

Dans le but d'évaluer les activités biologiques des graines de *Linum usitatissimum*, deux extraits ont été préparés à température ambiante, l'autre à 50 °C. La température d'extraction peut affecter significativement la structure, la composition et les propriétés fonctionnelles des graines de *Linum usitatissimum* (Kaushik et al., 2017), en particulier l'utilisation d'eau chaude comme agent d'extraction permet d'obtenir des rendements en mucilage des graines de *Linum usitatissimum* relativement plus élevés par rapport à une extraction à l'eau froide (Puligundla et Lim, 2022).

3. Dosage des protéines de la solution de *Linum usitatissimum*

Afin de déterminer la quantité de protéines dans échantillons de la solution des graines de *Linum usitatissimum*, une courbe étalon $DO_{595nm} = f([\text{hémoglobine}])$ a été tracée (Figure 7).

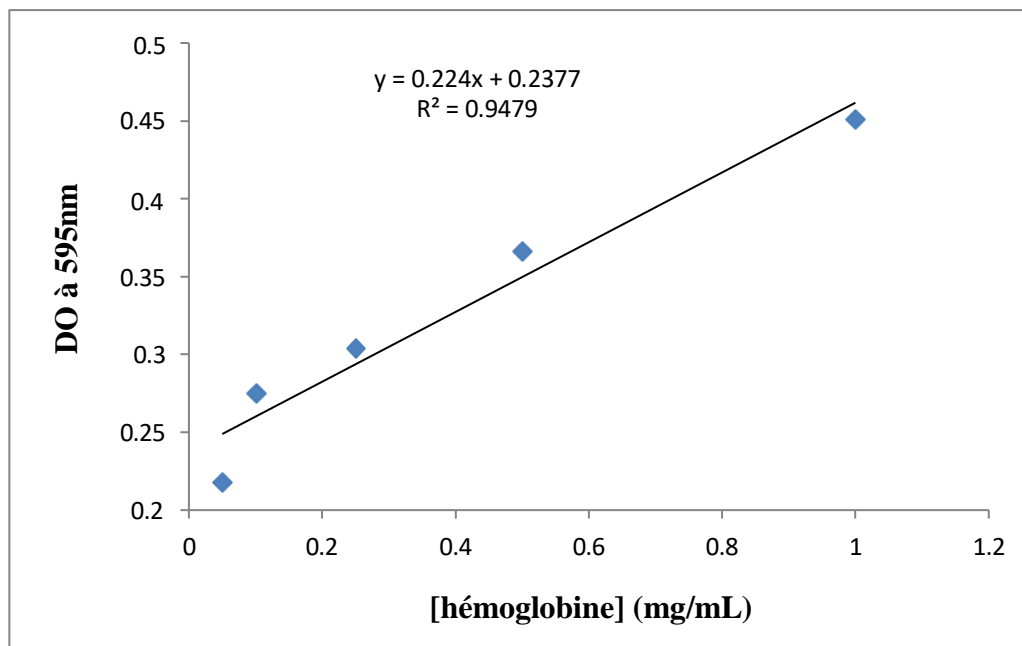


Figure 7 : Courbe étalon de l'hémoglobine.

Les résultats obtenus du dosage de la quantité de protéines dans la solution des graines de *Linum usitatissimum* à 2 mg/mL (préparée comme indiqué dans la partie matériel et méthodes) montrent que la solution obtenue à température ambiante possède 1,79 mg/mL de protéines et la solution obtenue à 50 °C possède 0,89 mg/mL de protéines.

4. Recherche d'activités antioxydants dans les graines de *Linum usitatissimum*

4.1. Recherche d'activité catalasique dans les graines de *Linum usitatissimum*

a) Préparation de la courbe étalon d'H₂O₂

Pour déterminer la quantité d'H₂O₂ dégradée par les catalases dans la solution des graines de *Linum usitatissimum*, une courbe étalon $DO_{240nm} = f([H_2O_2])$ a été tracée (Figure 8).

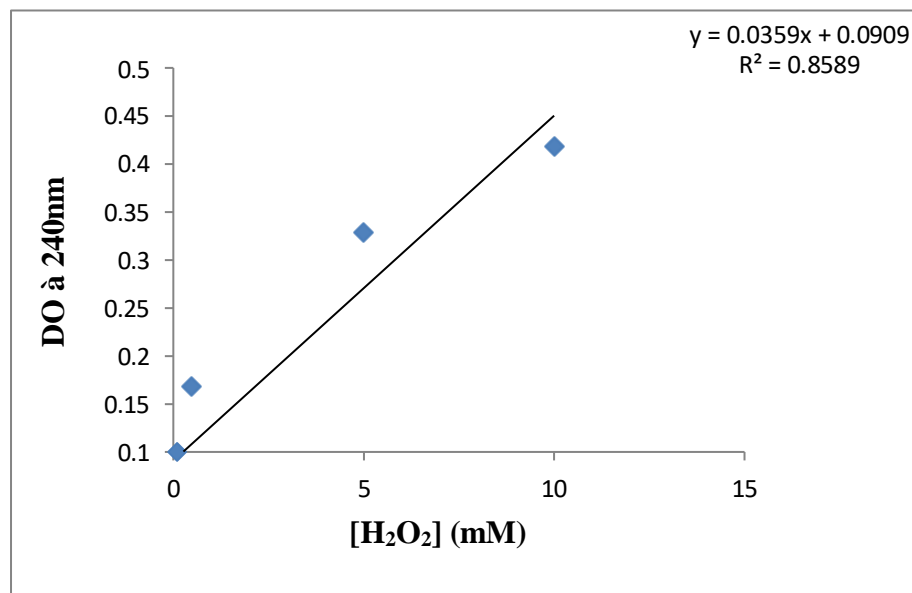


Figure 8 : Courbe étalon d'H₂O₂

b) Recherche des activités catalasiques

Dans notre étude, la recherche de l'activité catalasique dans la solution des graines de *Linum usitatissimum* préparée à température ambiante et celle préparée à 50 °C a été évaluée en suivant la disparition de H₂O₂ en fonction de la concentration de la solution des graines de *Linum usitatissimum* (Figure 9)

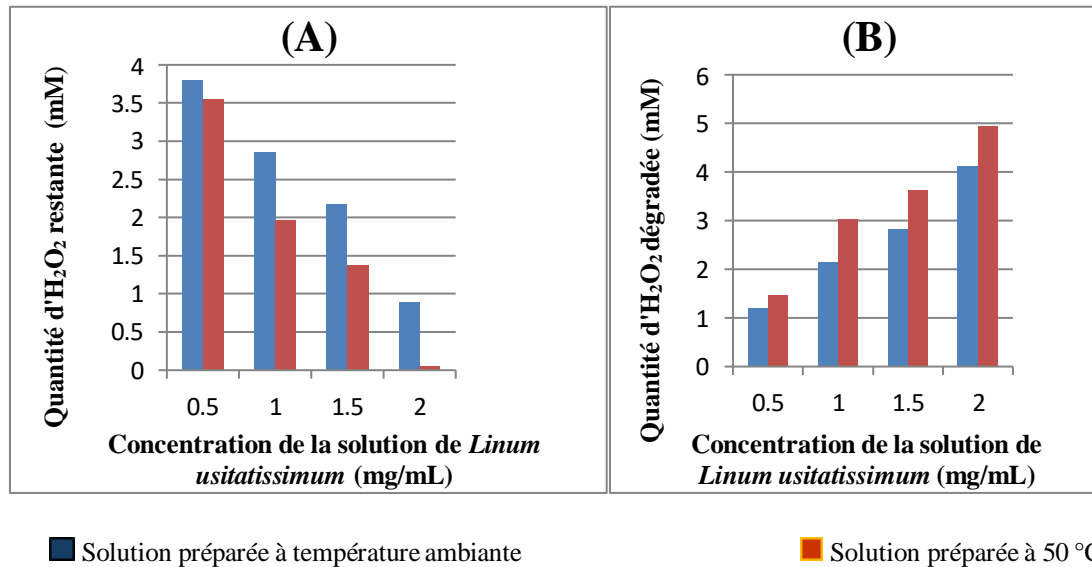


Figure 9 : Capacité de dégradation de l'H₂O₂ par la solution des graines *Linum usitatissimum*.

(A) : Quantité d'H₂O₂ restante en fonction de la concentration de la solution des graines de *Linum usitatissimum*

(B) : Quantité d'H₂O₂ dégradée en fonction de la concentration de la solution des graines de *Linum usitatissimum*

Les résultats obtenus montrent que la solution des graines de *Linum usitatissimum* possède une activité catalasique. Cette activité est influencée par la concentration de la solution des graines. En effet, on remarque que la disparition de concentration de l'H₂O₂ augmente en fonction de l'augmentation de la concentration de la solution des graines de *Linum usitatissimum* (Figure 9-B). La solution de graines de *Linum usitatissimum* à une concentration de 2 mg/mL a montré des résultats significatifs dans la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). À température ambiante, après 15 minutes d'incubation, la quantité d'H₂O₂ dégradée s'élève à 4,11 mM, et pour la solution préparée à température de 50 °C, la quantité d'H₂O₂ dégradée atteint 4,94 mM.

Ces résultats sont en accord avec les résultats obtenus par (Yucebilgic et Bozdemir, 2010), qui ont montré la présence d'activités catalasiques dans la solution des graines de *Linum usitatissimum*. Les graines de *Linum usitatissimum* sont particulièrement riches en lignanes, notamment le diglucoside de sécoisolaricirésinol (SDG). Ces composés possèdent une activité antioxydante avérée (Barthet et *al.*, 2014). Ils contribuent notamment à la suppression des espèces réactives de l'oxygène (ERO), telles que l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le radical hydroxyle ($\cdot OH$) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) au sein des cellules (Kitts et *al.*, 1999).

Les plantes possèdent des systèmes enzymatiques qui les protègent contre l' H_2O_2 et d'autres espèces d'oxygène actives et nocives (Yucebilgic et Bozdemir, 2010). Plusieurs études ont été faites sur les catalases végétales comme celles du blé (*Triticum aestivum L.*) (Garcia et *al.*, 2000) et graines d'*Hygrophila Hygrophila schulli* (Islam et *al.*, 2022).

La catalase est l'une des enzymes antioxydantes les plus importantes. Elle décompose le peroxyde d'hydrogène en produits inoffensifs tels que l'eau et l'oxygène (Nandi et *al.*, 2019) et joue un rôle essentiel dans la défense cellulaire contre le stress oxydatif (Glorieux et Calderon, 2024). Cette enzyme antioxydante possède la capacité de métaboliser des dizaines de millions de molécules de H_2O_2 par seconde (Heck et *al.*, 2010).

D'une façon générale et dans le cas de l' H_2O_2 , l' IC_{50} (concentration inhibitrice à 50 %) (Hebi et Eddouks, 2016) va correspondre à la concentration d'un antioxydant nécessaire pour inhiber 50 % de l' H_2O_2 (Yusuf et *al.*, 2021).

Dans notre étude, la dégradation de l' H_2O_2 par la solution des graines de *Linum usitatissimum* a été calculée en utilisant le logiciel AAT Bioquest. La détermination de la concentration inhibitrice demi-maximale (50%) (CI_{50}) est essentielle pour comprendre les caractéristiques pharmacologiques et biologiques d'un agent (He et *al.*, 2016). Une valeur plus faible de l' IC_{50} , correspond à une activité antioxydante plus élevée (Ghedadba et *al.*, 2014).

Les résultats obtenus montrent une valeur d' IC_{50} (la concentration de la solution des graines de *Linum usitatissimum* nécessaire pour inhiber 50% de l' H_2O_2) de la solution préparée à température ambiante est égal à 1,1059 mg/mL (Figure 10)

ce qui correspond à une valeur de 0,989 mg/mL de protéines qui se trouvent dans la solution des graines de *Linum usitatissimum* à température ambiante.

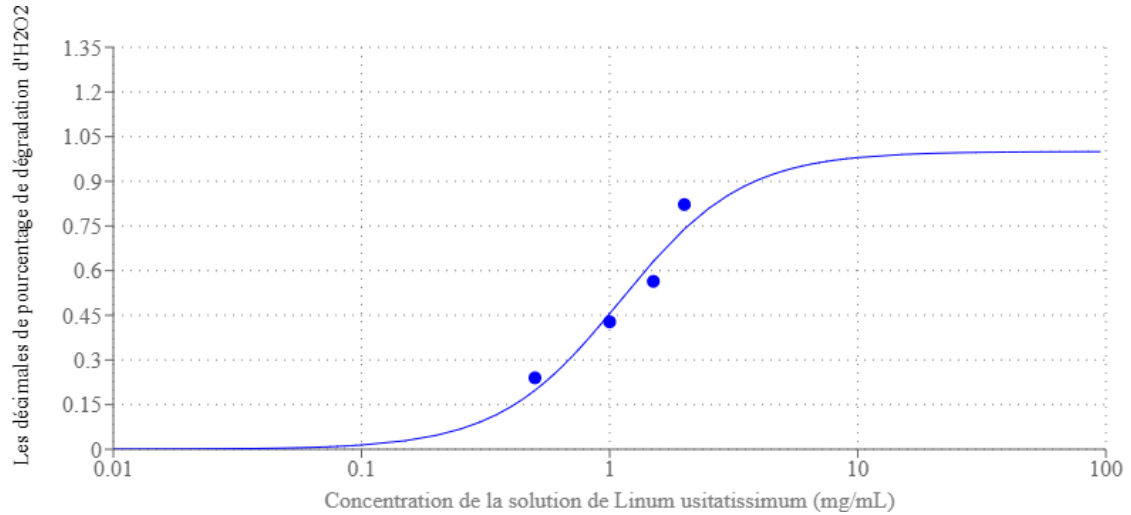


Figure 10 : Détermination de l'IC₅₀ de dégradation de l'H₂O₂ par la solution des graines de *Linum usitatissimum* préparée à température ambiante.

Pour la solution préparée à 50 °C, l'IC₅₀ est égal à 0,7965 mg/mL (Figure 11) ce qui correspond à une valeur de 0,354 mg/mL de protéines qui se trouvent dans la solution des graines de *Linum usitatissimum*.

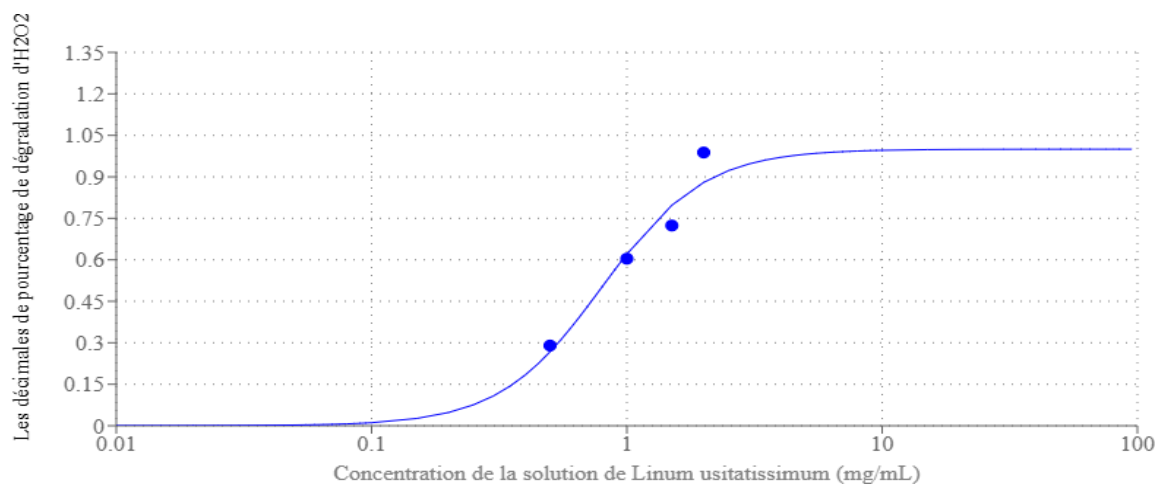


Figure 11 : Détermination de l'IC₅₀ de dégradation de l'H₂O₂ par la solution des graines de *Linum usitatissimum* préparée à 50 °C.

Les résultats des travaux d'Ashwini et *al.* (2023) rapportent un IC_{50} d'inhibition de l' H_2O_2 par l'extrait méthanolique des graines de *Linum usitatissimum* de 345 $\mu\text{g/mL}$ (0,345 mg/mL). Cette valeur inférieure aux valeurs obtenues dans notre étude (Figures 10, 11), indique une activité antioxydante plus importante des échantillons obtenus dans les travaux d'Ashwini et *al.* (2023). Cette différence pourrait être attribuée à l'influence de la méthode d'extraction sur l'activité. En effet, les protocoles d'extraction, notamment le choix du solvant, la durée et la température, influencent significativement le rendement ainsi que la concentration en principes actifs des extraits végétaux (Awad et *al.*, 2021).

Les résultats de l'étude de Chand et *al.* (2012) sur l'activité antioxydante de l'extrait de graines de *Cucumis callosus*, évaluée par le test de dégradation de l' H_2O_2 , ont révélé une valeur d' IC_{50} de 0,094 mg/mL . L'extraction a été réalisée par macération dans de l'eau pendant 24 heures. Cette valeur d' IC_{50} , plus faible que celles obtenues dans notre étude (Figure 10, 11), indique une plus grande efficacité de l'extrait de *Cucumis callosus* dans la dégradation du peroxyde d'hydrogène, comparée à celle des graines de *Linum usitatissimum*.

Aussi, selon les résultats des travaux du Moghaddam et *al.* (2012) sur les graines de *Diospyros lotus*, une valeur d' IC_{50} de $923,51 \pm 28,81 \text{ mg/mL}$ a été rapportée. L'extraction a été réalisée par percolation à l'eau distillée pendant 24 h à température ambiante. Cette valeur indique une capacité de dégradation de l' H_2O_2 inférieure à celle obtenue dans notre étude, ce qui suggère que l'activité antioxydante des graines de *Linum usitatissimum* est plus élevée que celle des graines de *Diospyros lotus*.

4.2. Recherche des capacités de piégeage du DPPH dans la solution des graines *Linum usitatissimum*

a) Préparation du courbe étalon du DPPH

Afin de déterminer la quantité de DPPH dégradée par la solution des graines de *Linum usitatissimum*, un courbe étalon $DO_{517\text{nm}} = f([\text{DPPH}])$ a été tracée (Figure 12).

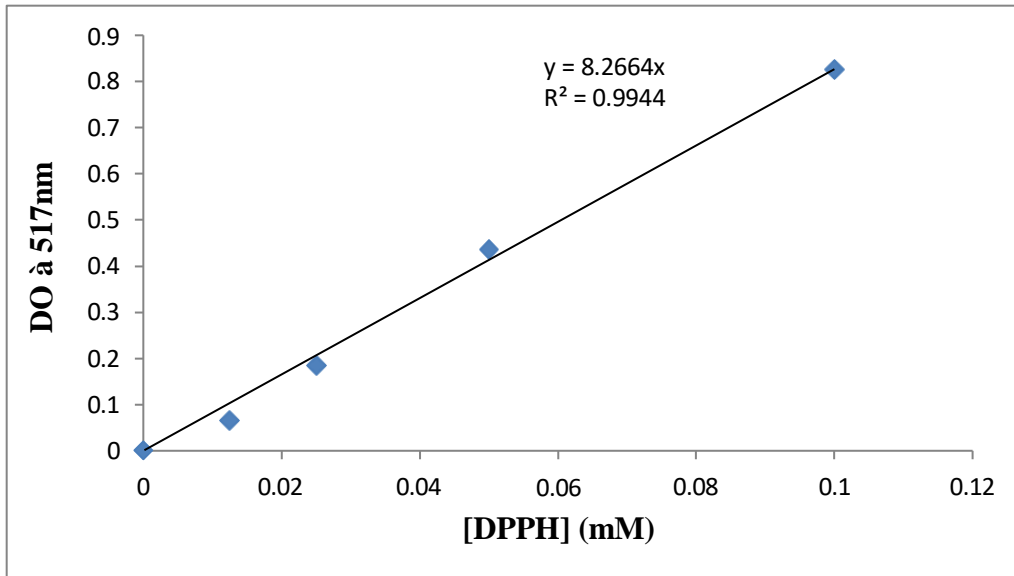


Figure 12 : Courbe étalon du DPPH.

b) Recherche de l'activité de piégeage du DPPH

Un second test de la recherche de l'activité antioxydant a été réalisé et qui se base sur le principe de piégeage du radical libre DPPH par la solution des graines de *Linum usitatissimum*. Ce test permet suivre la dégradation du DPPH en présence de cette solution à différentes concentrations. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure suivante.

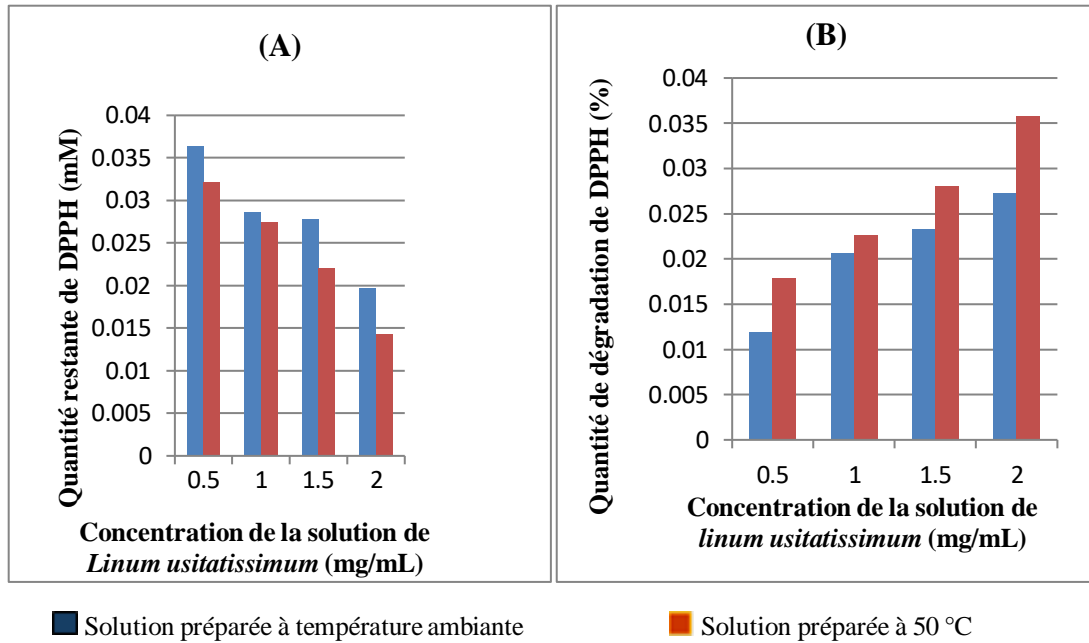


Figure 13 : Suivi de piégeage de DPPH par les différentes concentrations de la solution des graines *Linum usitatissimum*.

- (A): Quantité restante de DPPH en fonction de la concentration de la solution des graines *Linum usitatissimum*
- (B) : Quantité de DPPH dégradé en fonction de la concentration de la solution des graines *Linum usitatissimum*

Les résultats montrent une diminution progressive de la quantité restante de DPPH à mesure que la concentration de la solution augmente (Figure 12-A). Parallèlement, on observe, une augmentation de la dégradation du DPPH avec l'accroissement de la concentration (Figure 13-B). Ainsi, plus la solution est concentrée, plus elle est efficace pour piéger le DPPH.

La solution de graines de *Linum usitatissimum* (à 2 mg/mL) a montré une dégradation significative du DPPH. Après 30 minutes d'incubation, la quantité de DPPH dégradée par la solution préparée à température ambiante atteint 0,030 mM et pour la solution préparée à 50 °C, cette quantité s'élève à 0,035 mM.

Ces résultats sur la capacité de piégeage du DPPH, confirment que la solution des graines *Linum usitatissimum* possède une activité antioxydante. Ceci est en accord

avec les résultats obtenus par Khan et al en 2020, qui ont démontré que la solution des graines de *Linum usitatissimum* présente une activité anti-radicalaire.

Différents composés phénoliques jouent probablement un rôle important dans le piégeage DPPH• dans la solution des graines *Linum usitatissimum* (Gai et al., 2023). Les composés phénoliques, qui sont des métabolites secondaires des plantes, appartiennent à plusieurs familles et possèdent des propriétés antioxydantes (Ben Salah et al., 2021).

Ensuite, l'IC₅₀, qui représente la quantité d'antioxydant nécessaire pour réduire 50 % du DPPH (Singh et al., 2016), de la solution des graines de *Linum usitatissimum* et de l'acide ascorbique.

L'acide ascorbique est un antioxydant standard permet de comparer les activités antioxydantes qui sert à évaluer l'efficacité de piégeage des radicaux DPPH (Talbi et al., 2015) par la solution des graines de *Linum usitatissimum*.

Les résultats de ces calculs montrent que l'IC₅₀ de la solution des graines *Linum usitatissimum* préparée à température ambiante est égal à 1,5251 mg/mL (Figure 14) ce qui correspond à une valeur de 1,36 mg/mL de protéines dans la solution des graines de *Linum usitatissimum*.

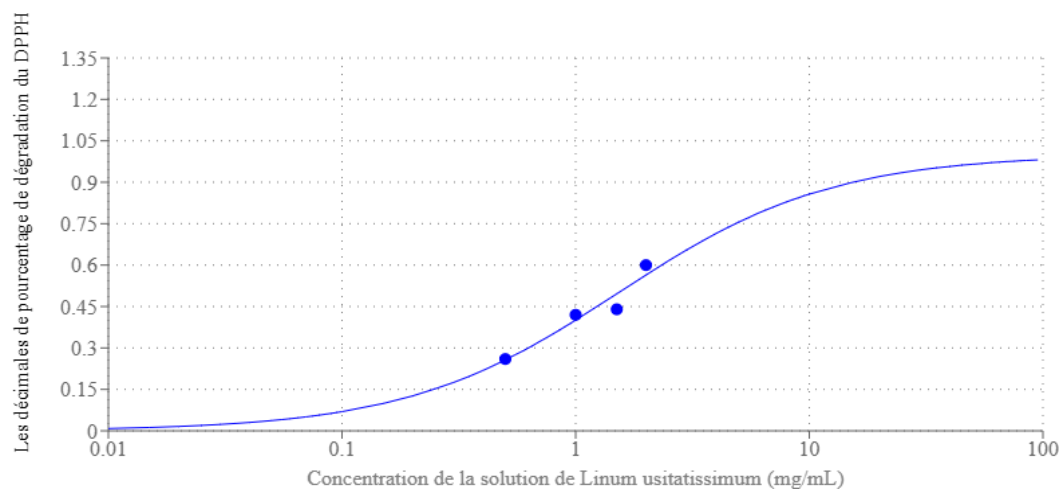


Figure 14 : L'IC₅₀ du piégeage de DPPH par la solution des graines de *Linum usitatissimum* préparée à température ambiante.

Pour la solution préparée à 50 °C, l'IC₅₀ est égal à 1,0988 mg/mL (Figure 15) ce qui correspond à une valeur de 0,488 mg/mL de protéines présentes dans la solution des graines de *Linum usitatissimum*.

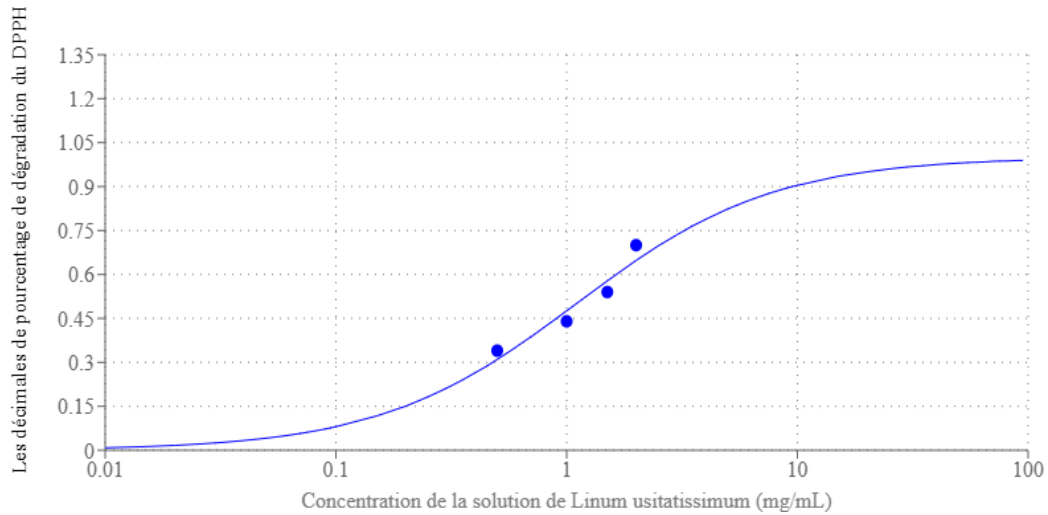


Figure 15 : L'IC₅₀ du piégeage de DPPH par la solution des graines de *Linum usitatissimum* préparée à 50 °C.

Pour l'acide ascorbique l'IC₅₀ est égal à 2,3775 µg/mL (0,00237 mg/mL) (Figure 16), cette valeur très faible indique que l'acide ascorbique possède une forte capacité antioxydante. Elle est inférieure à celle de notre extrait, ce qui confirme que l'acide ascorbique reste un antioxydant de référence.

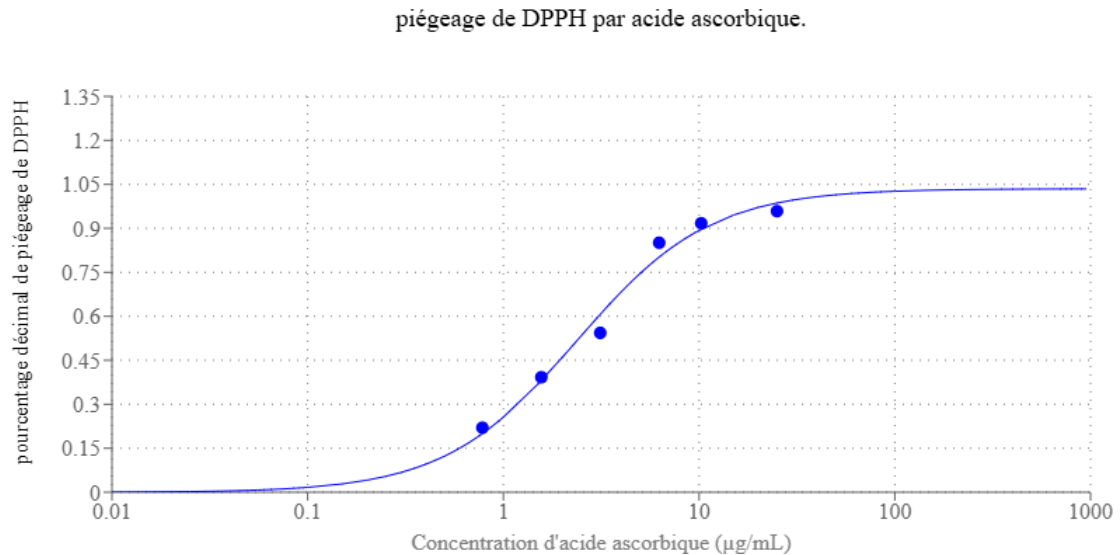


Figure 16 : L'IC₅₀ du piégeage de DPPH par l'acide ascorbique.

Les résultats des travaux de Bouaziz et *al.* (2016), sur l'activité anti-radicalaire mesurée par le test de DPPH, sur l'extrait des coques de graines de *Linum usitatissimum* ont montré une valeur d'IC₅₀ égale 2,5 mg/mL, soit une valeur supérieure à celle obtenue dans notre étude, ce qui montre que l'extrait que nous avons utilisé présente une activité anti-radicalaire plus élevée.

Cependant, Les travaux de Hanaa et *al.* (2017) portant sur l'activité anti-radicalaire de l'extrait aqueux graines de *Linum usitatissimum*, évaluée par le test au DPPH, ont révélé une valeur d'IC₅₀ de 97,40 µg/mL. Cette valeur, inférieure à celle obtenue dans notre étude, indique une activité anti-radicalaire plus importante que celle qu'on a obtenue dans notre étude. De même, l'étude de Tanideh et *al.* (2021), également basée sur le test au DPPH, a mis en évidence une IC₅₀ de 26,32 ± 4,52 µg/mL pour l'huile de graines de *Linum usitatissimum*. Cette valeur obtenue, nettement plus basse que celle de notre extrait, montre une activité anti-radicalaire supérieure. Ceci peut être expliqué par le fait que la composition des graines de *Linum usitatissimum* varie en fonction de plusieurs facteurs, notamment la génétique, les conditions environnementales de culture, les traitements appliqués aux graines ainsi que la méthode d'analyse utilisée (Bernacchia et *al.*, 2014).

Par ailleurs, le rendement et l'efficacité de l'extraction des composés bioactifs dépendent de divers paramètres tels que le type et la polarité du solvant, le pH, la durée et la température de l'extraction, ainsi que la nature chimique et les caractéristiques physiques de l'échantillon (Xu et Chang, 2007).

D'autres études, notamment celles de Sahgal et *al.* (2009), ont mis en évidence une activité anti-radicalaire des extraits méthanolique des graines de *Swietenia mahagoni*, avec une valeur d'IC₅₀ de 2,3 mg/mL. Cette activité plus faible à celle dans notre étude. Cela suggère que des graines de *Linum usitatissimum* est plus efficace pour piéger le DPPH par rapport aux des graines de *Swietenia mahagoni*.

Les résultats de l'étude de Dsouza et *al.* (2018) indiquent que l'extrait des graines de *Litchi chinensis* a une activité anti-radicalaire mesurée par le test de DPPH, avec une valeur d'IC₅₀ de 0,4732 mg/mL. Cette valeur est plus faible que celles obtenues dont les valeurs d'IC₅₀ dans notre étude, ce qui signifie que l'extrait des graines de *Litchi chinensis* présente une activité anti- radicalaire forte par rapport à l'activité de notre extrait.

La présence de composés phénoliques dans des graines de *Linum usitatissimum* contribue largement à leur capacité antioxydante (Gai et *al.*, 2023). La biosynthèse de ces composés est fortement stimulée par l'exposition à la lumière (Kefeli et *al.*, 2003), et ils jouent un rôle essentiel dans les mécanismes de défense des plantes contre les stress abiotiques, notamment ceux induits par les basses températures (Pennycooke et *al.*, 2005). Ces composés sont indispensables à la vie végétale, car ils protègent contre les attaques microbiennes et rendent la plante moins attrayante pour les prédateurs herbivores (Apak et *al.*, 2007). Pour faire face au stress oxydatif, les plantes synthétisent également une variété de composés antioxydants, enzymatiques et non enzymatiques, qui permettent la neutralisation et la détoxification des dérivés réactifs de l'oxygène (Asif, 2015).

5. Recherche d'activités enzymatiques dans la solution des graines de *Linum usitatissimum*

5.1. Recherche d'activités amylasiques dans la solution des graines de *Linum usitatissimum*

a) Préparation du courbe étalon de l'amidon

Afin de déterminer la quantité l'amidon dégradée par l'activité amylasique dans les graines de *Linum usitatissimum*, une courbe étalon $DO_{620nm} = f([\text{amidon}])$ a été tracée (Figure 17).

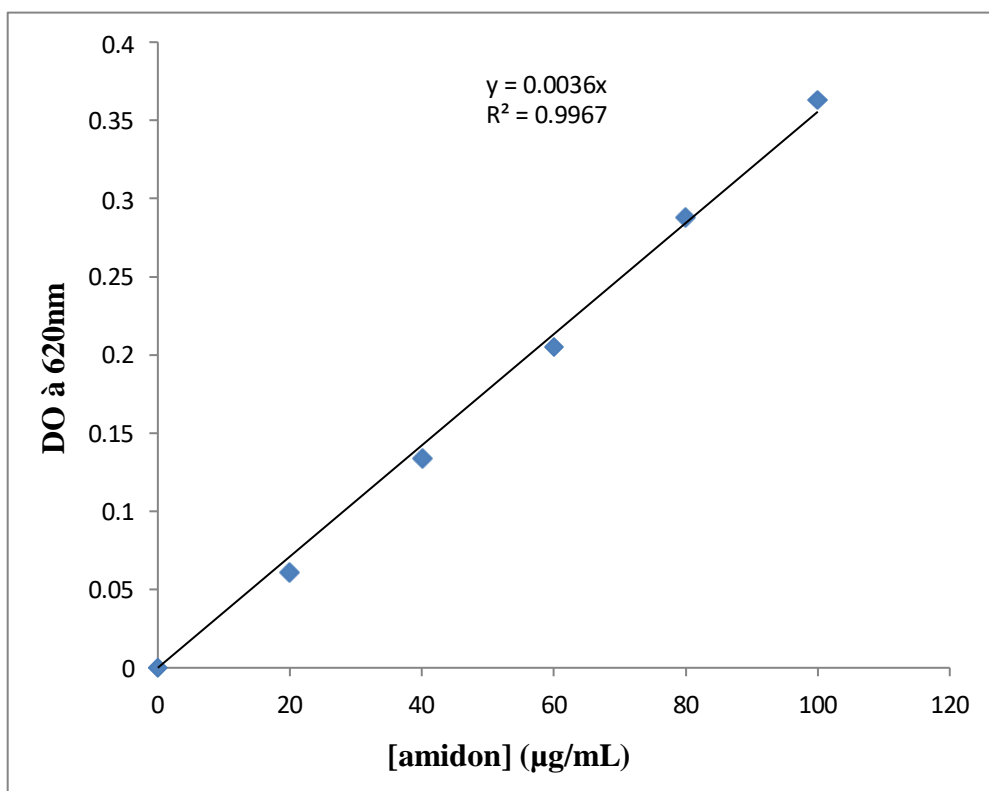


Figure 17 : Courbe étalon de l'amidon.

Ensuite, l'activité amylasique a été recherchée dans la solution des graines de *Linum usitatissimum* selon le protocole indiqué dans la partie Matériel et Méthodes.

5.1.1. Caractérisation des activités amylasiques

a) Influence du temps d'incubation sur les activités amylasiques

L'étude de l'influence du temps sur l'activité amylasique de la solution des graines de *Linum usitatissimum*, qui a été évaluée à différents temps d'incubation 2, 5, 10, 15 et 20 min (Comme indiqué dans la partie matériels et méthodes).

Les résultats obtenus montrent que la quantité de l'amidon (substrat) diminue en fonction du temps, indiquant ainsi une augmentation de l'activité amylasique (proportionnelle à la quantité d'amidon dégradée) en fonction du temps (Figure 18)

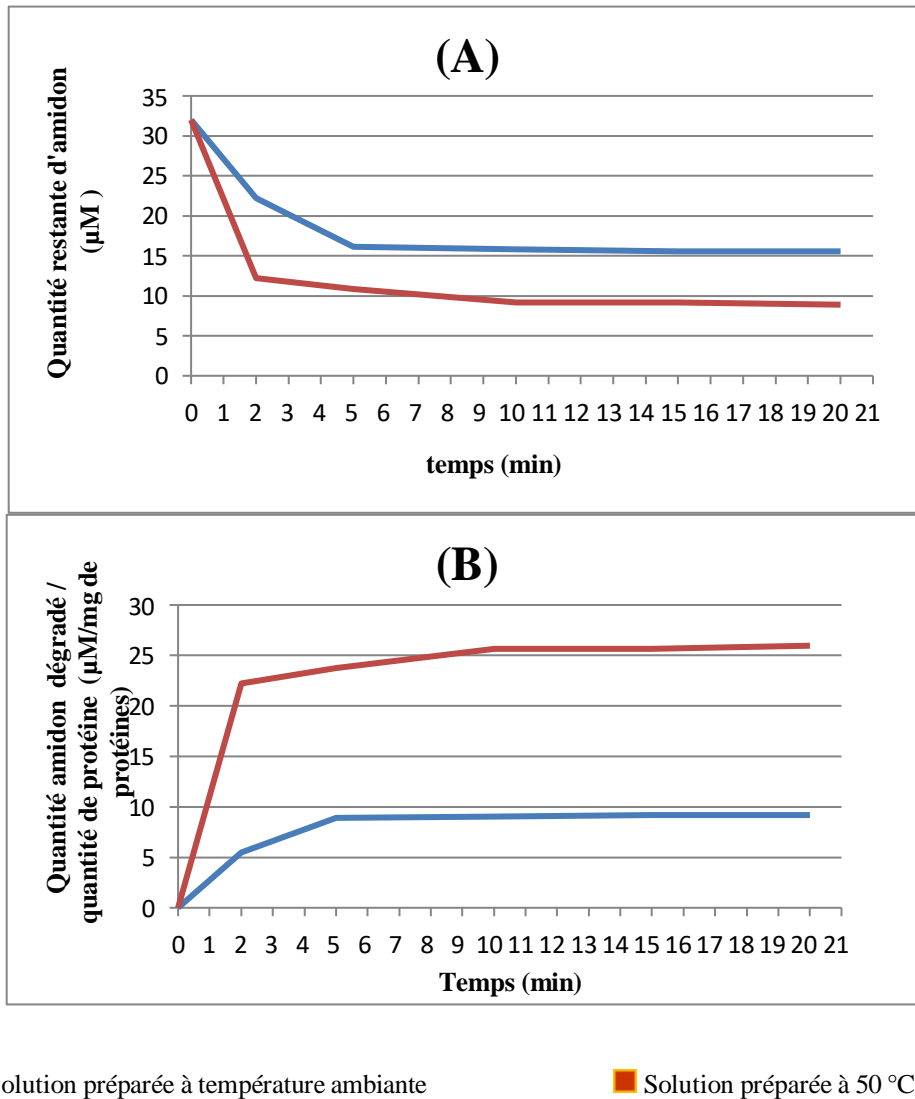


Figure 18 : Cinétique de l'activité amylasique de la solution des graines de *Linum usitatissimum*.

(A): Quantité restante d'amidon par quantité de protéines présentes dans la solution des graines de *Linum usitatissimum* en fonction du temps.

(B) : Quantité d'amidon dégradée par quantité de protéines présentes dans la solution des graines de *Linum usitatissimum* en fonction du temps.

Les résultats obtenus montrent que la solution des graines de *Linum usitatissimum* possède une activité amylasique. En effet, ces résultats montrent une diminution de la quantité d'amidon en onction du temps (Figure 18-A), indiquant sa dégradation (Figure 18-B) et donc la présence d'une activité amylasique. Les résultats obtenus montrent que la solution des graines de *Linum usitatissimum* possède une activité amylasique. En effet, ces résultats montrent une diminution de la quantité d'amidon en onction du temps (Figure 18-A), indiquant sa dégradation (Figure 18-B) et donc la présence d'une activité amylasique. Cependant, on remarque que l'activité amylasique est meilleure dans la solution préparée à 50 °C que dans celle préparée à température ambiante.

Cela confirme, comme déjà évoqué, que la température d'extraction peut influencer certaines propriétés fonctionnelles des graines de *Linum usitatissimum* (Kaushik et al., 2017).

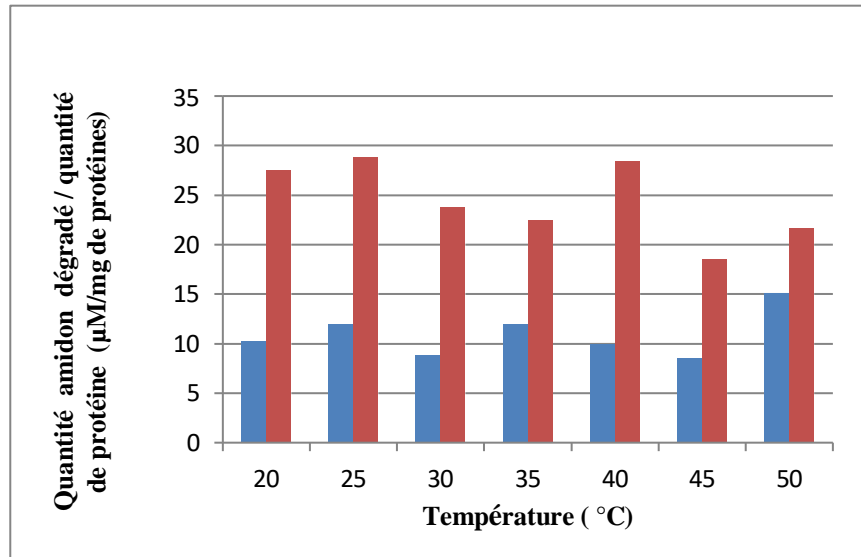
Les amylases sont un groupe d'enzymes produites par les plantes, les animaux et les microorganismes (Ahmad et al., 2019). Elles sont largement utilisées dans de nombreux secteurs industriels, notamment les industries alimentaires, fermentaires et pharmaceutiques (Souza et Magalhães, 2010).

Les résultats obtenus dans notre étude sont en accord avec les résultats de Taubner et al. (2023) qui ont montré que les graines de *Linum usitatissimum* possèdent une activité amylasique.

De nombreuses études ont rapporté la détection ainsi que l'activité enzymatique des amylases dans plusieurs graines végétales, notamment dans les graines de *Cyperus esculentus* (Avwioroko et al., 2019), dans les graines de blé *Triticum aestivum* (Singh et Kayastha, 2014), dans les grains de riz en germination *Oryza sativa* (Liu et al., 2018), ainsi que dans grains de *Canavalia gladiata* en germination (Posoongnoen et Thummavongsa, 2020).

b) Influence de la température sur les activités amylasiques

L'étude de l'influence de la température sur l'activité amylasiques de la solution des graines de *Linum usitatissimum*, a été testée (comme décrit précédemment dans le protocole) à différentes températures 20, 25, 30, 35, 40, 45 et 50°C (Figure 19).



■ Solution préparée à température ambiante ■ Solution préparée à 50 °C

Figure 19 : Influence de la température sur l'activité amylasique de la solution des graines de *Linum usitatissimum*.

Les résultats montrent que la quantité d'amidon dégradée n'est pas trop influencée par les températures d'incubation testées. L'activité amylasique de la solution de *Linum usitatissimum* présente de petites variations en fonction de la température. Cependant, on remarque que l'activité amylasique est meilleure dans la solution préparée à 50 °C que dans celle préparée à température ambiante (Figure 19).

Les résultats obtenus (Figure 19) montrent que la solution des graines de *Linum usitatissimum* présente différentes températures optimales des amylases. Ceci signifie la présence potentielle de types différents d'amylases dans les solutions préparées. Les températures optimales d'activité amylasique ont été enregistrées à 20 °C, 25 °C et 40 °C pour la solution préparée à 50 °C, tandis que la température optimale est de 50 °C, pour la solution préparée à température ambiante.

Ce résultat est en accord avec des études précédentes Nabubuya et *al.* (2012), où il a été démontré que la patate douce *Ipomoea batatas Lam* contient deux types d'amylases l' α -amylase et la β -amylase, qui présentent des températures optimales qui varient entre 67°C-68°C pour l' α -amylase et de 58°C-60°C pour la β -amylase.

Dans les résultats obtenus (Figure 19), une activité amylasique est observée dès 20 °C, indiquant le début de la dégradation de l'amidon. Cette température optimale a été observée par exemple pour l'activité amylasique des graines d'*avoine Avena sativa* (Halima et al, 2015).

Cette activité augmente à 25 °C, atteignant un maximum, ce qui suggère une efficacité optimale de l'activité amylasique à cette température, notamment pour la solution préparée à 50 °C. À 30 °C, une légère diminution de l'activité amylasique est constatée pour les deux solutions, traduisant une baisse de la vitesse de dégradation de l'amidon. Cependant, pour une autre hydrolase (la cystéine protéase) des graines de *Linum usitatissimum*, une température optimale de 30 °C a été observée (Nandish et al, 2020), et une température optimale de 30 °C a été observée pour l'activité transférase (glycosyltransférase) des graines *Linum usitatissimum* (Ghose et al., 2014).

À 35 °C, on observe une augmentation de l'activité enzymatique pour la solution préparée à température ambiante, tandis que pour la solution préparée à 50 °C, l'activité continue à diminuer, bien que cette diminution reste peu marquée.

À 40 °C, une inversion des tendances est observée puisque l'activité augmente pour la solution préparée à 50 °C, alors qu'elle diminue pour celle préparée à température ambiante.

À 45 °C, une baisse de l'activité enzymatique est enregistrée pour les deux solutions. .

Enfin, à 50 °C, bien qu'une légère remontée de l'activité soit observée pour la solution préparée à 50 °C, elle demeure inférieure à celles enregistrées à 20 °C, 25 °C et 40 °C. En revanche, pour la solution préparée à température ambiante, l'activité amylasique atteint son maximum à 50 °C, ce qui en fait sa température optimale. Une température optimale de 50 °C a été observé pour l'activité amylasique chez les graines de mil africain malté *Eleusine coracana* (kolawole et al., 2011).

Les différences de températures d'activité enzymatique peuvent être expliquées par le fait que la contribution de la dénaturation enzymatique varie à la fois en fonction du temps et de la température (Daniel et al., 2001).

L'enzyme fonctionne de manière optimale à une température précise, et beaucoup sont très sensibles aux variations thermiques, montrant une diminution d'activité en dehors de leur de température optimale (Kabir et Ju, 2023), lorsque la température dépasse un certain seuil, l'enzyme perd son activité de façon réversible (Daniel et *al.*, 2001). Le site actif, qui pourrait être l'une des parties les plus sensibles d'une enzyme aux changements conformation induits par la température. Les acides aminés chargés, notamment les acides aminés basiques comme l'histidine et la lysine présents dans le site actif, ainsi que le groupe amino situé à l'extrémité N-terminale, peuvent modifier leur charge en réponse aux variations de température (Daniel et Danson, 2013).

c) Influence du pH sur les activités amylasiques

L'étude de l'influence du pH sur l'activité des amylases de la solution des graines de *Linum usitatissimum* a été testée, comme décrit précédemment dans le protocole, à différents pH 5, 6, 7, 8 et 9 (Figure 20).

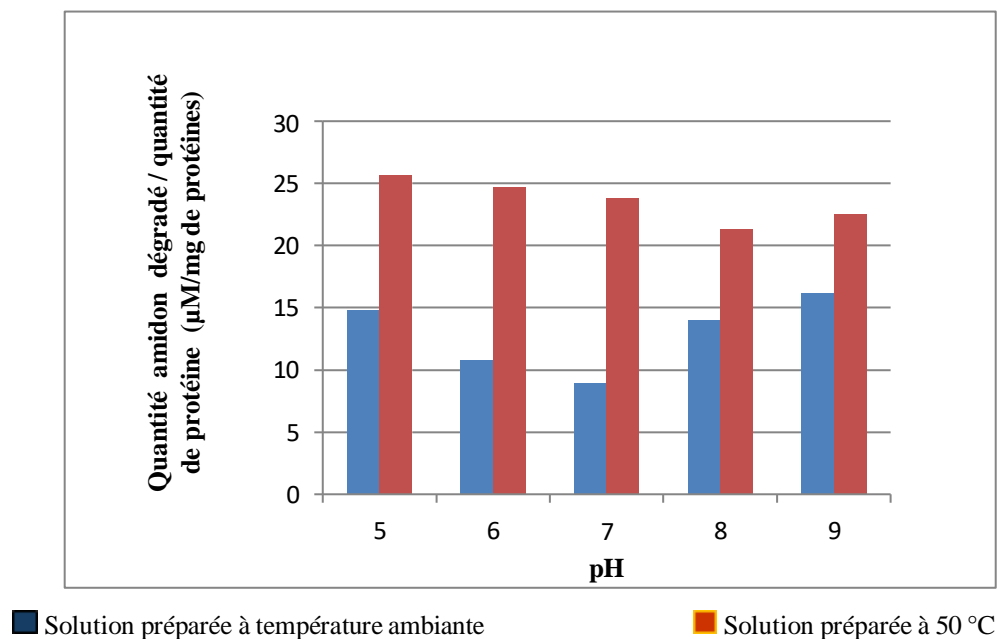


Figure 20 : Influence du pH sur l'activité amylasique de la solution des graines de *Linum usitatissimum*.

Les résultats montrent que l'activité amylasique de la solution des graines de *Linum usitatissimum* varie selon le pH testé. Globalement, l'activité est plus élevée

dans la solution préparée à 50 °C que dans celle préparée à température ambiante (Figure 20).

On remarquera que le pH optimal est de 5 pour la solution préparée à 50 °C, avec des activités qui restent importantes aux autres pHs (proches de l'optimum). Pour la solution préparée à température ambiante le pH optimal est de 9, avec de bonnes activités aux pHs 8 et 9. La plus basse activité est observée au pH 7. Cependant, un pH optimal de 6 a été observé pour une autre hydrolase (la cystéine protéase) des graines de *Linum usitatissimum* (Nandish et al., 2020), un pH optimal de 7 a été observé pour l'activité hydroperoxyde isomérase (Zimmerman et Vick, 1970), et un pH optimal de 8 a été observé pour l'activité transférase (glycosyltransférase) de ces mêmes graines (Ghose et al., 2014).

Ces résultats montrent la présence potentielle de types différents d'amylases dans les solutions préparées. Ce résultat est en accord avec des études précédentes Gimbi et Kitabatake. (2002), où il a été démontré que des graines d'*Eleusine coracana* en germination possèdent deux types d'amylases : l' α -amylase et la β -amylase, qui présente des pH optimaux qui varient 5,4 pour l' α -amylase et 6 pour la β -amylase.

Une activité amylasique est observée dès pH 5 pour les deux solutions, l'activité est nettement plus élevée dans la solution préparée à 50 °C. Un pH optimal a été observé aussi pour l'activité amylasique des graines de millet africain malté *Eleusine coracana* (Kolawole et al., 2011).

À pH 6, l'activité amylasique diminue légèrement pour les deux solutions, mais cette diminution est plus marquée pour la solution préparée à température ambiante.

À pH 7, l'activité continue de diminuer de manière similaire à celle observée à pH 6 pour les deux solutions.

À pH 8, on observe une diminution de l'activité dans la solution préparée à 50 °C, alors qu'au contraire, une augmentation est enregistrée pour la solution préparée à température ambiante.

Enfin, à pH 9, une augmentation de l'activité amylasique est observée pour les deux solutions, cette augmentation étant plus marquée pour la solution préparée à température ambiante.

L'influence du pH sur l'activité enzymatique peut être expliquée par le fait que le pH constitue une propriété macromoléculaire essentielle des protéines, influençant leur structure, leur stabilité ainsi que la cinétique des réactions enzymatiques. Toute variation du pH peut induire la protonation ou la déprotonation des chaînes latérales des résidus d'acides aminés, ce qui modifie les propriétés chimiques et structurales de la protéine (Radha et Gummadi, 2019).

Le pH influence la protonation de certains substrats, ce qui modifie leur capacité à interagir de manière ionique avec les sites actifs des enzymes. Ainsi, chaque enzyme possède un pH optimal auquel elle fonctionne de manière optimale pour une réaction donnée (Kabir et Ju ,2023).

d) Influence du CaCl₂ sur les activités amylasiques

L'étude de influence du CaCl₂ sur l'activité des amylases dans la solution des graines de *Linum usitatissimum* a été évaluée par addition au tampon phosphate 0,1 M de CaCl₂. Le résultat de ce test est présenté dans la figure suivante.

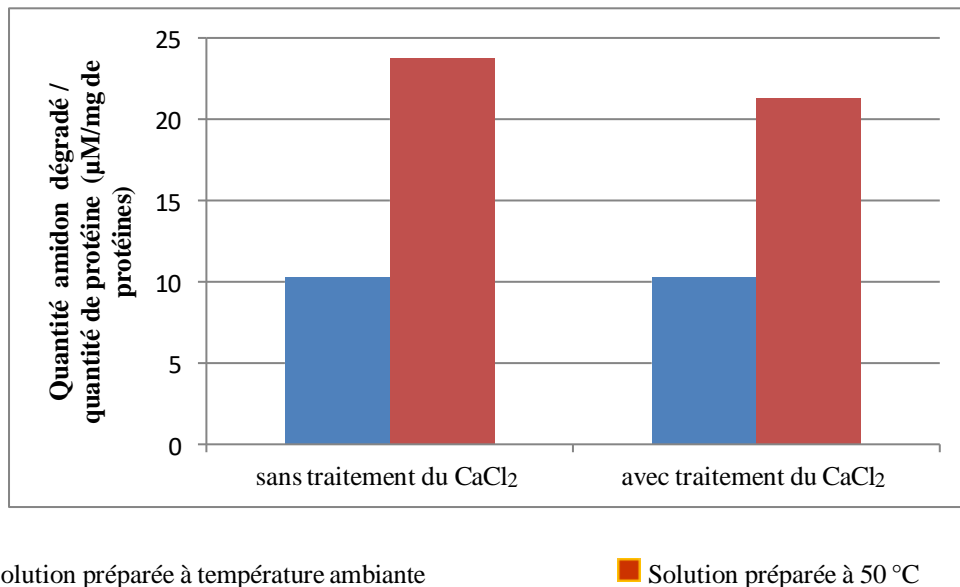


Figure 21 : Influence du CaCl₂ sur l'activité amylasique de la solution des graines de *Linum usitatissimum*.

Les résultats montrent que l'activité amylasique de la solution des graines de *Linum usitatissimum* n'est pas affectée par la présence de CaCl_2 . On remarque que la quantité d'amidon dégradée dans la solution préparée à température ambiante est toujours plus faible par rapport à la solution préparée à 50 °C. Cependant, d'autres études ont montré que les graines de *Phaseolus vulgaris* présentent une diminution de leurs activités amylasiques en présence des sels (Adda et al., 2014).

5.1.2. Effet de différents traitements, thermique, pH et CaCl_2 sur la stabilité de l'activité amylasique

a) Effet du traitement thermique sur la stabilité de l'enzyme

Les résultats de l'étude de l'influence du traitement thermique sur la stabilité des amylases présentes dans la solution des graines de *Linum usitatissimum* a été testé par pré-incubation, dans un bain-marie, des échantillons à 90°C pendant 1 h et 2 h (Figure 22).

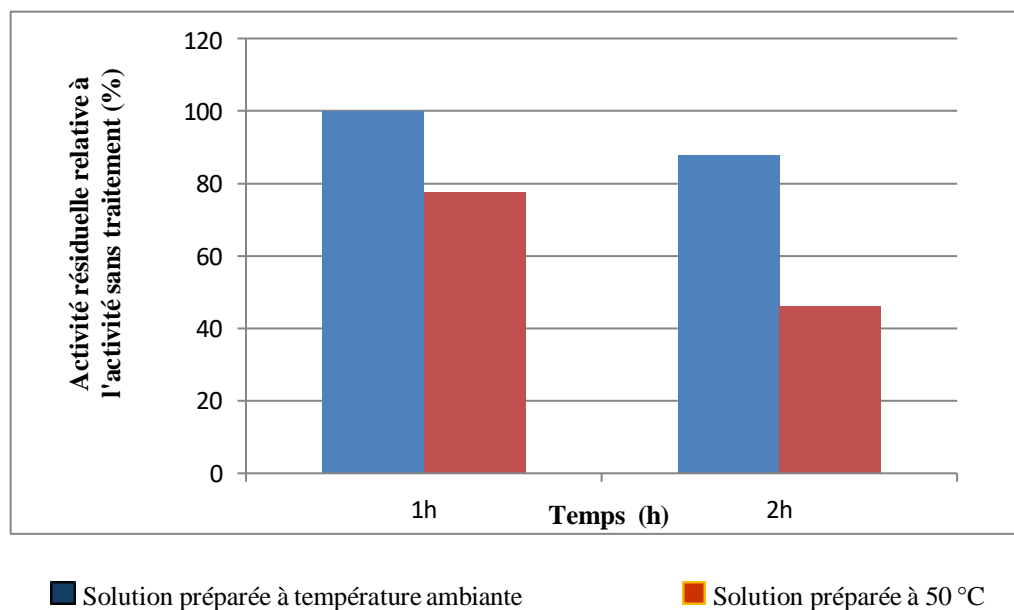


Figure 22 : Effet du traitement thermique sur la stabilité des amylases présentes dans la solution des graines de *Linum usitatissimum*.

Les résultats montrent que l'activité enzymatique des amylases varie en fonction des conditions de préparation de la solution des graines de *Linum usitatissimum* et du temps du traitement.

Après une incubation de 1 h à 90 °C, l'activité résiduelle des amylases dans la solution préparée à température ambiante reste élevée, avoisinant les 100 %. En revanche, pour la solution préparée à 50 °C, l'activité enzymatique diminue, atteignant environ 80 %.

Après 2 h d'incubation, une diminution de l'activité enzymatique est observée dans les deux conditions, mais elle est plus marquée pour la solution préparée à 50 °C, où l'activité chute en dessous de 50 %, tandis que la solution préparée à température ambiante conserve une activité supérieure à 70 %.

Nos résultats concordent avec ceux de Posoongnoen et Thummavongsa. (2019), qui ont montré que l'amylase issue des graines de *Canavalia gladiata* conserve une activité enzymatique relative supérieure à 35 % entre 80 et 90 °C après 1 h de traitement. Cependant, les travaux de Gimbi et Kitabatake. (2002), ont révélé que l'amylase issue des graines de mil africain (*Eleusine coracana*) ne maintient à peu près que 10 % de son activité à 90 °C après 10 minutes de traitement.

Dans notre étude, les enzymes extraites des graines de *Linum usitatissimum* se distinguent par leur grande thermostabilité, une caractéristique très prisée dans les procédés industriels soumis à des températures élevées (Sindhu et *al.*, 2017). Les amylases apparaissent ainsi comme les enzymes les plus polyvalentes du secteur, notamment pour la conversion de l'amidon en sirops de sucre et la production de cyclodextrines (Jaiswal et Jaiswal, 2024). Aussi, les amylases thermostables sont utilisées dans la liquéfaction industrielle comme agent fluidifiant, elles réduisent la viscosité et provoquent une hydrolyse partielle de l'amidon (Ahmad et *al.*, 2019).

b) Effet du pH sur la stabilité de l'enzyme

Les résultats de l'étude de l'influence du traitement pH sur la stabilité des amylases présentes dans la solution des graines de *Linum usitatissimum* a été testé par une pré-incubation des échantillons (en absence du substrat) en présence d'HCl à 1 M et du NaOH à 1 M, pendant 1 h et 2 h à température ambiante (Figure 23-24).

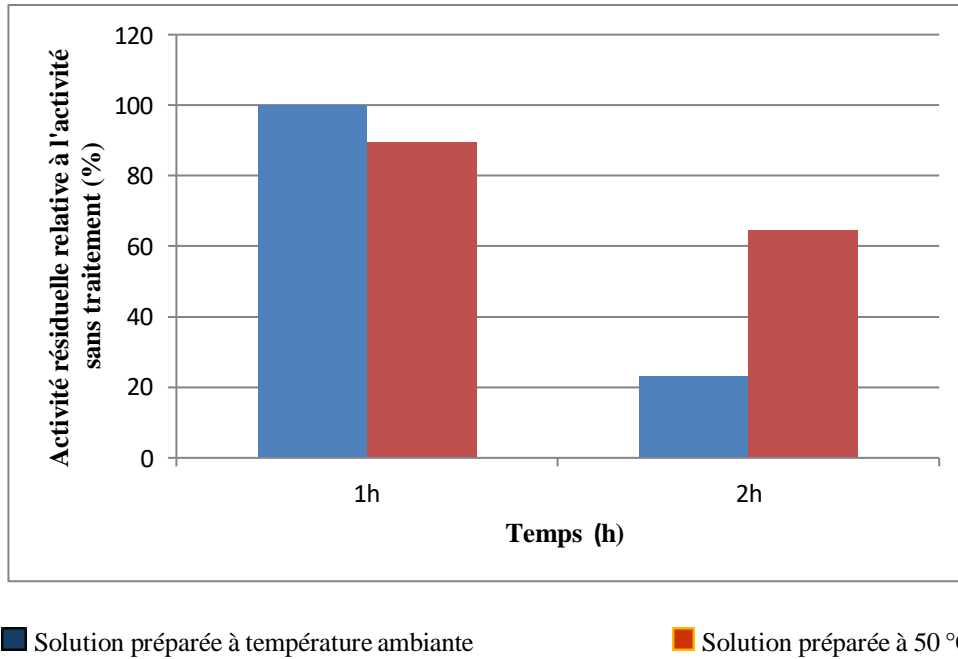


Figure 23 : Effet du HCl sur la stabilité des amylases présentes dans la solution des graines de *Linum usitatissimum*

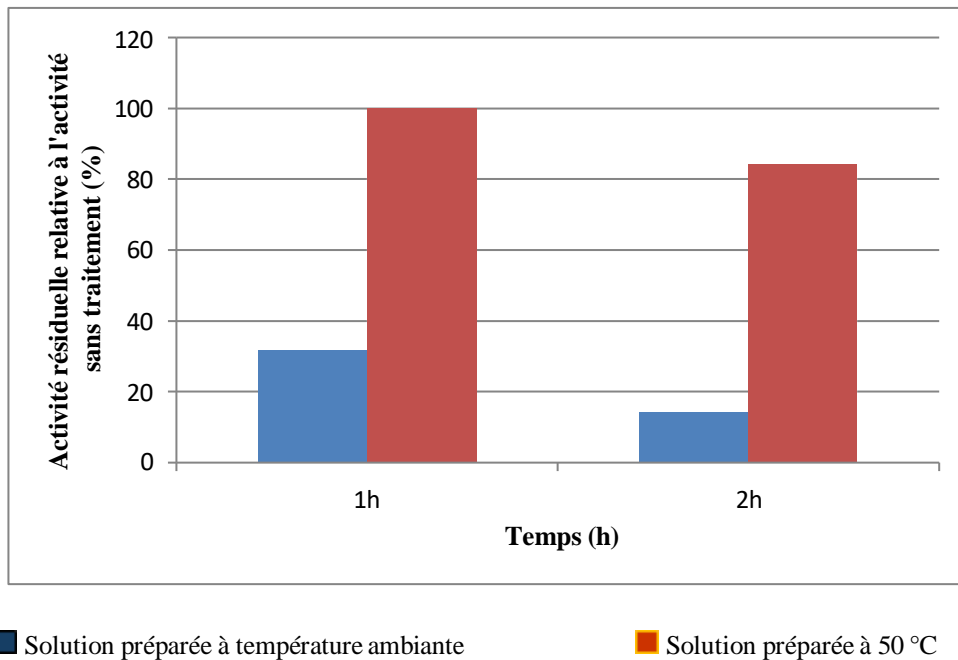


Figure 24 : Effet du NaOH sur la stabilité des amylases présentes dans la solution des graines de *Linum usitatissimum*.

Les résultats montrent que la stabilité des amylases présentes dans la solution des graines de *Linum usitatissimum* varie en fonction des conditions de préparation de la solution des graines de *Linum usitatissimum* et du temps du traitement pH. Sous

traitement acide avec HCl, la solution préparée à température ambiante conserve une activité amylasique d'environ 99 % après 1 h, mais celle-ci diminue fortement après 2 h (moins de 30 %), indiquant une déstabilisation progressive. Pour la solution préparée à 50 °C, ses amylases conservent une activité élevée d'environ 90 % après 1 h de traitement et plus de 60 % après 2 h de traitement. En revanche, sous traitement alcalin avec du NaOH, les amylases dans la solution préparée à 50 °C conservent une activité élevée après 1 h de traitement (presque 100 %) et restent relativement stables après 2 h de traitement (environ 70 %), tandis que celles préparées à température ambiante, elles présentent une activité nettement plus faible, chutant à environ 20 % après 1 h de traitement et à moins de 10 % après 2 h de traitement.

Les amylases stables en milieu alcalin ou acide présentent un intérêt particulier selon leur domaine d'application. Celles utilisées dans l'industrie des détergents nécessitent un pH élevé pour être actives et stables, tandis que les amylases impliquées dans l'hydrolyse de l'amidon sont généralement actives en milieu acide (Ahmad et *al.*, 2019).

c) Effet du CaCl₂ sur la stabilité de l'enzyme

Les résultats de l'étude d'influence du CaCl₂ sur l'activité des amylases présentes dans la solution des graines de *Linum usitatissimum* ont été évaluée par pré-incubation des échantillons (en absence de substrat) dans un tampon acétate d'ammonium-acide acétique contenant 1 M de CaCl₂, pendant 1 h et 2 h à température ambiante (Figure 25)

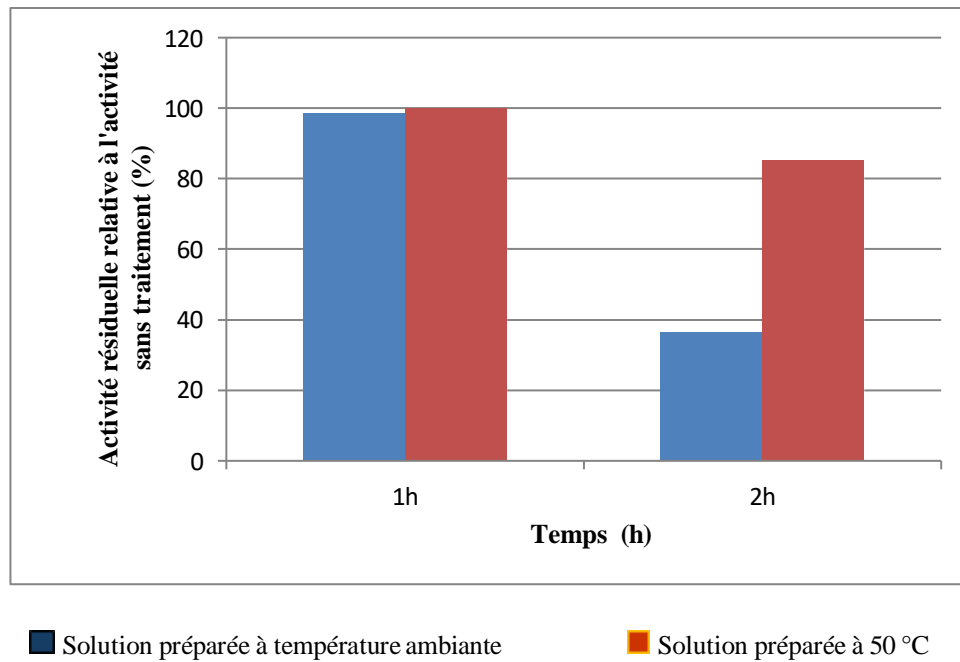


Figure 25 : Effet du CaCl_2 sur la stabilité des amylases présentes dans la solution des graines de *Linum usitatissimum*.

Les résultats obtenus (Figure 25) montrent que la stabilité des amylases en présence du CaCl_2 dépend de varie en fonction des conditions de préparation de la solution des graines de *Linum usitatissimum* et du temps du traitement. Après 1 h de traitement, l'activité résiduelle reste élevée dans les 2 conditions, atteignant environ 100 %. Après 2 h de traitement, une diminution de l'activité est observée, mais elle demeure relativement élevée dans la solution préparée à 50 °C (environ 80 %), tandis qu'une chute importante est notée dans la solution préparée à température ambiante (environ 40 %).

Les résultats de l'étude de Siddiqui et Khan. (2011) indiquent l'amylase de graines de *Halopyrum mucronatum* possède une stabilité aux sels, cette stabilité est influencée par le type de graine ainsi que par les conditions de traitement. L'amylase halophile présente une grande tolérance au sel, tout en restant active à faible concentration, ce qui en fait un atout pour divers secteurs industriels. Elle intervient dans les domaines de la boulangerie, du textile, du papier, de la fermentation éthanolique et du traitement des eaux usées. Elle trouve également des applications en chimie clinique et médicale (Bajpai et *al.*, 2015).

La stabilité conformationnelle des protéines natives dépend de divers facteurs externes, notamment la température, le pH, la force ionique et la composition du solvant, ce qui rend indispensable une analyse quantitative de l'influence de ces paramètres afin d'identifier les forces responsables de cette stabilité (Sundd et *al.*, 2002). Parmi les méthodes d'analyse, l'activité enzymatique est souvent considérée comme l'indicateur le plus sensible, car elle reflète les moindres ajustements au niveau du site actif, permettant ainsi de détecter même de très légers changements structuraux de l'enzyme (Singh et *al.*, 2010). Il est également reconnu que, dans des conditions modérées de dénaturation, comme un pH et une température faibles ou de faibles concentrations en dénaturants, certaines protéines adoptent des conformations intermédiaires appelées globules fondus, qui ne correspondent ni à l'état natif ni à l'état totalement dénaturé (Yadav et Prakash, 2011). Cette compréhension des mécanismes de stabilité protéique a des applications concrètes, notamment dans l'industrie des détergents, où les amylases alcalines stables sont largement utilisées comme additifs en raison de leur capacité à maintenir une activité enzymatique élevée même dans des conditions extrêmes (Asoodeh et *al.*, 2010).

5.2. Recherche d'activités phytasique dans la solution des graines de *Linum usitatissimum*

a) Préparation du courbe étalon

Afin de déterminer la quantité de Pi libérée par les phytases présentes dans la solution des graines de *Linum usitatissimum*, une courbe étalon $DO_{355nm} = f([KH_2PO_4])$ a été tracée (Figure 26)

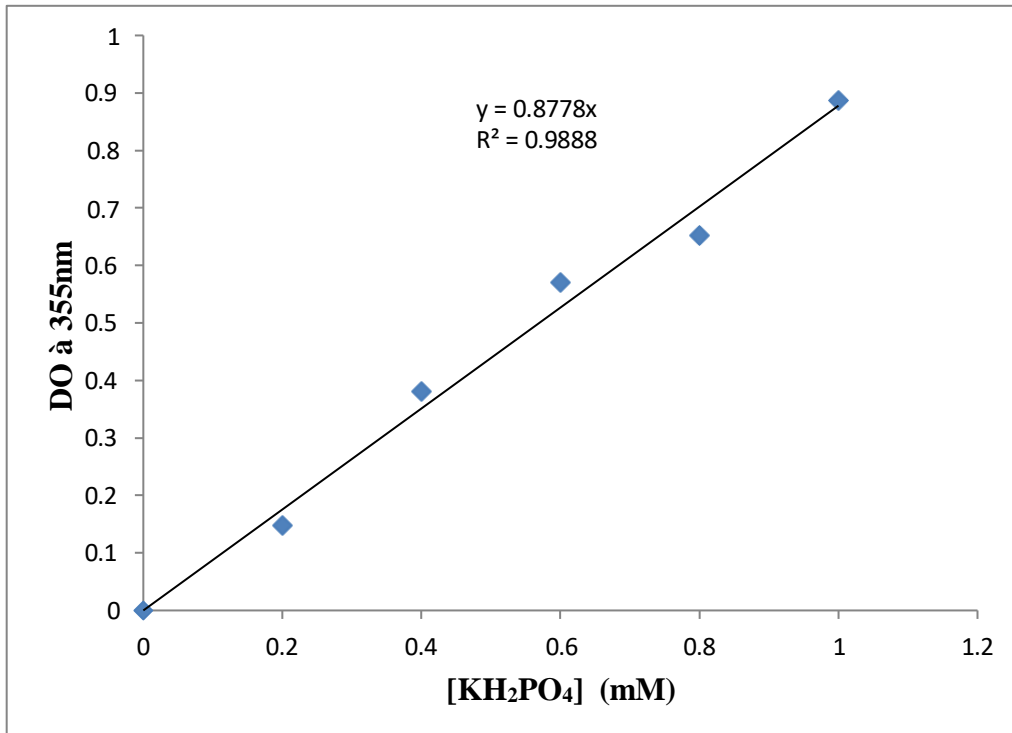


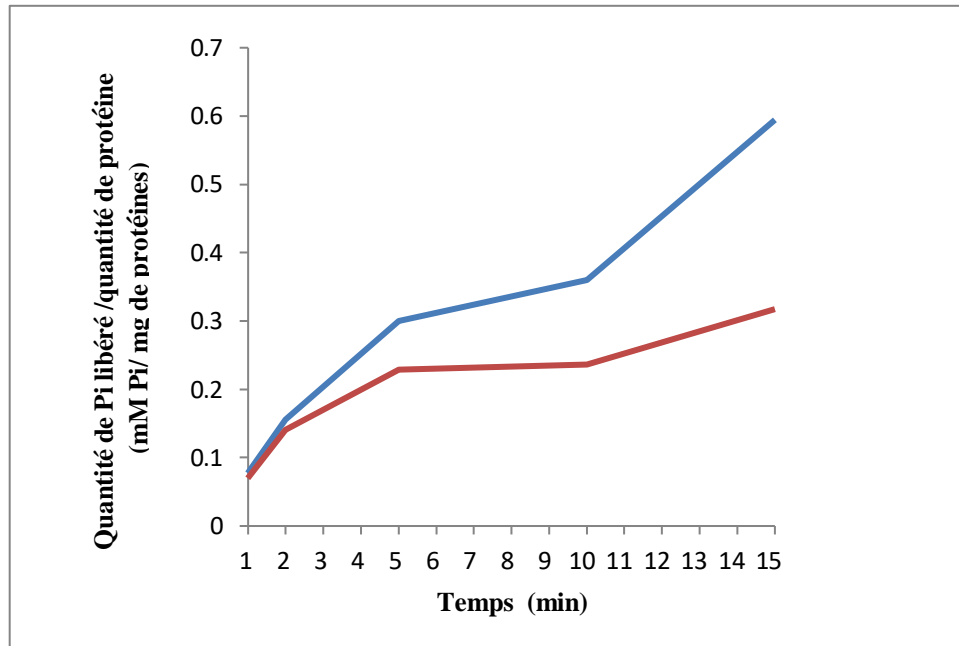
Figure 26 : Courbe étalon du KH₂PO₄

Par la suite, l'activité phytasique a été recherchée dans la solution des graines de *Linum usitatissimum* en suivant le protocole décrit dans la partie matériel et méthodes.

5.2.1. Caractérisation des activités phytasiques

a) Influence du temps d'incubation sur les activités phytasiques

L'étude de l'influence du temps sur l'activité phytasique de la solution de graines de *Linum usitatissimum* a été réalisée en l'évaluant à différents temps d'incubation : 2, 5, 10 et 15 min (comme mentionné dans la partie matériels et méthodes).



■ Solution préparée à température ambiante

■ Solution préparée à 50 °C

Figure 27 : Cinétique de l'activité phytasique de la solution des graines de *Linum usitatissimum*.

Les résultats obtenus (Figure 27) montrent que la quantité de Pi libérée augmente progressivement avec le temps d'incubations testées. Cependant, la solution préparée à température ambiante présente une activité phytasique plus élevée que celle préparée à 50°C.

Cette différence peut s'expliquer par la sensibilité thermique des phytases d'origine végétale, qui subissent une inactivation irréversible à des températures dépassant 70 °C en seulement quelques minutes (Greiner et Konietzny, 2006). Ainsi, une extraction à 50 °C est susceptible de réduire l'activité de l'enzyme, contrairement à une extraction à température ambiante qui permet de mieux la préserver.

Le phytate, lorsqu'il est présent dans l'alimentation, peut réduire la biodisponibilité de minéraux essentiels tels que le calcium, le zinc, le fer et le magnésium, en formant avec eux des complexes insolubles (Lei et Stahl, 2000). Les plantes possèdent des enzymes de la famille des phosphatases, appelées phytases, qui sont capables d'hydrolyser l'acide phytique (inositol hexakisphosphate, IP6). Cette hydrolyse libère du phosphore inorganique (Pi) ainsi que des formes moins

phosphorylées du myo-inositol (Chouchene et *al.*, 2018), constituant ainsi une voie métabolique essentielle dans de nombreux systèmes biologiques (Liu et *al.*, 1998).

Nos résultats s'accordent avec ceux d'Eeckhout et Paepe. (1994), démontrant que les graines de *Linum usitatissimum* présentent une activité phytasique notable.

De nombreuses études ont rapporté la présence et l'activité enzymatique des phytases dans diverses graines végétales, notamment dans graines de blé *Triticum aestivum* (Liu et *al.*, 2006), ainsi que dans les grains d'orge *Hordeum vulgare* (Bouajila et *al.*, 2020).

b) Influence de la température sur les activités phytasiques

L'étude de l'effet de la température sur l'activité phytasique de la solution de graines de *Linum usitatissimum* a été réalisée (selon le protocole décrit précédemment) à différentes températures : 20, 25, 30, 35, 40, 45 et 50 °C (Figure 28).

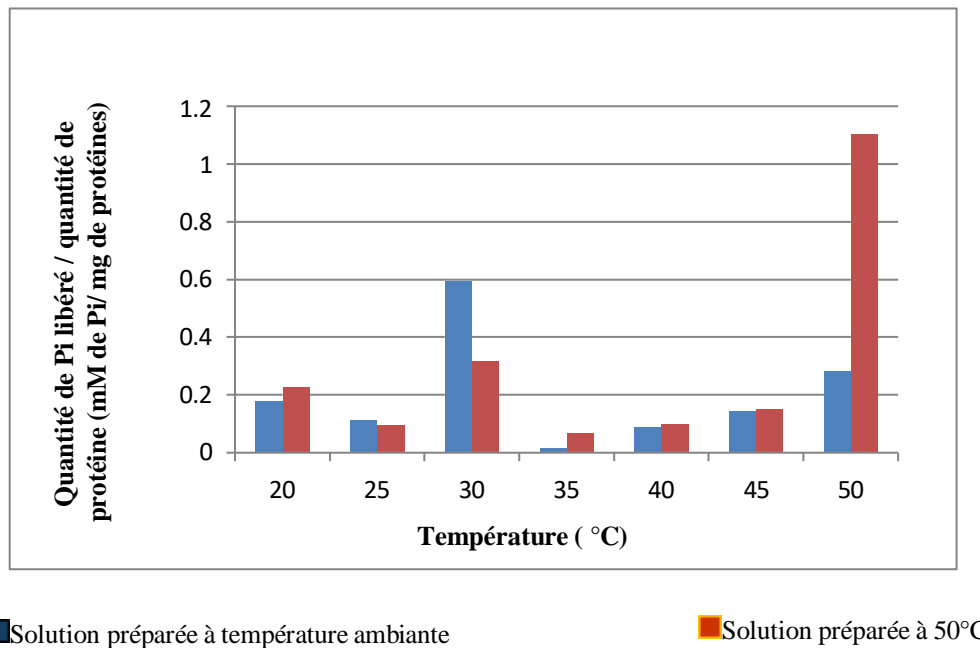


Figure 28 : Influence de la température sur l'activité phytasique de la solution des graines de *Linum usitatissimum*.

Les résultats obtenus (Figure 28) montrent que la quantité de Pi libérée varie en fonction de la température d'incubations testées.

On observe que la solution préparée à température ambiante présente une activité maximale à 30 °C, tandis que la solution préparée à 50 °C montre une activité maximale beaucoup plus élevée à 50 °C (Figure 28). Ces résultats sont en accord avec les résultats obtenus. En effet, comme mentionné dans la partie des amylases, une température optimale de 30 °C a été rapportée pour une hydrolase (la cystéine protéase), extraite des graines de *Linum usitatissimum* (Nandish et al., 2020), ainsi que pour une activité transférase (glycosyltransférase) issue de la même plante (Ghose et al, 2014). En revanche, une température optimale de 50 °C a été observée pour une phytase extraite des graines de canola *Brassica napus* (Houde et Kermasha, 1990), ainsi que pour celle provenant des graines de lupin *Lupinus albus* (Silva et Trugo, 1996).

Dans les résultats obtenus (Figure 28), une plus faible libération du Pi est observée dès 20 °C pour les 2 solutions, indiquant une activité enzymatique initiale. À 25 °C, une diminution de l'activité est observée pour les 2 solutions.

À 30 °C, l'activité enzymatique atteint un maximum pour la solution préparée à température ambiante, indiquant une efficacité optimale à cette température. En revanche, la solution préparée à 50 °C présente une activité plus faible. À 35 °C, les deux solutions affichent une activité très faible.

À 40 °C, une légère reprise de l'activité est observée pour les deux solutions, bien qu'elle reste inférieure aux valeurs maximales. À 45 °C, on note une augmentation de l'activité pour les deux solutions, traduisant une certaine récupération.

Enfin, à 50 °C, l'activité enzymatique augmente fortement pour la solution préparée à 50 °C, atteignant son maximum, ce qui en fait sa température optimale. En revanche, la solution préparée à température ambiante montre une activité plus faible à cette température.

c) Influence du pH sur les activités phytasiques

L'influence du pH sur l'activité phytasique de la solution de graines de *Linum usitatissimum* a été évaluée, conformément au protocole décrit précédemment, à différents pH : 5, 6, 7, 8 et 9 (Figure 29).

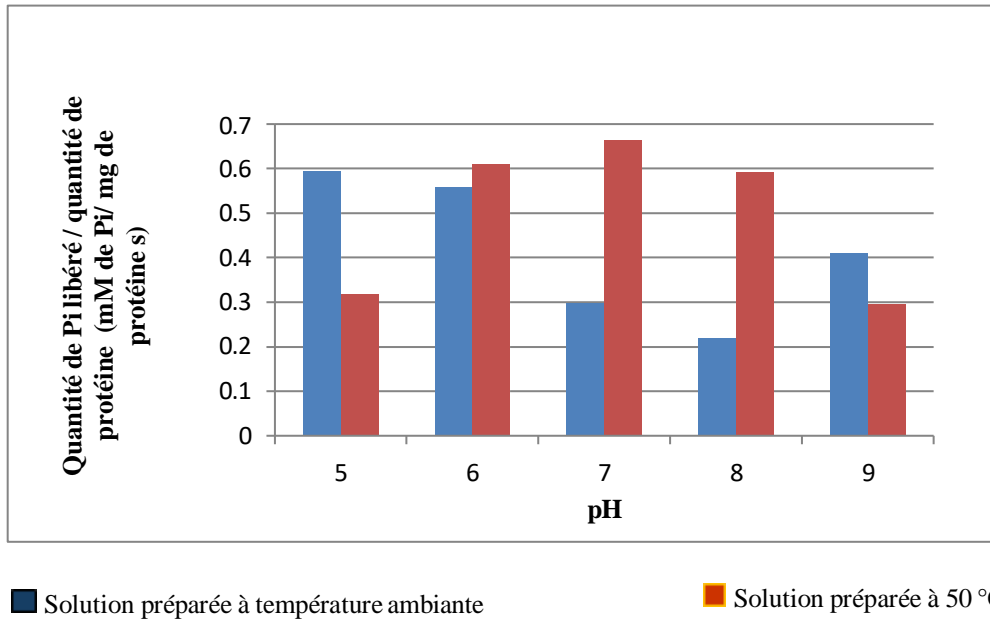


Figure 29 : Influence du pH sur l'activité phytasique de la solution des graines de *Linum usitatissimum*.

Les résultats obtenus (Figure 29) montrent que la quantité de Pi libéré, varie selon le pH testé.

On remarque que le pH optimal est de 7 pour la solution préparée à 50 °C, avec une activité également importante à pH 6. Pour la solution préparée à température ambiante, le pH optimal est de 5, avec une bonne activité aussi à pH 6. Comme mentionné dans la partie des amylases, différentes enzymes issues de graines présentent des pH optimaux variables selon leur nature. Par exemple, un pH optimal de 6 a été observé pour la cystéine protéase des graines de *Linum usitatissimum* (Nandish et al., 2020), tandis que l'activité hydroperoxyde isomérase présente un pH optimal de 7 (Zimmerman et Vick, 1970). En revanche, une phytase extraite des graines de *Lupinus albus* affiche un pH optimal plus acide, de l'ordre de 5 (Silva et Trugo, 1996). Un pH optimal de 6 a été observée pour une autre phytase de graines d'orge (Sung et al., 2005).

Une activité phytasique est observée dès le pH 5 pour les deux solutions. À pH 6, l'activité augmente pour les 2 solutions, mais elle est légèrement plus élevée dans celle préparée à 50 °C.

À pH 7, une forte augmentation est observée dans la solution préparée à 50 °C, atteignant le maximum d'activité, tandis qu'une nette diminution est notée dans la

solution préparée à température ambiante. À pH 8, l'activité diminue dans les deux cas, avec une baisse plus marquée dans la solution à température ambiante. Enfin, à pH 9, une légère augmentation est enregistrée dans la solution à température ambiante, alors qu'une diminution est observée dans celle préparée à 50 °C.

Chaque enzyme possède un pH optimal auquel son activité catalytique est maximale. Cependant, sa stabilité et sa sensibilité peuvent varier en fonction des conditions de pH, ce qui influence son efficacité enzymatique (Esmailipour et al, 2012). Comme mentionné dans la partie des amylases, le pH affecte l'activité enzymatique en modifiant la structure et la cinétique des enzymes, notamment par la protonation des acides aminés et des substrats (Radha et Gummadi, 2019 ; Kabir et Ju, 2023).

d) Influence du CaCl₂ sur les activités phytasiques

Les résultats de l'étude d'influence du CaCl₂ sur l'activité des phytases dans la solution des graines de *Linum usitatissimum* ont été testés par addition au tampon acétate d'ammonium–acide acétique contenant 0,1 M et pH 5 est additionné du CaCl₂ à 0,1M (Figure 30).

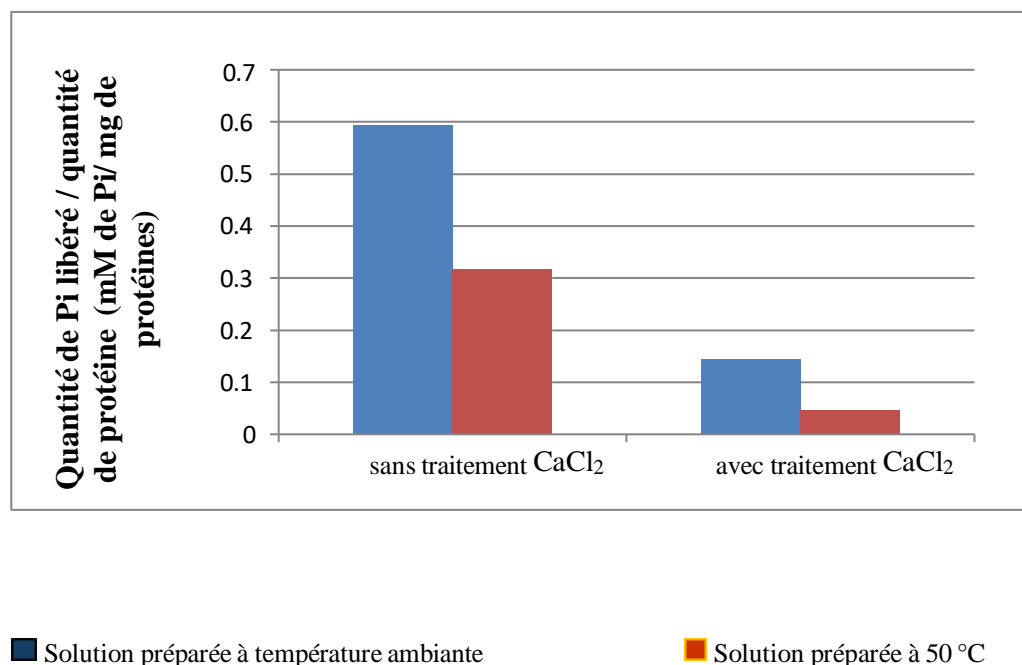


Figure 30 : Influence du CaCl₂ sur l'activité phytasique de la solution des graines de *Linum usitatissimum*

Les résultats montrent que l'activité phytasique de la solution des graines de *Linum usitatissimum* est affectée par la température de préparation en présence de CaCl_2 . On remarque que la quantité de Pi libérée dans la solution préparée à température ambiante est plus élevée par rapport à celle préparée à 50 °C. Cela concorde avec les travaux de Gopal et al. (1983), qui ont montré que chez *Arachis hypogaea* une diminution de leur activité phytasique est observée en présence de sels.

La concentration en sel peut exercer une influence sur l'activité enzymatique (Park et Raines, 2001). L'activité catalytique des enzymes est modulée en fonction de la concentration et de la nature des ions présents, ces derniers peuvent interagir avec la structure de l'enzyme et en modifier la fonction catalytique (Braham et al., 2021).

5.2.2. Effet de différents traitements, thermique, pH et CaCl_2 sur la stabilité de l'activité phytasique

a) Effet du traitement thermique sur la stabilité de l'enzyme

Les résultats de l'étude de l'influence du traitement thermique sur la stabilité des phytases présentes dans la solution des graines de *Linum usitatissimum* a été testée par pré-incubation, dans un bain-marie, des échantillons à 90 °C pendant 1 h et 2 h (Figure 31).

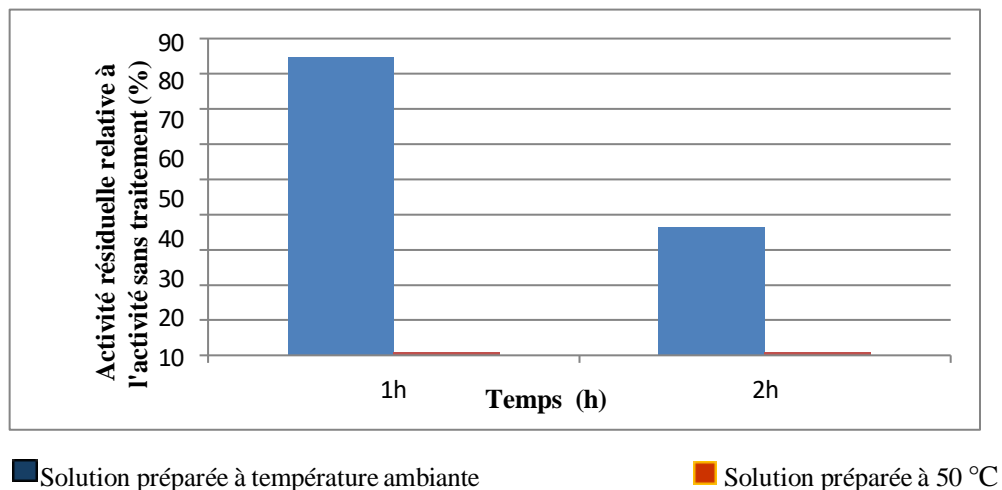


Figure 31 : Effet du traitement thermique sur la stabilité des phytases de la solution des graines de *Linum usitatissimum*.

Résultats et discussion

Les résultats montrent que l'inactivation thermique des phytases à 90 °C entraîne une diminution significative de leur activité enzymatique, avec une variation selon la température de préparation de la solution. Après 1 h de traitement thermique, l'activité résiduelle des phytases reste relativement élevée dans la solution préparée à température ambiante, atteignant environ 80 %, tandis que dans la solution préparée à 50°C, l'activité est totalement inactivée. Après 2 h, l'inactivation se poursuit, avec une activité résiduelle avoisinant 30 % pour la solution préparée à température ambiante et une perte totale d'activité pour la solution préparée à 50 °C.

Les résultats obtenus sont en accord avec ceux rapportés par Ma et Shan (2002), lesquels ont démontré une remarquable stabilité thermique de la phytase présente dans les graines de céréales. Aucune perte significative de l'activité enzymatique n'a été observée, même après une incubation à 90 °C pendant une heure, où seule une réduction minimale de l'ordre de 5,46 % a été enregistrée.

Les études sur l'inactivation thermique de la phytase du blé montrent que l'enzyme est stable. Cette caractéristique présente un intérêt pratique, car elle permet à l'enzyme de conserver une grande partie de son activité lors des procédés de séchage et de traitement thermique, ce qui est bénéfique pour les qualités meunières et boulangères du blé (Peers, 1953).

La thermostabilité est un critère pour l'utilisation industrielle de la phytase, car l'enzyme doit supporter les températures élevées nécessaires lors de la granulation des aliments (Wang et *al.*, 2004). Par ailleurs, les phytases thermostables ont été proposées comme additifs efficaces dans les industries de la pâte et du papier (Lei et *al.*, 2013).

La thermostabilité de la phytase peut s'expliquer par un équilibre entre sa forme active et sa forme dénaturée, dépendant de la température. Si la chaleur inactive complètement l'enzyme, seule la quantité d'enzymes encore actives détermine l'activité résiduelle. Mais si la forme dénaturée garde une part d'activité, l'activité finale dépend alors concentrations à l'équilibre des deux formes d'enzyme et de l'efficacité de la forme partiellement active à la température (Wang et *al.*, 2004).

b) Effet du pH sur la stabilité de l'enzyme

Les résultats de l'étude de l'influence du traitement pH sur la stabilité des phytases présentes dans la solution des graines de *Linum usitatissimum* a été évalué par une pré-incubation des échantillons a été testé par une pré-incubation des échantillons (en absence du substrat) en présence d'HCl à 1 M et du NaOH à 1 M, pendant 1 h et 2 h à température ambiante (Figure 32-33).

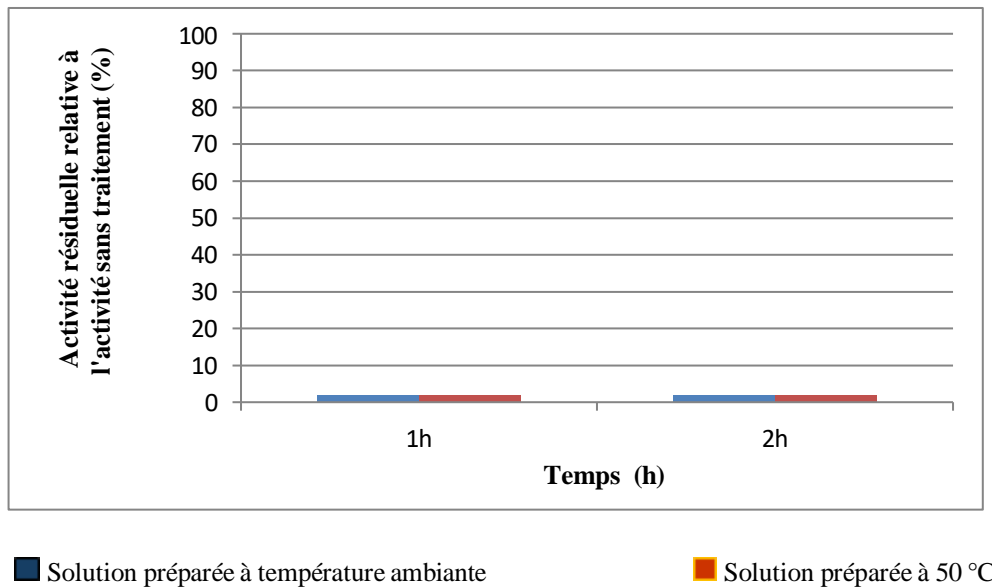


Figure 32 : Effet du HCl sur la stabilité des phytases de la solution des graines de *Linum usitatissimum*.

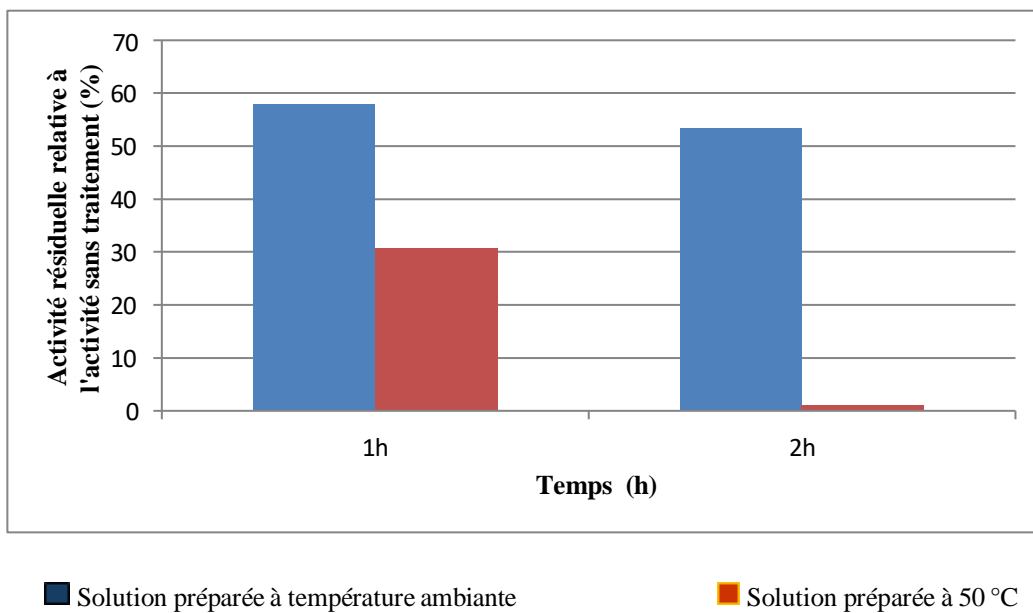


Figure 33 : Effet du NaOH sur la stabilité des phytases de la solution des graines de *Linum usitatissimum*

Les résultats montrent que la stabilité des phytases présentes dans la solution des graines de *Linum usitatissimum* est influencée par le pH et la température de préparation. En présence de HCl, l'activité enzymatique est totalement inhibée, atteignant 0 % et ceci dans les conditions de préparation des solutions (préparées à température ambiante ou à 50 °C). En revanche, pour le traitement avec du NaOH, l'activité enzymatique est partiellement conservée lorsque la solution est préparée à température ambiante, avec une activité résiduelle d'environ 55 % après 1h de traitement et de 50 % après 2h de traitement. À l'inverse, lorsque la solution est préparée à 50 °C, l'activité enzymatique diminue fortement dès la première heure, atteignant environ 25 %, puis chute presque à 0 % après 2 h de traitement.

À des pH extrêmement acides ou alcalins, éloignés des points isoélectriques, les protéines ont tendance à se déplier en raison de la répulsion électrostatique entre charges similaires. Ce phénomène est causé par l'ionisation des groupes fonctionnels sensibles aux variations de pH (Yadav et Prakash, 2011). Cette instabilité affecte l'enzyme phytase, dont la conformation active dépend de l'intégrité des liaisons hydrogène et ioniques, lesquelles peuvent être rompues sous l'effet de ces variations extrêmes de pH (Esmailipour et *al.*, 2012).

Selon les résultats obtenus (Figure 32), les phytases de notre solution sont plus stables en milieu alcalin et pas en milieu acide. Les phytases alcalines suscitent un intérêt croissant dans le domaine de la nutrition animale en raison de leurs propriétés avantageuses, telles qu'un profil de pH optimal en milieu alcalin, une thermostabilité élevée et une spécificité stricte pour le phytate (Gulati et *al.*, 2006). Ces caractéristiques, alliées au rôle physiologique du phytate dans le tractus digestif, en font des candidates idéales pour les applications en alimentation animale. Cependant, les phytases avec une instabilité en milieu acide, présentent ainsi une limite dans leur utilisation dans l'industrie alimentaire classique (Vo et *al.*, 2025).

d) Effet du CaCl₂ sur la stabilité de l'enzyme

Les résultats de l'étude de l'influence du CaCl₂ sur l'activité des phytases présentes dans la solution des graines de *Linum usitatissimum* a été testée par pré-incubation des échantillons dans un tampon phosphate contenant 1 M de CaCl₂, pendant 1 h et 2 h à température ambiante (Figure 34).

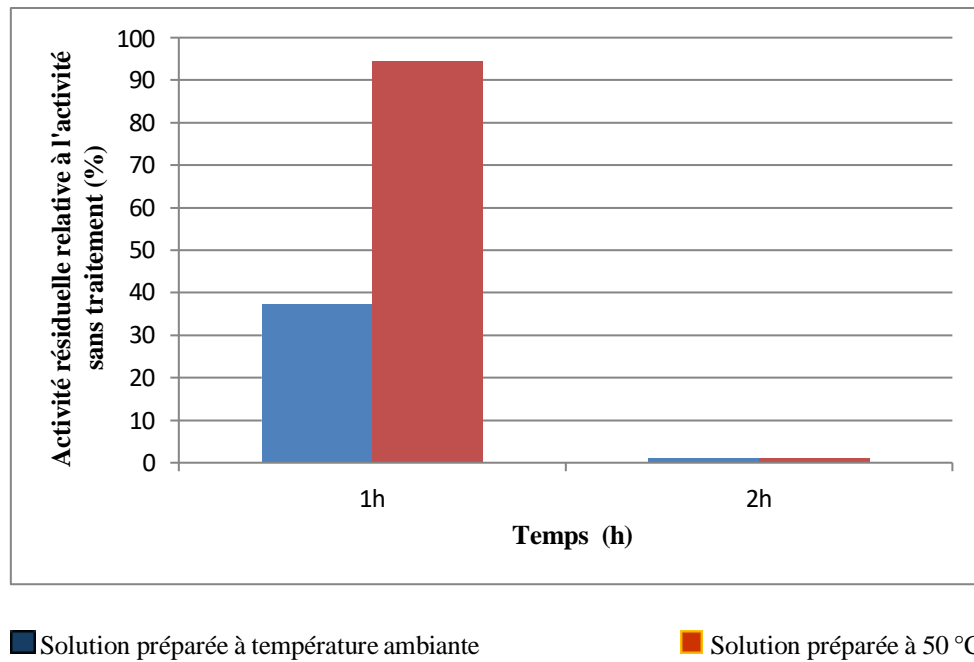


Figure 34 : Effet du CaCl_2 sur la stabilité des phytases de la solution des graines de *Linum usitatissimum*.

Les résultats montrent que la présence de CaCl_2 influence la stabilité des phytases présentes dans la solution des graines de *Linum usitatissimum*. Après 1 h, l'activité résiduelle des phytases est nettement plus élevée dans la solution préparée à 50 °C, atteignant près de 100 %, alors que celle préparée à température ambiante affiche une activité plus faible. Cependant, après 2 h, l'activité enzymatique est totalement inactivée dans les deux solutions. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par Nasri et *al.* (2011), qui ont montré que la phytase des graines de *Lactuca sativa* présente une faible stabilité en présence de sels.

L'utilisation de phytases tolérantes au sel constitue une stratégie prometteuse pour améliorer l'efficacité de l'utilisation du phosphore chez les plantes cultivées dans des sols salins riches en phytates (Boukhris et *al.*, 2025). Par ailleurs, l'application de ces enzymes pourrait contribuer à compenser les carences en phosphore, à réduire la pollution environnementale et à promouvoir une agriculture durable (Zhang et *al.*, 2024).

Les phytases présentent un potentiel considérable pour des applications industrielles, notamment dans la transformation des aliments et la production de

biocarburants. Elle a été utilisée avec succès dans des procédés tels que le brassage, où elle améliore le rendement en alcool, et dans la panification, en réduisant le temps de fermentation (Lei et *al.*, 2013). Par ailleurs, la capacité de la phytase à réduire la teneur en acide phytique dans les aliments est essentielle pour améliorer la biodisponibilité des minéraux, contribuant ainsi à atténuer la pénurie mondiale en minéraux (Joudaki et *al.*, 2023). L'application des enzymes à l'échelle industrielle constitue un défi technologique majeur, nécessitant des études préalables pour identifier les conditions opératoires optimales. Parmi les paramètres cruciaux à considérer figurent le temps de réaction, les stratégies de réutilisation, la pureté de l'enzyme, le volume de production, la spécificité du substrat, ainsi que les conditions de test enzymatique telles que la température, le pH et l'utilisation d'additifs ou de cofacteurs (David Troncoso et *al.*, 2022). Dans ce contexte, le génie génétique et l'ingénierie des protéines ont joué un rôle déterminant en permettant le développement de phytases dotées de propriétés améliorées, telles qu'une stabilité accrue, une meilleure spécificité pour le substrat et une résistance renforcée à la dégradation (Joudaki et *al.*, 2023).

Selon les résultats obtenus dans cette étude, les enzymes amylases et phytases, extraites des graines de *Linum usitatissimum*, présentent un fort potentiel pour de nombreuses applications industrielles. Les phytases sont particulièrement prisées dans les domaines de l'agroalimentaire et de la bioénergie (Lei et *al.*, 2013), tandis que les amylases jouent un rôle essentiel dans les industries agroalimentaire, de la fermentation et des détergents (Souza et Magalhães, 2010 ; Ahmad et *al.*, 2019).

L'étude de la caractérisation enzymatique a révélé des comportements différents pour ces deux activités. Concernant le pH optimal, les amylases extraites présentent un pH optimal variable selon la condition d'extraction : pH 9 pour la solution préparée à température ambiante, et pH 5 pour la solution extraite à 50 °C. Pour les phytases, le pH optimal est de 5 pour la solution préparée à température ambiante et de 7 pour celle préparée à 50 °C (Voie Tableau 9).

Concernant la température optimale, les amylases montrent deux pics d'activité optimale : à 20-25 °C et à 40 °C pour la solution préparée à 50 °C, et à 50 °C pour celle préparée à température ambiante. Les phytases présentent une

température optimale d'activité de 30 °C pour la solution préparée à température ambiante et de 50 °C pour celle préparée à 50 °C.

Sur le plan de la stabilité thermique, les amylases des graines de *Linum usitatissimum* montrent une très bonne résistance après traitement à 90 °C, avec une activité résiduelle élevée même après 1 h et 2 h de traitement. À l'inverse, les phytases sont beaucoup plus sensibles à la température élevée, avec une perte importante d'activité, surtout dans la solution extraite à 50 °C. Cela suggère que les amylases présentent une thermostabilité supérieure, un atout majeur pour les procédés industriels à haute température en tant qu'agents fluidifiants, elles réduisent la viscosité et provoquent une hydrolyse partielle de l'amidon (Ahmad et al., 2019).

Concernant la stabilité aux différents pH, les résultats ont montré que les traitements acides et alcalins affectent les deux enzymes, mais beaucoup plus sévèrement l'activité phytasique. En effet, après traitement à pH acide (1 M HCl), l'activité phytasique est totalement inhibée pour les deux solutions, tandis qu'après traitement à pH alcalin (1 M NaOH), la phytase préparée à température ambiante conserve seulement 55 % de son activité initiale. Ces résultats limitent l'utilisation de ces phytases dans des conditions industrielles extrêmes, notamment en industrie alimentaire (Vo et al., 2025).

L'effet des sels (CaCl_2) montre également une meilleure résistance des amylases par rapport aux phytases. La stabilité aux sels est une caractéristique recherchée dans des industries telles que la fermentation éthanolique, la boulangerie, le textile, le papier et le traitement des eaux usées pour les amylases (Bajpai et al., 2015), ainsi que dans la promotion d'une agriculture durable pour les phytases (Zhang et al., 2024).

Finalement, compte tenu de leurs propriétés biochimiques et de leur stabilité, les amylases extraites des graines de *Linum usitatissimum* apparaissent comme les enzymes présentant le plus grand potentiel pour des applications industrielles. En revanche, bien que les phytases soient prometteuses pour la nutrition animale et certaines applications alimentaires, leur utilisation reste limitée en raison de leur faible stabilité thermique et acido-basique (Greiner et Konietzny, 2006 ; Vo et al., 2025). Leur activité et leur rendement doivent donc être améliorés afin de les rendre adaptés aux exigences industrielles (Nassiri et Ariannejad, 2015).

En plus des activités enzymatiques, les résultats obtenus dans notre étude montrent aussi que la solution de nos graines est aussi dotée d'activités antioxydantes. Le tableau suivant récapitule les résultats des résultats des activités biologiques des graines de *Linum usitatissimum*.

Tableau 9 : Tableau récapitulatif des résultats des activités biologiques des graines de *Linum usitatissimum*.

		IC ₅₀ en mg la poudre des graines de <i>Linum usitatissimum</i>				IC ₅₀ en mg de protéines présentes dans les graines de <i>Linum usitatissimum</i>			
		Solution à température ambiante		Solution à température 50 °C		Solution à température ambiante		Solution à température 50 °C	
Activité antioxydant	Dégradation de l'H₂O₂	1,1059		0,7965		0,989		0,354	
	Piégeage du DPPH	1,5251		1,0988		1,36		0,488	
Activité enzymatique									
	(Quantité amidon dégradé µM / Pi libérée mM)/mg de protéine		Température optimale		pH optimale		en présence des sels (CaCl ₂)		
	ambiante	50°C	ambiante	50 °C	ambiante	50 °C	ambiante	50 °C	
Amylases	9,18	25,76	20,25 et 40 °C	50 °C	9	5	10,27	21,28	
Phytases	0,59	0,31	30 °C	50 °C	5	7	0,14	0,046	
Stabilité enzymatique (activité résiduelle)									
	à 90°C		à pH acide (HCl)		à pH alcalin (NaOH)		au sels (CaCl ₂)		
	ambiante	50 °C	ambiante	50 °C	ambiante	50 °C	ambiante	50 °C	
Amylase	Forte	Forte	Forte	Forte	Forte	Forte	Forte	Forte	
Phytase	Forte	Faible	Faible	Faible	Forte	Moyenne	Moyenne	Moyenne	

Conclusion et Perspectives

Afin de rechercher des propriétés biologiques au niveau des graines de *Linum usitatissimum*, les propriétés antioxydantes (catalasiques et anti-radicalaires) ainsi que les propriétés enzymatiques (amylasiques et phytasiques) ont été étudiées.

Les résultats obtenus montrent la présence d'une activité catalasique avec un IC₅₀ de 1,1059 mg/mL de la solution des graines (équivalent à 0,989 mg/mL de protéines) pour la solution préparée à température ambiante, et un IC₅₀ de 0,7965 mg/mL de la solution des graines (équivalent à 0,354 mg/mL de protéines) pour la solution préparée à 50 °C. Une activité anti-radicalaire, évaluée par le test de DPPH, a également été observée avec un IC₅₀ de 1,5251 mg/mL (1,36 mg/mL de protéines) à température ambiante et de 1,0988 mg/mL (0,488 mg/mL de protéines) à 50 °C.

Concernant les propriétés enzymatiques, la solution a présenté une activité amylasique avec une quantité d'amidon dégradé de 9,18 µM/mg de protéines pour la solution préparée à température ambiante et 25,76 µM/mg de protéines pour la solution préparée à 50 °C. Les pH optimaux sont de 9 pour la solution préparée à température ambiante et de 5 pour celle préparée à 50 °C. Les températures optimales d'activité sont de 50 °C pour la solution préparée à température ambiante et de 20, 25 °C et 40 °C pour la solution préparée à 50 °C. Ces amylases ont montré une bonne stabilité thermique, et aussi au pH acide et alcalin, ainsi qu'en présence de sels.

La solution a aussi présenté une activité phytasique avec une quantité de Pi libérée égale à 0,59 mM/mg de protéines pour la solution préparée à température ambiante et une quantité de Pi libérée égale à 0,31 mM/mg de protéines pour la solution préparée à 50 °C. Le pH optimal est de 5 pour la solution préparée à température ambiante et de 7 pour celle préparée à 50 °C. Les températures optimales d'activité étaient respectivement de 30 °C pour la solution préparée à température ambiante et de 50 °C pour la solution préparée à 50 °C. Ces phytases ont montré une faible stabilité thermique, et aussi en milieu acide, mais une stabilité modérée en milieu alcalin et en présence de sels.

Ces phytases ont montré une faible stabilité thermique et une faible stabilité en milieu acide. Cependant, ces phytases présentent une stabilité modérée en milieu alcalin et en présence de sels.

Les résultats obtenus dans cette étude ont montré que la solution des graines de *Linum usitatissimum* possède des propriétés antioxydantes et enzymatiques importantes. Cette étude peut être complétée par :

- La recherche de ces propriétés dans d'autres types d'extraits de ces graines (extrait méthanolique, huileux, etc.) ;
- La recherche d'autres activités biologiques telles que les effets anti-inflammatoires, antimicrobiens, anticancéreux, antidiabétiques, antiviraux... ;
- L'identification et la purification des molécules responsables de ces activités ;
- L'évaluation du potentiel d'application industrielle de ces propriétés biologiques (dans le secteur agroalimentaire, pharmaceutique, cosmétique...).

*Références
bibliographiques*

1. **Acosta-Pavas, J. C., Alzate-Blandon, L., & Ruiz-Colorado, A. A. (2020).** Enzymatic hydrolysis of wheat starch for glucose syrup production. *Dyna*, 87(214), 173-182
2. **Adda, A., Regagba, Z., Latigui, A., & Merah, O. (2014).** Effect of salt stress on α -amylase activity, sugars mobilization and osmotic potential of *Phaseolus vulgaris* L. seeds var. 'Cocorose' and 'Djadida' during germination.
3. **Agarwal, P. K. (2018).** A biophysical perspective on enzyme catalysis. *Biochemistry*, 58(6), 438-449.
4. **Ahmad, M. A., Isah, U., Raubilu, I. A., Muhammad, S. I., & Ibrahim, D. (2019).** An overview of the enzyme : Amylase and its industrial potentials. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, 12(1), 352-358.
5. **Akinfemiwa, O., Zubair, M., & Muniraj, T. (2023).** Amylase. *StatPearls*.
6. **Alves, R. R., & Alves, H. N. (2011).** The faunal drugstore : Animal-based remedies used in traditional medicines in Latin America. *Journal of ethnobiology and ethnomedicine*, 7, 1-43.
7. **Amin, T., & Thakur, M. (2014).** A comparative study on proximate composition, phytochemical screening, antioxidant and antimicrobial activities of *Linum usitatissimum* L. (flaxseeds). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(4), 465-481.
8. **Angeli, L., Morozova, K., & Scampicchio, M. (2023).** A kinetic-based stopped-flow DPPH• method. *Scientific Reports*, 13(1), 7621.
9. **Anurag, A. P., Prakruthi, M., & Mahesh, M. S. (2020).** Flax Seeds (*Linum usitatissimum*) : Nutritional composition and health benefits. *IP Journal of Nutrition, Metabolism and Health Science*, 3(2), 35-40.
10. **Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S. E., Bektaşoğlu, B., ... & Özyurt, D. (2007).** Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*, 12(7), 1496-1547.
11. **Ariza, A., Moroz, O. V., Blagova, E. V., Turkenburg, J. P., Waterman, J., Roberts, S. M., ... & 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.
12. **Arulselvan, P., Fard, M. T., Tan, W. S., Gothai, S., Fakurazi, S., Norhaizan, M. E., & Kumar, S. S. (2016).** Role of antioxidants and natural products in inflammation. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016(1), 5276130.
13. **Ashwini, D., Arul Amutha Elizabeth, D., & Ravichandar, D. (2023).** Synergistic in Vitro Antioxidant Activity of *Linum Usitatissimum* and *Mentha Spicata*: Pharmaceutical Science-Pharmacology. *International Journal of Life Science and Pharma Research*, 13(4), P1-P13.
14. **Asif, M. (2015).** Chemistry and antioxidant activity of plants containing some phenolic compounds. *Chemistry international*, 1(1), 35-52.

15. **Asoodeh, A., Chamani, J. K., & Lagzian, M. (2010).** A novel thermostable, acidophilic α -amylase from a new thermophilic *Bacillus* sp. Ferdowsicous isolated from Ferdows hot mineral spring in Iran: Purification and biochemical characterization
16. **Avwioroko, O. J., Anigboro, A. A., Ejoh, A. S., Atanu, F. O., Okeke, M. A., & Tonukari, N. J. (2019).** Characterization of α -amylases isolated from *Cyperus esculentus* seeds (tigernut) : biochemical features, kinetics and thermal inactivation thermodynamics. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 21, 101298.
17. **Awad, A. M., Kumar, P., Ismail-Fitry, M. R., Jusoh, S., Ab Aziz, M. F., & Sazili, A. Q. (2021).** Green extraction of bioactive compounds from plant biomass and their application in meat as natural antioxidant. *Antioxidants*, 10(9), 1465
18. **Badole, S. L., Zanwar, A. A., & Bodhankar, S. L. (2013).** Antihyperglycemic potential of secoisolaricinol diglucoside. In *Bioactive food as dietary interventions for diabetes* (pp. 53-57). Academic Press.
19. **Bajpai, B., Chaudhary, M., & Saxena, J. (2015).** Production and Characterization of α -Amylase from an Extremely Halophilic Archaeon, *Haloferax* sp. HA10. *Food technology and biotechnology*, 53(1), 11–17.
20. **Barozai, M. Y. K. (2012).** Insilico identification of microRNAs and their targets in fiber and oil producing plant Flax (*Linum usitatissimum* L.). *Pak. J. Bot*, 44(4), 1357-1362.
21. **Barthet, V. J., Klensporf-Pawlik, D., & Przybylski, R. (2014).** Antioxidant activity of flaxseed meal components. *Canadian Journal of Plant Science*, 94(3), 593-602
22. **Bartlett, G. J., Porter, C. T., Borkakoti, N., & Thornton, J. M. (2002).** Analysis of catalytic residues in enzyme active sites. *Journal of molecular biology*, 324(1), 105-121.
23. **Ben Salah, I., Smaoui, A., Mahmoudi, H., & Ouergui, Z. (2021).** Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur les teneurs en composés phénoliques et l'activité antioxydante chez *Ephedra alata* alenda. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science*, 14(10), 23–30.
24. **Benavente-García, O., Castillo, J., Marin, F. R., Ortuño, A., & Del Río, J. A. (1997).** Uses and properties of citrus flavonoids. *Journal of agricultural and food chemistry*, 45(12), 4505-4515.
25. **Bergonzi, M. C., Heard, C. M., & Garcia-Pardo, J. (2022).** Bioactive Molecules from Plants : Discovery and Pharmaceutical Applications. *Pharmaceutics*, 14(10), 2116.
26. **Bernacchia, R., Preti, R., & Vinci, G. (2014).** Chemical composition and health benefits of flaxseed. *Austin J Nutri Food Sci*, 2(8), 1045.
27. **Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012).** Oxidative stress and antioxidant defense. *World allergy organization journal*, 5, 9-19.

28. **Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012).** Oxidative stress and antioxidant defense. *World allergy organization journal*, 5, 9-19.
29. **Bouajila, A., Ammar, H., Chahine, M., Khouja, M., Hamdi, Z., Khechini, J., ... & López, S. (2020).** Changes in phytase activity, phosphorus and phytate contents during grain germination of barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars. *Agroforestry Systems*, 94, 1151-1159.
30. **Bouaziz, F., Koubaa, M., Barba, F. J., Roohinejad, S., & Chaabouni, S. E. (2016).** Antioxidant properties of water-soluble gum from flaxseed hulls. *Antioxidants*, 5(3), 26.
31. **Boukhris, I., Farhat-Khemakhem, A., Blibech, M., Bouchaala, K., & Chouayekh, H. (2015).** Characterization of an extremely salt-tolerant and thermostable phytase from *Bacillus amyloliquefaciens* US573. *International journal of biological macromolecules*, 80, 581-587.
32. **Boyce, S., & Tipton, K. F. (2001).** Enzyme classification and nomenclature. *Encyclopedia of life sciences*, 10.
33. **Bradford, M. M. (1976).** Une méthode rapide et sensible pour la quantification du microgramme quantités de protéine s'utilisant le principe de la liaison protéine colorant. *Biochimie analytique*, 72(1-2), 248-254.
34. **Braham, S. A., Siar, E. H., Arana-Peña, S., Carballares, D., Morellon-Sterling, R., Bavandi, H., ... & Fernandez-Lafuente, R. (2021).** Effect of concentrated salts solutions on the stability of immobilized enzymes : Influence of inactivation conditions and immobilization protocol. *Molecules*, 26(4), 968.
35. **Chand, T., Bhandari, A., Kumawat, B. K., Sharma, A., Pareek, A., & Bansal, V. K. (2012).** In vitro antioxidant activity of aqueous extract of seeds of *Cucumis callosus* (Rottl.) Cogn. *Der Pharm Lett*, 4(3), 840-4.
36. **Chandra, P., Sharma, R. K., & Arora, D. S. (2020).** Antioxidant compounds from microbial sources : A review. *Food Research International*, 129, 108849.
37. **Chatterjee, A., Puri, S., Sharma, P. K., Deepa, P. R., & Chowdhury, S. (2023).** Nature-inspired Enzyme engineering and sustainable catalysis : biochemical clues from the world of plants and extremophiles. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 11, 1229300.
38. **Chera, E. I., Pop, R. M., Pârvu, M., Sorițău, O., Uifălean, A., Cătoi, F. A., ... & Pârvu, A. E. (2022).** Flaxseed ethanol extracts' antitumor, antioxidant, and anti-inflammatory potential. *Antioxidants*, 11(5), 892.
39. **Chhillar, H., Chopra, P., & Ashfaq, M. A. (2021).** Lignans from linseed (*Linum usitatissimum* L.) and its allied species : Retrospect, introspect and prospect. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(16), 2719-2741.
40. **Chouchene, A., Micard, V., & Lullien-Pellerin, V. (2018, September).** Phytases endogènes : un outil pour réduire l'acide phytique des mélanges blé-pois. In 2. Rencontres Francophones sur les Légumineuses (RFL2) (p. np).

41. **Daniel, R. M., & Danson, M. J. (2013).** Temperature and the catalytic activity of enzymes : A fresh understanding. *FEBS letters*, 587(17), 2738-2743.
42. **Daniel, R. M., Danson, M. J., & Eisenthal, R. (2001).** The temperature optima of enzymes : a new perspective on an old phenomenon. *Trends in biochemical sciences*, 26(4), 223-225.
43. **David Troncoso, F., Alberto Sánchez, D., & Luján Ferreira, M. (2022).** Production of plant proteases and new biotechnological applications : an updated review. *ChemistryOpen*, 11(3), e202200017.
44. **David Troncoso, F., Alberto Sánchez, D., & Luján Ferreira, M. (2022).** Production of plant proteases and new biotechnological applications : an updated review. *ChemistryOpen*, 11(3), e202200017.
45. **Dini, I. (2021).** The potential of Dietary antioxidants. *Antioxidants*, 10(11), 1752.
46. **Dini, I. (2021).** The potential of Dietary antioxidants. *Antioxidants*, 10(11), 1752.
47. **Dos Anjos, H. A., Luna, S., Hernández-Macedo, M. L., & López, J. A. (2020).** Antimicrobial and antioxidant active food packaging : Technological and scientific prospection. *Recent Patents on Biotechnology*, 14(2), 99-111
48. **Dsouza, M. R., & Bhat, V. (2018).** Evaluation of pharmacological activities of seed and pericarp of Litchi chinensisSonn. *Journal Homepage: <http://www.esrjournal.com> Email: esrjeditor@gmail.com*, 6(1).
49. **Dutta, P., Sahu, R. K., Dey, T., Lahkar, M. D., Manna, P., & Kalita, J. (2019).** Beneficial role of insect-derived bioactive components against inflammation and its associated complications (colitis and arthritis) and cancer. *Chemico-biological interactions*, 313, 108824.
50. **Dzuvor, C. K. O., Taylor, J. T., Acquah, C., Pan, S., & Agyei, D. (2018).** Bioprocessing of functional ingredients from flaxseed. *Molecules*, 23(10), 2444.
51. **Eeckhout, W., & De Paepe, M. (1994).** Total phosphorus, phytate-phosphorus and phytase activity in plant feedstuffs. *Animal Feed Science and Technology*, 47(1-2), 19-29.
52. **Esmailipour, O., Van Krimpen, M. M., Jongbloed, A. W., De Jonge, L. H., & Bikker, P. (2012).** Effects of temperature, pH, incubation time and pepsin concentration on the in vitro stability of intrinsic phytase of wheat, barley and rye. *Animal Feed Science and Technology*, 175(3-4), 168-174.
53. **Esmailipour, O., Van Krimpen, M. M., Jongbloed, A. W., De Jonge, L. H., & Bikker, P. (2012).** Effects of temperature, pH, incubation time and pepsin concentration on the in vitro stability of intrinsic phytase of wheat, barley and rye. *Animal Feed Science and Technology*, 175(3-4), 168-174.
54. **Fatema, F., Khan, Z. H., Khan, N. D., & Mular, S. M. (2017).** Determination of amylase activity from germinated *Syzygium cumini* seed (jamun). *International Journal of Applied Research*, 3(1), 573-575.

55. **Finkel, T. (2003)**. Oxidant signals and oxidative stress. *Current opinion in cell biology*, 15(2), 247-254.
56. **Friedman, E. J., & Terry, C. H. (2021)**. Investigating enzyme structure and function through model-building and peer teaching in an introductory biology course.
57. **Fulda, S., & Debatin, K. M. (2006)**. Extrinsic versus intrinsic apoptosis pathways in anticancer chemotherapy. *Oncogene*, 25(34), 4798-4811.
58. **Gai, F., Janiak, M. A., Sulewska, K., Peiretti, P. G., & Karamać, M. (2023)**. Phenolic compound profile and antioxidant capacity of flax (*Linum usitatissimum* L.) harvested at different growth stages. *Molecules*, 28(4), 1807.
59. **Garcia, R., Kaid, N., Vignaud, C., & Nicolas, J. (2000)**. Purification and some properties of catalase from wheat germ (*Triticum aestivum* L.). *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(4), 1050-1057
60. **Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z., & Jore, D. (2003)**. Espèces réactives de l'oxygène. *L'actualité chimique*, 91.
61. **Gasmi, A., Nasreen, A., Lenchyk, L., Lysiuk, R., Peana, M., Shapovalova, N., ... & Bjørklund, G. (2024)**. An Update on Glutathione's Biosynthesis, Metabolism, Functions, and Medicinal Purposes. *Current Medicinal Chemistry*, 31(29), 4579-4601.
62. **Gaucher, C., Boudier, A., Bonetti, J., Clarot, I., Leroy, P., & Parent, M. (2018)**. Glutathione : antioxidant properties dedicated to nanotechnologies. *Antioxidants*, 7(5), 62.
63. **Gentile, C. (2021)**. Biological activities of plant food components : implications in human health. *Foods*, 10(2), 456.
64. **Georgiou-Siafis, S. K., & Tsiftoglou, A. S. (2023)**. The key role of GSH in keeping the redox balance in mammalian cells : mechanisms and significance of GSH in detoxification via formation of conjugates. *Antioxidants*, 12(11), 1953.
65. **Ghedadba, N., Bousselsela, H., Hambaba, L., Benbia, S., & Mouloud, Y. (2014)**. Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des feuilles et des sommités fleuries de *Marrubium vulgare* L. *Phytothérapie*, 12(1), 15-24.
66. **Ghose, K., Selvaraj, K., McCallum, J., Kirby, C. W., Sweeney-Nixon, M., Cloutier, S. J., ... & Fofana, B. (2014)**. Identification and functional characterization of a flax UDP-glycosyltransferase glucosylating secoisolariciresinol (SECO) into secoisolariciresinol monoglucoside (SMG) and diglucoside (SDG). *BMC plant biology*, 14, 1-17.
67. **Gimbi, D. M., & Kitabatake, N. (2002)**. Changes in alpha-and beta-amylase activities during seed germination of African finger millet. *International journal of food sciences and nutrition*, 53(6), 481-488.
68. **Gislin, D., Sudarsanam, D., Raj, G. A., & Baskar, K. (2018)**. Antibacterial activity of soil bacteria isolated from Kochi, India and their molecular identification. *Journal of genetic engineering and biotechnology*, 16(2), 287-294.

69. **Glorieux, C., & Calderon, P. B. (2024).** Targeting catalase in cancer. *Redox Biology*, 103404.
70. **Gopal, G. R., Ramaiah, J. D., & Rao, G. R. (1983).** Influence of salinity of phytate breakdown and phytase activity in groundnut (*Arachis hypogaea* L.) cotyledons during germination.
71. **Goudenhoft, C., Bourmaud, A., & Baley, C. (2019).** Flax (*Linum usitatissimum* L.) fibers for composite reinforcement : exploring the link between plant growth, cell walls development, and fiber properties. *Frontiers in Plant Science*, 10, 411
72. **Gouthamchandra, K., Mahmood, R., & Manjunatha, H. (2010).** Free radical scavenging, antioxidant enzymes and wound healing activities of leaves extracts from *Clerodendrum infortunatum* L. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 30(1), 11-18.
73. **Greiner, R., & Konietzny, U. (2006).** Phytase for food application. *Food Technology & Biotechnology*, 44(2).
74. **Gulati, H. K., Chadha, B. S., & Saini, H. S. (2007).** Production and characterization of thermostable alkaline phytase from *Bacillus laevolacticus* isolated from rhizosphere soil. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 34(1), 91-98.
75. **Gulati, H. K., Chadha, B. S., & Saini, H. S. (2007).** Production and characterization of thermostable alkaline phytase from *Bacillus laevolacticus* isolated from rhizosphere soil. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 34(1), 91-98.
76. **Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007).** Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10).
77. **Halima, N. B., Borchani, M., Fendri, I., Khemakhem, B., Gosset, D., Baril, P., ... & Abdelkafi, S. (2015).** Optimised amylases extraction from oat seeds and its impact on bread properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 72, 1213-1221.
78. **Hanaa, M. H., Ismail, H. A., Mahmoud, M. E., & Ibrahim, H. M. (2017).** Antioxidant activity and phytochemical analysis of flaxseeds (*Linum usitatissimum* L.). *Minia J Agric Res Develop*, 37(1), 129.
79. **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.
80. **Hano, C., Addi, M., Bensaddek, L., Crônier, D., Baltora-Rosset, S., Doussot, J., ... & Lamblin, F. (2006).** Differential accumulation of monolignol-derived compounds in elicited flax (*Linum usitatissimum*) cell suspension cultures. *Planta*, 223, 975-989.
81. **Harhaun, R., Kunik, O., Saribekova, D., & Lazzara, G. (2020).** Biologically active properties of plant extracts in cosmetic emulsions. *Microchemical Journal*, 154, 104543.

82. **Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. B., Zulfiqar, F., Raza, A., Mohsin, S. M., Mahmud, J. A., ... & 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.
83. **Hebi, M., & Eddouks, M. (2016).** Evaluation of the antioxidant activity of *Stevia rebaudiana*. *Phytothérapie*, 14, 17-22
84. **Heck, D. E., Shakarjian, M., Kim, H. D., Laskin, J. D., & Vetrano, A. M. (2010).** Mechanisms of oxidant generation by catalase. *Annals of the new York Academy of Sciences*, 1203(1), 120-125.
85. **Heinonen, J. K., & Lahti, R. J. (1981).** A new and convenient colorimetric determination of inorganic orthophosphate and its application to the assay of inorganic pyrophosphatase. *Analytical biochemistry*, 113(2), 313-317.
86. **Herrera-Hernández, I. M., Armendáriz-Fernández, K. V., Muñoz-Márquez, E., Sida-Arreola, J. P., & Sánchez, E. (2018).** Characterization of bioactive compounds, mineral content and antioxidant capacity in bean varieties grown in semi-arid conditions in Zacatecas, Mexico. *Foods*, 7(12), 199.
87. **Hossain, A., Dave, D., & Shahidi, F. (2022).** Antioxidant potential of sea cucumbers and their beneficial effects on human health. *Marine Drugs*, 20(8), 521.
88. **Houde, R. L., Alli, I., & Kermasha, S. (1990).** Purification and characterization of canola seed (*Brassica* sp.) phytase. *Journal of Food Biochemistry*, 14(5), 331-351.
89. **Hu, Y., Shim, Y. Y., & Reaney, M. J. (2020).** Flaxseed gum solution functional properties. *Foods*, 9(5), 681.
90. **Imran, M., Ahmad, N., Anjum, F. M., Khan, M. K., Mushtaq, Z., Nadeem, M., & Hussain, S. (2015).** Potential protective properties of flax lignan secoisolariciresinol diglucoside. *Nutrition journal*, 14, 1-7.
91. **Islam, M. S., Parvin, M. S., & Islam, M. E. (2022).** The protective and antioxidant effects of *Hygrophila schulli* seeds on oxidative damage of DNA and RBC cellular membrane. *Heliyon*, 8(1).
92. **Jaiswal, N., & Jaiswal, P. (2024).** Thermostable α -Amylases and Laccases : Paving the Way for Sustainable Industrial Applications. *Processes*, 12(7), 1341.
93. **James, K. D. (2017).** Animal metabolites : from amphibians, reptiles, aves/birds, and invertebrates. In *Pharmacognosy* (pp. 401-411). Academic Press
94. **Jhala, A. J., & Hall, L. M. (2010).** Flax (*Linum usitatissimum* L.) : current uses and future applications. *Aust. J. Basic Appl. Sci*, 4(9), 4304-4312.
95. **Johnvesly, B., & Naik, G. R. (2001).** Studies on production of thermostable alkaline protease from thermophilic and alkaliphilic *Bacillus* sp. JB-99 in a chemically defined medium. *Process biochemistry*, 37(2), 139-144.

96. **Joudaki, H., Aria, N., Moravej, R., Rezaei Yazdi, M., Emami-Karvani, Z., & Hamblin, M. R. (2023).** Microbial phytases : properties and applications in the food industry. *Current microbiology*, 80(12), 374.
97. **Judge, A., & Dodd, M. S. (2020).** Metabolism. *Essays in Biochemistry*, 64(4), 607–647.
98. **Kabir, M. F., & Ju, L. K. (2023).** On optimization of enzymatic processes : temperature effects on activity and long-term deactivation kinetics. *Process Biochemistry*, 130, 734-746.
99. **Kaushik, P., Dowling, K., Adhikari, R., Barrow, C. J., & Adhikari, B. (2017).** Effect of extraction temperature on composition, structure and functional properties of flaxseed gum. *Food Chemistry*, 215, 333-340.
100. **Kedare, S. B., & Singh, R. P. (2011).** Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of food science and technology*, 48, 412-422.
101. **Kefeli, V. I., Kalevitch, M. V., & Borsari, B. (2003).** Phenolic cycle in plants and environment. *J. Cell Mol. Biol*, 2(1), 13-18.
102. **Khan, I., Khan, M. A., Shehzad, M. A., Ali, A., Mohammad, S., Ali, H., ... & Ahmad, P. (2020).** Micropropagation and production of health promoting lignans in *Linum usitatissimum*. *Plants*, 9(6), 728.
103. **Kim, Y. O., Kim, H. K., Bae, K. S., Yu, J. H., & Oh, T. K. (1998).** Purification and properties of a thermostable phytase from *Bacillus* sp. DS11. *Enzyme and microbial technology*, 22(1), 2-7.
104. **Kingsley, L. J., & Lill, M. A. (2015).** Substrate tunnels in enzymes : structure–function relationships and computational methodology. *Proteins : Structure, Function, and Bioinformatics*, 83(4), 599-611.
105. **Kitts, D. D., Yuan, Y. V., Wijewickreme, A. N., & Thompson, L. U. (1999).** Antioxidant activity of the flaxseed lignan secoisolariciresinol diglycoside and its mammalian lignan metabolites enterodiol and enterolactone. *Molecular and cellular biochemistry*, 202, 91-100.
106. **Koçer, O. (2023).** Usage areas, chemical contents, mineral and nutritional contents and biological activities of fennel. *International studies in science and mathematics*, 91.
107. **Kolawole, A. O., Ajele, J. O., & Sirdeshmukh, R. (2011).** Purification and characterization of alkaline-stable α -amylase in malted African finger millet (*Eleusine coracana*) seed.
108. **Ku, H. K., Lim, H. M., Oh, K. H., Yang, H. J., Jeong, J. S., & Kim, S. K. (2013).** Interpretation of protein quantitation using the Bradford assay : comparison with two calculation models. *Analytical biochemistry*, 434(1), 178-180.
109. **Kumar, C. G., & Takagi, H. (1999).** Microbial alkaline proteases: from a bioindustrial viewpoint. *Biotechnology advances*, 17(7), 561-594.

110. **Kumar, J., Pandey, A., & Singh, S. P. (2020).** An introduction to enzyme structure dynamics and enzyme catalysis. In *Biomass, Biofuels, Biochemicals* (pp. 3-10). Elsevier.
111. **Kupnik, K., Primožič, M., Kokol, V., Knez, Ž., & Leitgeb, M. (2023).** Enzymatic, antioxidant, and antimicrobial activities of bioactive compounds from avocado (*Persea americana* L.) seeds. *Plants*, 12(5), 1201.
112. **Lei, X. G., & Stahl, C. H. (2000).** Nutritional benefits of phytase and dietary determinants of its efficacy. *Journal of Applied Animal Research*, 17(1), 97-112.
113. **Lei, X. G., Weaver, J. D., Mullaney, E., Ullah, A. H., & Azain, M. J. (2013).** Phytase, a new life for an “old” enzyme. *Annu. Rev. Anim. Biosci.*, 1(1), 283-309.
114. **Leyva-López, N., Gutierrez-Grijalva, E. P., Ambriz-Perez, D. L., & Heredia, J. B. (2016).** Flavonoids as cytokine modulators : a possible therapy for inflammation-related diseases. *International journal of molecular sciences*, 17(6), 921.
115. **Liu, B. L., Rafiq, A., Tzeng, Y. M., & Rob, A. (1998).** The induction and characterization of phytase and beyond. *Enzyme and Microbial Technology*, 22(5), 415-424.
116. **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.
117. **Liu, Z. H., Wang, H. Y., Wang, X. E., Zhang, G. P., Chen, P. D., & Liu, D. J. (2006).** Genotypic and spike positional difference in grain phytase activity, phytate, inorganic phosphorus, iron, and zinc contents in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Cereal Science*, 44(2), 212-219.
118. **Luo, Y., & Song, Y. (2021).** Mechanism of antimicrobial peptides : antimicrobial, anti-inflammatory and antibiofilm activities. *International journal of molecular sciences*, 22(21), 11401.
119. **Ma, X., & Shan, A. (2002).** Effect of germination and heating on phytase activity in cereal seeds. *Asian-australasian journal of animal sciences*, 15(7), 1036-1039.
120. **Ma, X., & Shan, A. (2002).** Effect of germination and heating on phytase activity in cereal seeds. *Asian-australasian journal of animal sciences*, 15(7), 1036-1039.
121. **Mahawar, M. M., & Jaroli, D. P. (2006).** Animals and their products utilized as medicines by the inhabitants surrounding the Ranthambhore National Park, India. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 2, 1-5.
122. **Maleki, S. J., Crespo, J. F., & Cabanillas, B. (2019).** Anti-inflammatory effects of flavonoids. *Food chemistry*, 299, 125124.
123. **Massion, P., Preiser, J. C., & Balligand, J. L. (2002).** Les espèces réactives de l'azote : bénéfiques ou délétères ?. *Nutrition clinique et métabolisme*, 16(4), 248-252.

124. **Matés, J. M., Pérez-Gómez, C., & De Castro, I. N. (1999).** Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical biochemistry*, 32(8), 595-603.
125. **McDonald, A. G., & Tipton, K. F. (2023).** Enzyme nomenclature and classification : the state of the art. *The FEBS journal*, 290(9), 2214-2231.
126. **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.
127. **Meinguet, C., & Wouters, J. (2015).** Les dérivés de l'harmine, nouvelles molécules aux propriétés anti cancéreuse : De la conception aux études in vivo. *Chimie Nouvelle*, 120, 26-30.
128. **Meng, D., Zhang, P., Zhang, L., Wang, H., Ho, C. T., Li, S., ... & Zhao, H. (2017).** Detection of cellular redox reactions and antioxidant activity assays. *Journal of Functional Foods*, 37, 467-477.
129. **Patel, J. (2021).** The Chemistry Influx (Vol.2). SSR College of Arts, Commerce and Science.
129. **Migdal, C., & Serres, M. (2011).** Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *Médecine/sciences*, 27(4), 405-412.
130. **Moghaddam, A. H., Nabavi, S. M., Nabavi, S. F., Bigdellou, R. A. T. A., Mohammadzadeh, S., & Ebrahimzadeh, M. A. (2012).** Antioxidant, antihemolytic and nephroprotective activity of aqueous extract of *Diospyros lotus* seeds. *Acta Pol Pharm*, 69(4), 687-692.
131. **Molyneux, P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakaraj. sci. Technol*, 26(2), 211-219.
132. **Mueed, A., Shibli, S., Korma, S. A., Madjirebaye, P., Esatbeyoglu, T., & Deng, Z. (2022).** Flaxseed bioactive compounds : Chemical composition, functional properties, food applications and health benefits-related gut microbes. *Foods*, 11(20), 3307.
133. **Nabubuya, A., Namutebi, A., Byaruhanga, Y., Narvhus, J., Stenstrøm, Y., & Wicklund, T. (2012).** Amylolytic activity in selected sweetpotato (*Ipomoea batatas* Lam) varieties during development and in storage. *Food and Nutrition Sciences*, 3(5), 660-668.
134. **Nandi, A., Yan, L. J., Jana, C. K., & Das, N. (2019).** Role of catalase in oxidative stress-and age-associated degenerative diseases. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2019(1), 9613090.
135. **Nandish, S. K. M., Kengaiyah, J., Ramachandraiah, C., Chandramma, Shivaiah, A., Santhosh, S. M., ... & Sannaningaiah, D. (2020).** Flaxseed cysteine protease exhibits strong anticoagulant, antiplatelet, and clot-dissolving properties. *Biochemistry (Moscow)*, 85, 1113-1126.
136. **Nasri, N., Kaddour, R., Rabhi, M., Plassard, C., & Lachaal, M. (2011).** Effect of salinity on germination, phytase activity and phytate content in lettuce seedling. *Acta physiologiae plantarum*, 33, 935-942.

137. **Nassiri, M., & Ariannejad, H. (2015).** Comparative analysis of peripheral alkaline phytase protein structures expressed in E. coli. *Reports of Biochemistry & Molecular Biology*, 4(1), 10.
138. **Newman, D. J., & Cragg, G. M. (2012).** Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. *Journal of natural products*, 75(3), 311-335.
139. **Ng, C. F., Schafer, F. Q., Buettner, G. R., & Rodgers, V. G. J. (2007).** The rate of cellular hydrogen peroxide removal shows dependency on GSH : mathematical insight into in vivo H₂O₂ and GPx concentrations. *Free radical research*, 41(11), 1201-1211.
140. **Nigam, P. S. (2013).** Microbial enzymes with special characteristics for biotechnological applications. *Biomolecules*, 3(3), 597-611.
141. **Nimse, S. B., & Pal, D. (2015).** Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC advances*, 5(35), 27986-28006.
142. **Ogori, A. F., & Taofeek, A. (2021).** Starch source, modification and food application. *Research Journal of Food Science and Nutrition*, 7(4), 85-91.
143. **Okudoh, V. I., & Wallis, F. M. (2007).** Antimicrobial activity of rare actinomycetes isolated from natural habitats in KwaZulu-Natal, South Africa. *South African journal of science*, 103(5-6), 216-222.
144. **Ou, K., Cheng, Y., Xing, Y., Lin, L., Nout, R., & Liang, J. (2011).** Phytase activity in brown rice during steeping and sprouting. *Journal of food science and technology*, 48, 598-603.
145. **Panda, S. K. (2012).** Assay guided comparison for enzymatic and non-enzymatic antioxidant activities with special reference to medicinal plants. *Antioxidant enzyme*, 14(1), 382-400.
146. **Pang, Y., Ahmed, S., Xu, Y., Beta, T., Zhu, Z., Shao, Y., & Bao, J. (2018).** Bound phenolic compounds and antioxidant properties of whole grain and bran of white, red and black rice. *Food chemistry*, 240, 212-221.
147. **Park, C., & Raines, R. T. (2001).** Quantitative analysis of the effect of salt concentration on enzymatic catalysis. *Journal of the American Chemical Society*, 123(46), 11472-11479.
148. **Patel, J. (2021, July).** The Chemistry Influx (Vol. 2). SSR College of Arts, Commerce and Science.
149. **Peers, F. G. (1953).** The phytase of wheat. *Biochemical Journal*, 53(1), 102.
150. **Pennycooke, J. C., Cox, S., & Stushnoff, C. (2005).** Relationship of cold acclimation, total phenolic content and antioxidant capacity with chilling tolerance in petunia (*Petunia× hybrida*). *Environmental and Experimental Botany*, 53(2), 225-232.
151. **Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., & Defraigne, J. O. (2002).** Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition clinique et métabolisme*, 16(4), 233-239.

152. **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.
153. **Posoongnoen, S., & Thummavongsa, T. (2020).** Purification and characterization of thermostable α -amylase from germinating Sword bean (*Canavalia gladiata* (Jacq.) DC.) seeds. *Plant Biotechnology*, 37(1), 31-38.
154. **Prabha, S., Yadav, A., Yadav, H. K., Kumar, S., & Kumar, R. (2017).** Importance of molecular marker in linseed (*Linum usitatissimum*) genome analysis–A review. *Crop Research*, 52(1to3), 61-66.
155. **Puligundla, P., & Lim, S. (2022).** A review of extraction techniques and food applications of flaxseed mucilage. *Foods*, 11(12), 1677.
156. **Radha, R., & Gummadi, S. N. (2019).** pH-dependent thermal stability of *Vibrio Cholerae* L-Asparaginase. *Protein and Peptide Letters*, 26(10), 743-750
157. **Robinson, P. K. (2015).** Enzymes: principles and biotechnological applications. *Essays in biochemistry*, 59, 1.
158. **Sahgal, G., Ramanathan, S., Sasidharan, S., Mordi, M. N., Ismail, S., & Mansor, S. M. (2009).** In vitro antioxidant and xanthine oxidase inhibitory activities of methanolic *Swietenia mahagoni* seed extracts. *Molecules*, 14(11), 4476-4485.
159. **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.
160. **Saleem, M. H., Ali, S., Hussain, S., Kamran, M., Chattha, M. S., Ahmad, S., ... & Abdel-Daim, M. M. (2020).** Flax (*Linum usitatissimum* L.): A potential candidate for phytoremediation? Biological and economical points of view. *Plants*, 9(4), 496.
161. **Santos-Sánchez, N. F., Salas-Coronado, R., Villanueva-Cañongo, C., & Hernández-Carlos, B. (2019).** Antioxidant compounds and their antioxidant mechanism. *IntechOpen*.
162. **Saxena, R. K., Dutt, K., Agarwal, L., & Nayyar, P. (2007).** A highly thermostable and alkaline amylase from a *Bacillus* sp. PN5. *Bioresource Technology*, 98(2), 260-265.
163. **Scandalios, J. G. (1993).** Oxygen stress and superoxide dismutases. *Plant physiology*, 101(1), 7.
164. **Schieber, M., & Chandel, N. S. (2014).** ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Current biology*, 24(10), R453-R462.
165. **Schmidt, T. J., Klaes, M., & Sendker, J. (2012).** Lignans in seeds of *Linum* species. *Phytochemistry*, 82, 89-99.
166. **Shah, S. A. A., Akhter, N., Auckloo, B. N., Khan, I., Lu, Y., Wang, K., ... & Guo, Y. W. (2017).** Structural diversity, biological properties and applications of natural products from cyanobacteria. A review. *Marine drugs*, 15(11), 354.

167. **Shimotohno, A., Oue, S., Yano, T., Kuramitsu, S., & Kagamiyama, H. (2001).** Demonstration of the importance and usefulness of manipulating non-active-site residues in protein design. *The journal of biochemistry*, 129(6), 943-948.
168. **Siddiqui, Z. S., & Khan, M. A. (2011).** The role of enzyme amylase in two germinating seed morphs of *Halopyrum mucronatum* (L.) Stapf. In saline and non-saline environment. *Acta Physiologiae Plantarum*, 33, 1185-1197.
169. **Silva, L. G., & Trugo, L. C. (1996).** Characterization of phytase activity in lupin seed. *Journal of Food Biochemistry*, 20(2), 329-340.
170. **Silva, N. C. C., & Fernandes Júnior, A. J. J. O. V. A. (2010).** Biological properties of medicinal plants : a review of their antimicrobial activity. *Journal of venomous animals and toxins including tropical diseases*, 16, 402-413.
171. **Sindhu, R., Binod, P., Madhavan, A., Beevi, U. S., Mathew, A. K., Abraham, A., ... & Kumar, V. (2017).** RETRACTED : Molecular improvements in microbial α -amylases for enhanced stability and catalytic efficiency. *Bioresource technology*, 245, 1740-1748.
172. **Singh, A. K. (2021, April).** Enzyme : General properties and classification. SMM Town PG College, Ballia (Affiliated to Jananayak Chandrashekhar University).
173. **Singh, A. R., Joshi, S., Arya, R., Kayastha, A. M., & Saxena, J. K. (2010).** Guanidine hydrochloride and urea-induced unfolding of *Brugia malayi* hexokinase. *European Biophysics Journal*, 39, 289-297.
174. **Singh, G., Passsari, A. K., Leo, V. V., Mishra, V. K., Subbarayan, S., Singh, B. P., ... & Nachimuthu, S. K. (2016).** Evaluation of phenolic content variability along with antioxidant, antimicrobial, and cytotoxic potential of selected traditional medicinal plants from India. *Frontiers in Plant Science*, 7, 407.
175. **Singh, K., & Kayastha, A. M. (2014).** A-Amylase from wheat (*Triticum aestivum*) seeds : its purification, biochemical attributes and active site studies. *Food chemistry*, 162, 1-9.
176. **Singh, R., Kumar, M., Mittal, A., & Mehta, P. K. (2017).** Microbial metabolites in nutrition, healthcare and agriculture. *3 Biotech*, 7, 1-14.
177. **Sirivibulkovit, K., Nouanthavong, S., & Sameenoi, Y. (2018).** Based DPPH assay for antioxidant activity analysis. *Analytical sciences*, 34(7), 795-800.
178. **Souza, P. M. D. (2010).** Application of microbial α -amylase in industry-A review. *Brazilian journal of microbiology*, 41, 850-861.
179. **Sundd, M., Kundu, S., & Jagannadham, M. V. (2002).** Acid and chemical induced conformational changes of ervatamin B. Presence of partially structured multiple intermediates. *BMB Reports*, 35(2), 143-154.

180. **Sung, H. G., Shin, H. T., Ha, J. K., Lai, H. L., Cheng, K. J., & Lee, J. H. (2005).** Effect of germination temperature on characteristics of phytase production from barley. *Bioresource Technology*, 96(11), 1297-1303.
181. **Syu, M. J., & Chen, Y. H. (1997).** A study on the α -amylase fermentation performed by *Bacillus amyloliquefaciens*. *Chemical Engineering Journal*, 65(3), 237247.
182. **Tahrani et Moosavi-Movahedi ,2018 :Tehrani, H. S., & Moosavi-Movahedi, A. A. (2018).** Catalase and its mysteries. *Progress in biophysics and molecular biology*, 140, 5-12.
183. **Talbi, H., Boumaza, A., El-Mostafa, K., Talbi, J., & Hilali, A. (2015).** Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. *Journal of Materials and Environmental Science*, 6(4), 1111-1117.
184. **Tanideh, R., Delavari, S., Farshad, O., Irajie, C., Javad Yavari Barhaghtalab, M., Koohepeyma, F., ... & Irajie, A. (2021).** Effect of flaxseed oil on biochemical parameters, hormonal indexes and stereological changes in ovariectomized rats. *Veterinary Medicine and Science*, 7(2), 521-533.
185. **Tao, Z., Dong, B., Teng, Z., & Zhao, Y. (2020).** The classification of enzymes by deep learning. *Ieee Access*, 8, 89802-89811.
186. **Taubner, T., Skřivan, M., Englmaierová, M., & Malá, L. (2023).** Effects of hemp seed and flaxseed on enzyme activity in the broiler chicken digestive tract. *Animal*, 17(4), 100765.
187. **Vaou, N., Stavropoulou, E., Voidarou, C., Tsigalou, C., & Bezirtzoglou, E. (2021).** Towards advances in medicinal plant antimicrobial activity : A review study on challenges and future perspectives. *Microorganisms*, 9(10), 2041.
188. **Vitolo, M. (2021).** Decomposition of hydrogen peroxide by catalase. *World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*, 10(8 p. 47-56).
189. **Vo, T. H. L., Chau, Q. C., & Nguyen, H. N. (2025).** Development of a *Pichia pastoris* strain for secretory production of recombinant alkaline phytase. *Vietnam Journal of Biotechnology*, 23(1), 89-104.
190. **Wang, X. Y., Meng, F. G., & Zhou, H. M. (2004).** Unfolding and inactivation during thermal denaturation of an enzyme that exhibits phytase and acid phosphatase activities. *The international journal of biochemistry & cell biology*, (3), 447-459.
191. **Wang, X. Y., Meng, F. G., & Zhou, H. M. (2004).** Unfolding and inactivation during thermal denaturation of an enzyme that exhibits phytase and acid phosphatase activities. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 36(3), 447-459.
192. **Wink, M. (2015).** Modes of action of herbal medicines and plant secondary metabolites. *Medicines*, 2(3), 251-286.

193. **Xu, B. J., & Chang, S. K. (2007).** A comparative study on phenolic profiles and antioxidant activities of legumes as affected by extraction solvents. *Journal of food science*, 72(2), S159-S166.
194. **Xu, D. P., Li, Y., Meng, X., Zhou, T., Zhou, Y., Zheng, J., ... & Li, H. B. (2017).** Natural antioxidants in foods and medicinal plants : Extraction, assessment and resources. *International journal of molecular sciences*, 18(1), 96.
195. **Yadav J. K. (2012).** A differential behavior of α -amylase, in terms of catalytic activity and thermal stability, in response to higher concentration CaCl_2 . *International journal of biological macromolecules*, 51(1-2), 146–152.
196. **Yadav, J. K., & Prakash, V. (2011).** Stabilization of α -amylase, the key enzyme in carbohydrates properties alterations, at low pH. *International Journal of Food Properties*, 14(6), 1182-1196.
197. **Yadav, J. K., & Prakash, V. (2011).** Stabilization of α -amylase, the key enzyme in carbohydrates properties alterations, at low pH. *International Journal of Food Properties*, 14(6), 1182-1196.
198. **Youssef, F. S., Ashour, M. L., Singab, A. N. B., & Wink, M. (2019).** A comprehensive review of bioactive peptides from marine fungi and their biological significance. *Marine drugs*, 17(10), 559.
199. **YÜCEBİLGİÇ, G., & Bozdemir, Y. (2010).** Catalase and superoxide dismutase enzymes activities in flaxseed (*linum usitatissimum*) extract. *Asian Journal of Chemistry*, 22(3).
200. **Yusuf, L., Girsang, E., Nasution, A., Elvira, C., Wibowo, S., & Widowati, W. (2021).** H_2O_2 -Scavenging Activity and Hyaluronidase Inhibition Scutellarin and Apigenin in Basil Leaf Extract. , 31, 133-138.
Zhang, Y., Li, J., Lu, F., Wang, S., Ren, Y., Guo, S., ... & Gao, W. (2024). The Enzyme Activity of Dual-Domain β -Propeller Alkaline Phytase as a Potential Factor in Improving Soil Phosphorus Fertility and *Triticum aestivum* Growth. *Agronomy*, 14(3), 614.
201. **Zimmerman, D. C., & Vick, B. A. (1970).** Hydroperoxide isomerase : a new enzyme of lipid metabolism. *Plant Physiology*, 46(3), 445-453

Résumé

Les propriétés biologiques, en particulier les activités antioxydantes et activités enzymatiques, suscitent un intérêt croissant en santé, nutrition et industrielle. Ces propriétés biologiques sont présentes chez les différents organismes vivants et en particulier chez les plantes. Dans cette étude, les activités antioxydantes (catalasique et anti-radicalaire DPPH) et enzymatiques (amylasique et phytasique) ont été évaluées dans les solutions de graines de *Linum usitatissimum*, préparées à température ambiante et à 50 °C. L'activité catalasique a été détectée avec un IC₅₀ de 1,1059 mg/mL dans la solution préparée à température ambiante et un 0,7965 mg/mL pour celle préparée à 50 °C. Pour le test de piégeage du DPPH, des IC₅₀ de 1,5251 mg/mL et 1,0988 mg/mL ont été trouvés respectivement pour les 2 solutions. Sur le plan enzymatique, les solutions ont montré des activités amylasique et phytasique dépendant des conditions de température de préparation. L'activité amylasique atteint une capacité à dégrader l'amidon de 9,18 µM/mg pour la solution préparée à température ambiante et de 25,76 µM/mg pour celle préparée à 50°C, avec des pH optimaux de 9 et 5 respectivement. Les températures optimales sont de 50 °C pour la solution préparée à température ambiante et de 20, 25 et 40 °C pour celle préparée à 50 °C. Ces amylases montrent une bonne stabilité thermique et une stabilité en milieu acide, alcalin et salin. En revanche, l'activité phytasique (libération de Pi) est plus élevée dans la solution préparée à température ambiante (0,59 mM/mg) que dans celle préparée à 50°C (0,31 mM/mg). Leurs pH optimaux sont de 5 et 7, et les températures optimales sont de 30 °C et 50°C, respectivement. Contrairement aux amylases, les phytases sont peu stables en conditions thermiques et acides, mais modérément stables en milieu alcalin et salin.

Mots-clés : graines de *Linum usitatissimum*, activités antioxydantes, activités enzymatiques, activité catalasique, piégeage du DPPH, activité amylasique, activité phytasique.

Abstract

Biological properties, particularly antioxidant and enzymatic activities, are generating increasing interest in health, nutrition, and industry. These biological properties are found in various living organisms, especially in plants. In this study, antioxidant activities (catalase and DPPH radical scavenging) and enzymatic activities (amylase and phytase) were evaluated in flaxseed (*Linum usitatissimum*) solutions prepared at room temperature and at 50 °C. Catalase activity was detected with an IC₅₀ of 1,1059 mg/mL in the solution prepared at room temperature and 0,7965 mg/mL in the one prepared at 50 °C. For the DPPH scavenging assay, IC₅₀ values of 1,5251 mg/mL and 1,0988 mg/mL were found for the two solutions, respectively. Regarding enzymatic activity, the solutions showed amylase and phytase activities depending on the preparation temperature. Amylase activity reached a starch-degrading capacity of 9.18 µM/mg at room temperature and 25,76 µM/mg at 50 °C, with optimal pH values of 9 and 5, respectively. Optimal temperatures were 50 °C for the room temperature solution and 20, 25 and 40 °C for the solution prepared at 50 °C. These amylases demonstrated good thermal stability and stability in acidic, alkaline, and saline environments. In contrast, phytase activity (Pi release) was higher in the room temperature solution (0,59 mM/mg) than in the one prepared at 50 °C (0,31 mM/mg). Their optimal pH values were 5 and 7, and optimal temperatures were 30 °C and 50 °C, respectively. Unlike amylases, phytases were less stable under thermal and acidic conditions, but moderately stable in alkaline and saline environments.

Keywords: flaxseed (*Linum usitatissimum*), antioxidant activities, enzymatic activities, catalase activity, DPPH scavenging, amylase activity, phytase activity.

ملخص :

الخصائص البيولوجية، وخاصة الأنشطة المضادة للأكسدة والأنشطة الإنزيمية، تحظى باهتمام متزايد في مجالات الصحة والتغذية والصناعة. توجد هذه الخصائص البيولوجية في مختلف الكائنات الحية، لا سيما في النباتات. في هذه الدراسة، تم تقييم الأنشطة المضادة للأكسدة نشاط الكاتالاز وقدرته على اصطياد جذر (DPPH) و الأنشطة الإنزيمية (الأميلاز والفييتاز) في محاليل بذور الكتان (*Linum usitatissimum*) في درجة حرارة الغرفة وعند 50 درجة مئوية. تم الكشف عن نشاط الكاتالاز بقيمة IC₅₀ تساوي 1,1059 ملغم/مل في المحلول المحضر بدرجة حرارة الغرفة و 0,795 ملغم/مل في المحلول المحضر عند 50 درجة مئوية. أما في اختبار اصطياد DPPH، فقد تم العثور على قيم IC₅₀ تبلغ 1,5251 ملغم/مل و 1,0988 ملغم/مل لكل من المحلولين على التوالي. فيما يخص النشاط الإنزيمي، أظهرت المحاليل نشاطاً إنزيمياً للأميلاز والفييتاز اعتماداً على درجة حرارة التحضير. بلغ نشاط الأميلاز في تحلل النشا 9,18 ميكرومول/ملغم في المحلول المحضر عند درجة حرارة الغرفة و 25,76 ميكرومول/ملغم في المحلول المحضر عند 50 درجة مئوية، مع قيم pH مثلي تساوي 9 و 5 على التوالي. أما درجات الحرارة المثلى فكانت 50 درجة مئوية للمحلول المحضر بدرجة حرارة الغرفة و 20، 25 و 40 درجة مئوية للمحلول المسخن. أظهرت هذه الأميلازات ثباتاً حرارياً جيداً واستقراراً في البيئات الحمضية والقاعدية والمالحة.

في المقابل، كان نشاط الفييتاز (تحرير Pi) أعلى في المحلول المحضر بدرجة حرارة الغرفة (0,59 ملليمول/ملغم) مقارنة بالمحلول المحضر عند 50 درجة مئوية (0,31 ملليمول/ملغم). كانت قيم pH المثلى 5 و 7، ودرجات الحرارة المثلى 30 و 50 درجة مئوية على التوالي. وعلى عكس الأميلاز، كانت الفييتازات ضعيفة الثبات في الظروف الحرارية والحمضية، لكنها متوسطة الثبات في البيئات القاعدية والمالحة.

الكلمات المفتاحية: بذور الكتان (*Linum usitatissimum*)، أنشطة مضادة للأكسدة، أنشطة إنزيمية، نشاط الكاتالاز، اصطياد DPPH، نشاط الأميلاز، نشاط الفييتاز