



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université ABOU BAKR BELKAID Tlemcen  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Et Sciences de la Terre et de l'Univers



## DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

*Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et  
à l'environnement*  
« LAMAABE »

# MEMOIRE

Présenté par

**BELHADJI Latreche Abdeldjebbar et HAMEL Abdelkader**

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie  
Option : Microbiologie Fondamentale

## Thème

Evaluation de l'activité antimicrobienne des huiles de graine de *Linium Usitatissimum*

Soutenu le 19/06/2022, devant le jury composé de

Président	LEMERINI Wafaa	MCB	Université Tlemcen
Encadrant	MKEDDER Ilham	MCA	Université Tlemcen
Examinatrice	KHOLKHAL Wahiba	MCB	Université Tlemcen

Année universitaire 2021-2022

## ***Remerciements***

Avant tous nous remercions **Dieu, Allah tout puissant** de nous avoir donné la force, le courage et la volonté pour la réalisation de ce modeste travail.

Nous sommes fiers d'exprimer nos vives remerciement et notre gratitude à nos parents qui, de par leur soutien, leur présence, leur prière, nous avons atteint ce niveau, que dieu vous protège et vous garde, vous accorde santé, bonheur et longue vie.

Nous tenons d'abord à remercier très chaleureusement, et exprimer nos sincères et hautes considérations et nos profonds respects à Madame **Ilham MKEDDER** pour son encadrement, son orientation, ses conseils et ses efforts très louables dans le suivi et la réalisation de ce travail.

Nous désirons remercier profondément les enseignantes **LEMERINI Wafaa Et KHOLKHAL Wahiba** Pour leurs précieux conseils, leurs disponibilités, et leurs gentilleses.

Madame **LEMERINI Wafaa** Maître de Conférences A pour l'honneur qu'elle nous fait pour présider le jury de ce mémoire. Veuillez trouver ici nos sincères remerciements

Madame **KHOLKHAL Wahiba** Maître de Conférences B, Université de Tlemcen, d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

Un grand merci pour tous les professeurs du département de biologie particulièrement, les microbiologistes, merci de nous avoir orientés et informé durant notre parcours universitaire.

# *Dédicaces*

**Je dédie ce mémoire**

**A tous les plus proches de mon cœur Source de vie, de bonheur, d'amour et d'affection**

*Je dédie ce mémoire*

A

*L'âme de mon cher père **Hamel Rachid***

*Ma chère mère **Kacimi Bahia***

*Source de vie, de bonheur, d'amour et d'affection*

***Ma chère soeur Hamel Chaimaa***

*Veillez trouver dans ce modeste travail un témoignage de mon amour et toute ma gratitude, de mon affection la plus sincère et de mon attachement le plus profond. Je vous souhaite une belle vie.*

*Je vous remercie pour votre soutien et tous vos conseils*

***Mes précieuses amies, surtout Malki Amine***

*Je n'oublierai jamais nos moments de joie et de folies passés ensemble*

*Merci d'être toujours à mes côtés*

*Merci pour vos conseils et votre soutien durant les moments difficiles.*

*Je tiens de remercier le membre de laboratoire qui ont m'aidé pendant le stage que j'ai fait aux niveaux de polyclinique de nedroma surtout*

***Nasri Rachid et Kaddour Zakaria, Daoudi Abdelmalek, Sabienne Naima, Mabtoul Fatima, Benaamara Nadjet** et sans oublier bien sur **Laanabi Amel.***

***Mon binôme Latrech abdeldjebbar,***

*Avec vous, nous avons pu surmonter tous les problèmes, merci pour les grands moments que nous avons vécu ensemble, pour tous les efforts, je vous remercie pour votre patience et l'endurance de mes critiques. Merci pour la seconde où nous avons travaillé ensemble. Vous êtes le meilleur ami que j'ai eu l'honneur de connaître, de près, vous et votre famille. Je vous souhaite un bel avenir. Ainsi Toutes les personnes très chères à mon cœur.*

*Je dédie ce travail à mes parents. Plus particulièrement à mon père **BLEHADJI AHMED** dans le soutien dont j'ai bénéficié au cours de mes études*

*A ma Chère mère **FILALLI MEBARKA**, Votre soutien moral a été d'un apport inestimable dans la réussite de mes études.*

*A madame, **ILHAM MKADDER**, professeur d'encadrement, je présente mes vifs sentiments de respect et de gratitude, pour le suivi dans la finalisation de mon mémoire de fin d'étude.*

*A ma famille, surtout ma chère sœur **BELHADJI ANFEL SOUNDOUS** que je souhaite de tout cœur une réussite dans ses études supérieure*

*Sans oublier mes amis et plus particulièrement mon binôme **HAMEL ABDELKADER**, et ceux qui ont partagé tous les moments de soutien au cours de ce travail. Et leur engagement indéfectible. Pour la finalisation de ce travail.*

## Table des matières

<b>Introduction .....</b>	<b>(1)</b>
<b>Première partie : synthèse bibliographie.....</b>	<b>(2)</b>
<b>Chapitre 01 : Activité antibactérienne.....</b>	<b>(3)</b>
1. Quelques bactéries responsables de la pathogénicité.....	(4)
1.1 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	(4)
1.2 <i>Escherichia coli</i> .....	(4)
1.3 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	(5)
1.4 <i>Bacillus cereus</i> .....	(5)
2. La lutte contre les infections bactériennes.....	(6)
<b>Chapitre 02 : Présentation de la plante étudiée <i>Linum Usitatissimum</i> (le lin)....</b>	<b>(7)</b>
1. Description générale .....	(8)
2. Systématique.....	(8)
3. Description botanique.....	(9)
4. La graine.....	(10)
4.1. Morphologie et microstructure.....	(10)
4.2. Composition chimique de graines de lin.....	(10)
5. Huile de Lin.....	(11)
5.1. Composition et caractéristiques d'huile de lin .....	(11)
6. Domaine d'utilisation .....	(12)
6.1. Utilisation industrielle.....	(13)
6.2. Utilisation thérapeutique.....	(14)
7. Activités antimicrobiennes des graines de lin.....	(15)
<b>Chapitre 03 : Substances végétales Bioactives : métabolites secondaires.....</b>	<b>(17)</b>
1. les composés phénoliques.....	(18)
2. Polyphénols.....	(18)
3. Les acides phénoliques.....	(19)
3.1.Acide hydroxybenzoïque.....	(19)
3.2.Acides hydroxycinnamique.....	(19)
3.3.Quinones.....	(20)
3.4.Tannins.....	(21)
3.5.Coumarines.....	(21)
3.6.Lignanes.....	(21)
3.7.Flavonoïdes.....	(22)
3.8.Stilbène.....	(23)
3.9.Anthocyanes.....	(23)
4. Alcaloïdes.....	(23)
5. Huiles essentielles et composés terpéniques.....	(24)

<b>5.1. Huiles essentielles</b> .....	<b>(24)</b>
<b>5.2. Composés terpéniques</b> .....	<b>(24)</b>
<b>6. Les huiles fixes</b> .....	<b>(24)</b>
<b>7. Mucilages</b> .....	<b>(24)</b>
<b>Deuxièmes parties : Expérimentales</b> .....	<b>(25)</b>
<b>1. Préparation des extraits</b> .....	<b>(26)</b>
<b>2. Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC)</b> .....	<b>(28)</b>
<b>3. Les microorganismes utilisés</b> .....	<b>(28)</b>
<b>4. Préparation de suspension bactérienne</b> .....	<b>(28)</b>
<b>5. Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles de lin</b> .....	<b>(28)</b>
<b>Troisième partie : résultat et discussion</b> .....	<b>(30)</b>
<b>Conclusion</b> .....	<b>(36)</b>
<b>Référence bibliographique</b> .....	<b>(38)</b>
<b>Annexes</b> .....	<b>(48)</b>

## Liste de figure

<b>Figure 01</b>	Fleur de lin (a), capsules à maturité (b) et leur contenu en graines (c)	<b>(09)</b>
<b>Figure 02</b>	La couleur de l'enveloppe de la graine de lin peut varier du jaune vif à olive en passant par le brun foncé et peut même inclure des panachées.	<b>(10)</b>
<b>Figure 03</b>	Diagramme de l'utilisation du lin	<b>(13)</b>
<b>Figure 04</b>	Structure chimique de coumarine	<b>(21)</b>
<b>Figure 05</b>	Squelette de base des flavonoïdes	<b>(22)</b>
<b>Figure 06</b>	Structure chimique d'anthocyanidine	<b>(23)</b>
<b>Figure 07</b>	Montage de Soxhlet	<b>(27)</b>
<b>Figure 08</b>	Effet inhibiteur de l'huile de lin sur les isolats bactériens. Le diamètre du puits est de 6 mm, c'est-à-dire qu'il n'y a pas de zone d'inhibition.	<b>(33)</b>
<b>Figure 09</b>	Activité antibactérienne des huiles de graines étudiées (CMI)	<b>(34)</b>
<b>Figure 10</b>	la structure Chimique de secoisolariciresinol diglucoside, (+) SDG, (-) SDG	<b>(35)</b>

## Liste de tableaux

<b>Tableau 01</b>	Composantes fonctionnelles des graines de lin	<b>(12)</b>
<b>Tableau 02</b>	Composition en acides gras de l'huile de lin	<b>(15)</b>
<b>Tableau 03</b>	Activités antimicrobiennes de lin	<b>(16)</b>
<b>Tableau 04</b>	Principaux acides hydroxybenzoïques	<b>(19)</b>
<b>Tableau 05</b>	Principaux acides hydroxycinnamiques	<b>(20)</b>
<b>Tableau 06</b>	les articles étudiés	<b>(26)</b>
<b>Tableau 07</b>	les bactéries utilisées	<b>(28)</b>

## المخلص

الاستخدام المفرط للمضادات الحيوية والأدوية هو العامل الرئيسي الذي يؤدي إلى ظهور أنواع مختلفة من الكائنات الحية الدقيقة المقاومة للأدوية والآثار الضارة. لذلك، تؤدي هذه الظواهر إلى زيادة شدة المرض، الأمر الذي يتطلب إيجاد حلول لهذه المشاكل.

الكتان هو واحد من النباتات المستخدمة لعلاج العديد من الأمراض بسبب ثرائه في الجزيئات النشطة بيولوجيا.

تهدف المقالات التي تمت دراستها إلى تقييم النشاط المضاد للميكروبات لزيوت بذور الكتان ( *Linum usitatissimum*). تظهر نتائج النشاط المضاد للبكتيريا الذي تم إجراؤه أن الزيوت المستخرجة من بذور الكتان لها قوة مثبطة مقابل البكتيريا التي تم اختبارها، ويتم الحصول على أفضل النتائج باستخدام *E.coli* و *S.aureus*.

كلا العملين عبارة عن دراسات أولية تهدف إلى إيجاد بدائل للمضادات الحيوية التي يمكن إعطاؤها بجرعات أقل، وبالتالي تقليل الآثار الجانبية مع الحفاظ على فعالية مضادات الميكروبات.

**الكلمات المفتاحية:** نباتات طبية، *Linum usitatissimum* ، نشاط مضاد للجراثيم

## Résumé

L'utilisation excessive d'antibiotiques et de médicaments sont le principal facteur conduisant à l'émergence de différents types de micro-organismes résistants aux médicaments et d'effets indésirables. Par conséquent, ces phénomènes entraînent une augmentation de la gravité de la maladie, ce qui nécessite de trouver des solutions à ces problèmes.

Le lin fait partie des plantes utilisées pour traiter de nombreuses maladies en raison de sa richesse en molécules bioactives.

Les articles étudiés ont pour but d'évaluer l'activité antimicrobienne des huiles de la graine de lin (*Linum usitatissimum*). Les résultats de l'activité antibactérienne menée montrent que les huiles extraits de graines de lin ont un pouvoir inhibiteur vis-à-vis des bactéries testées, et les meilleurs résultats sont obtenus avec *E.coli* et *S.aureus*.

Les deux travaux sont des études préliminaires visant à trouver des alternatives aux antibiotiques qui peuvent être administrées à des doses plus faibles, minimisant ainsi les effets secondaires tout en maintenant la puissance antimicrobienne.

**Mots clés :** plantes médicinales, *Linum usitatissimum*, activité antibactérienne.

## Summary

Excessive use of antibiotics and medicines is the main factor that leads to the emergence of different types of drug-resistant microorganisms and adverse effects. These phenomena therefore increase the severity of the disease, which requires solutions to these problems.

Linen is one of the plants used to treat many diseases due to its richness in biologically active molecules.

The articles studied aim to assess the antimicrobial activity of *linum usitatissimum*. Results of antibacterial activity conducted show that oils extracted from flaxseed have inhibitory strength against tested bacteria, and the best results are obtained using *E.coli* and *S.aureus*

Both work are preliminary studies aimed at finding alternatives to antibiotics that can be given at lower doses, thereby reducing side effects while maintaining the effectiveness of antimicrobials.

Keywords: medicinal plants, *linum usitatissimum*, antibacterial activity



## Introduction

Les plantes médicinales sont des organismes vivants qui existent depuis l'Antiquité. Elle constitue un maillon très important et fondamental dans le cycle de vie biologique d'autres organismes, comme les animaux comme les humains, qui utilisent les vertus des plantes dans leur alimentation, leurs cosmétiques et la médecine dite traditionnelle **(Madi, 2010)**.

Aujourd'hui, les plantes médicinales ont une place dans notre quotidien. Ces plantes ont toujours joué un rôle important dans la médecine, les ingrédients de parfumerie et les préparations culinaires. Son efficacité et sa sécurité ont été étudiées et intensivement étudiées. En Afrique, jusqu'à 80% de la population utilise des plantes médicinales pour leurs soins infirmiers et leurs soins primaires. Les plantes sont un grand réservoir de substances biochimiques comme les mucilages, les huiles essentielles et les métabolites secondaires. **(OMS, 2003)**.

Les graines de lin et l'huile de lin sont redécouvertes comme de véritables aliments indispensables pour la santé. Le lin n'est pas un nouvel aliment, Il est en fait un des plus anciens et peut-être, un des aliments originaux «précieux en raison de ses propriétés de1 Chapitre I Synthèse bibliographique 6 guérison », c'est une plante millénaire aux vertus médicinales **(Halligudi, 2012)**. Ils sont utilisés pour divers usage **(Laiq Khan et al., 2010)**

Suite aux situations difficiles, notre objectif d'origine reste irréalisable, pour cela, nous avons orienté notre travail sur la réalisation d'une synthèse de deux articles portant sur l'effet antibactérien des huiles de lin vis-à-vis de quelques souches pathogènes.

# *Rappel Théorique*

***Chapitre 01***  
***Lutte contre les infections***

Les infections microbiennes sont causées par différents microorganismes (bactéries, champignons, algues, protozoaires), et sont la cause des maladies les plus fatales et des épidémies les plus répandues.

## 1. Quelques bactéries responsables de la pathogénicité

### 1.1 *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* est la cause d'une variété d'infections acquises dans la communauté et nosocomiales. *S.aureus* est un pathogène humain majeur, découvert par **Alexander Ogston** en **1881**. C'est une bactérie anaérobie aérobie facultative à Gram positif qui produit de la catalase et de la coagulase et peut tolérer une très faible activité de l'eau ( $A_w = 0,83$ ). (**Alioua, 2015**).

Dans la plupart des cas, les infections à *S. aureus* sont causées par des souches commensales de patients qui expriment un ensemble de facteurs qui confèrent la pathogénicité et la virulence. Les infections purulentes superficielles causées par cette bactérie sont causées par des facteurs d'adhésion et des protéines de surface aux cellules et tissus hôtes, entraînant l'impétigo et les infections des plaies. Le rôle des enzymes étant de dégrader les tissus pour obtenir la circulation, les infections peuvent évoluer vers un stade plus sévère, et si le traitement est absent ou inefficace, elles peuvent être plus profondes voire plus sévères (septicémie, endocardite). De plus, *S. aureus* synthétise des toxines responsables du syndrome de choc toxique, des entérotoxines responsables d'intoxications alimentaires et d'autres facteurs dans le but d'échapper au système immunitaire de l'hôte (**Davido, 2010**).

De plus, *S. aureus* a la capacité de former des biofilms sur des tissus natifs ou des dispositifs médicaux implantés, ce qui conduit à une résistance à des concentrations élevées d'agents antimicrobiens. (**Tkhilaishvili et al., 2020**).

### 1.2 *Escherichia coli*

Le genre *Escherichia* fait partie de la famille des Enterobacteriaceae et appartient à la classe des Proteobacteria. Les bactéries *Escherichia* sont des bactéries Gram-négatives, aérobies facultatives, anaérobies, non halophiles avec nitrate réductase et catalase et sans oxydase. *E.coli* est une bactérie mobile à structure périflagellaire (quelques rares souches sont devenues immobiles) et ne forme pas de spores. Sa température optimale de croissance est de 37°C. Une bactérie peu exigeante capable de se développer sur des milieux courants.

*E.coli* est une espèce sous-dominante du microbiote facultatif aérobie et anaérobie dans les intestins humains et animaux. Cette bactérie représente 80 à 90 % de coliformes thermotolérants ou fécaux (capables de fermenter le lactose à 44,5°C). (**Diallo, 2013**).

*Escherichia coli* est l'un des micro-organismes les plus fréquemment isolés dans les échantillons cliniques. Sa multirésistance est devenue un problème dévastateur observé chez l'homme et on pense qu'elle contribue à la propagation des gènes de résistance aux antibiotiques. (**Tian et al., 2020**).

### ***1.3 Pseudomonas aeruginosa***

C'est un bacille Gram négatif omniprésent associé à une variété d'infections nosocomiales et communautaires. En raison de sa capacité à résister à différentes conditions physiques, la bactérie peut survivre en milieu communautaire et hospitalier. Il provoque diverses infections nosocomiales telles que la pneumonie, les infections des voies urinaires, les infections du site opératoire et certaines infections communautaires telles que l'otite externe, la kératite ulcéreuse et les infections des tissus mous (**El mouaden et al., 2019**). *P. aeruginosa* vit également sur l'eau, le sol et les surfaces végétales en tant que saprophytes. Ce *P. aeruginosa* peut parfois survivre en tant que symbiote dans le tube digestif de l'homme et de divers animaux (**Jonathan, 1999**).

Le traitement des infections nosocomiales et communautaires causées par ce germe est devenu un problème sérieux en raison de sa résistance inhérente et de la disponibilité de la résistance à de nombreux antibiotiques (par exemple, les fluoroquinolones, les bêta-lactamines et les aminoglycosides) La capacité à générer de nouveaux mécanismes de résistance. (**Matar, 2018**).

### ***1.4 Bacillus cereus***

*Bacillus cereus* est un pathogène opportuniste à Gram positif, en forme de bâtonnet, mobile et sporulant qui résiste à la chaleur et aux produits chimiques en raison de la capacité de la bactérie à se développer de 4 °C à 50 °C. Certaines espèces de *B. cereus* sensu lato provoquent des épidémies de maladies d'origine alimentaire chez l'homme (**Vidic et al., 2020**). La pathogénicité de cette bactérie provient de sa capacité à s'adapter aux conditions environnementales et à sécréter des toxines. Bien que l'étiologie du syndrome de vomissement soit une toxine unique, le syndrome de diarrhée peut être causé par la combinaison et la synergie de plusieurs toxines et enzymes dégradantes (**Yobou et al., 2016**).

L'intoxication alimentaire à *Bacillus* est presque exclusivement causée par *B. cereus*. Ils représentent près de 5% de toutes les intoxications alimentaires dans certaines statistiques anglo-saxonnes. (Mami, 2013).

L'utilisation d'antibiotiques est toujours considérée comme le traitement le plus efficace contre les infections humaines à *B. cereus*. En raison de l'utilisation imprudente à long terme d'antibiotiques ou de l'émergence de gènes résistants aux médicaments, entraînant un transfert horizontal de gènes, des souches résistantes aux médicaments de *B.cereus* ont été découvertes. (Zhao et al., 2020).

## **2. La lutte contre les infections bactériennes**

La maîtrise des infections bactériennes devient de plus en plus complexe du fait que de nombreuses bactéries ont développé une résistance à la plupart des antibiotiques, et le recours à la médecine traditionnelle ou phytothérapie est devenue la meilleure approche pour prévenir mais aussi pour soigner la majorité de nos maux du quotidien (Létard et al., 2015).

La phytothérapie est basée sur l'utilisation des plantes médicinales, qui constituent un réservoir de métabolites doués d'activité antimicrobienne.

Parmi les plantes utilisées dans la lutte contre les infections bactériennes, nous nous intéressons au *Linum usitatissimum* L (*le lin*).

*Chapitre 02*  
*Présentation de la plante*  
*étudiée :*  
*Linium Usitatissimum (le lin)*

## 1. Description générale

Le nom *Linum* vient du mot celtique lin ou "fil" et le nom *usitatissimum* est latin "plus utile" ou "lin de tous les usages" (Muir et Neil, 2003), en anglais appelé « Flaxseed » et en arabe *el ketan*.

Le lin cultivé (*Linum usitatissimum* L.) est une dicotylédone annuelle, herbacée. Deux différents types se distinguent au sein de cette espèce : le type *vulgare* destinées à l'utilisation des fibres pour le textile et le type *humile* pour l'huilerie. En effet, les variétés destinées à la production de fibres ont des tiges longues et peu ramifiées conduisant à une faible production de graines (de mauvaise qualité) tandis que les variétés à huile présentent des tiges courtes et très ramifiées permettant une production de graines plus importantes (Warrand, 2004).

Le lin est l'une des premières plantes cultivées par l'homme. Ainsi, des traces de son existence ont été retrouvées dans les villes lacustres suisses, remontant à 8000 av. Cependant, son origine (probablement des hautes terres d'Asie) n'est pas claire. Les pharaons d'Égypte ont élargi son utilisation en enveloppant la momie dans un bandage en lin. De plus, les fresques dans les pyramides montrent la culture du lin. (Savoire, 2008).

La culture du lin a été introduite en Europe par Charlemagne au cours du premier millénaire après J.C. Sa généralisation quant à elle date du XI<sup>ème</sup> siècle.

Elle est cultivée en qualité de plante textile ou oléagineuse. Le Canada est le plus grand producteur de lin, environ 38% de la production mondiale, suivie par la Chine, les États Unis, l'Inde et l'Union Européenne (FAOSTAT, 2008).

### 1. Systématique

La classification du lin selon (Diederichsen et Richards, 2003) est comme suite :

**Division :** Pteridophyta

**Sous-division :** Angiospermae

**Classe :** Dicotyledoneae

**Sous-classe :** Rosidae

**Ordre :** Géraniales

**Famille :** Linaceae

**Genre :** *Linum*

**Espèce :** *usitatissimum* L

- **Nom populaire :** Lin ou flax ou linseed

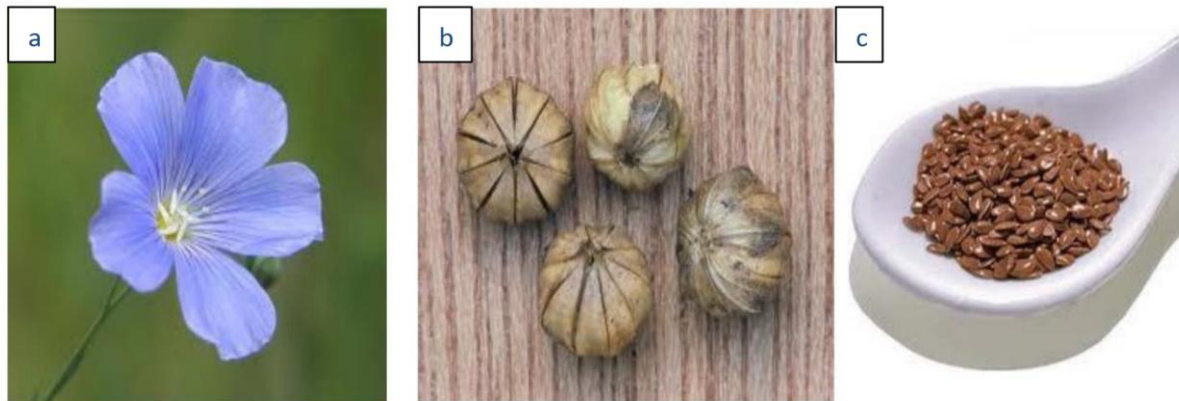


- **Nom latin** : *Linum usitatissimum* L.
- **Nom arabe** : Zerriat al kettane

## 2. Description botanique

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

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



**Figure 1** : Fleur de lin (a), capsules à maturité (b) et leur contenu en graines (c) (**Alachaher, 2018**).

La plante atteint une hauteur comprise entre 0,8 et 1,2 mètre pour un diamètre à la base de l'ordre de 1 à 2 millimètre.

L'inflorescence est en forme de cyme qui porte plusieurs fleurs bleues ou blanches. La fleur hermaphrodite et hypogyne, elle est de type 5 : 5 sépales, 5 pétales, 5 étamines et un pistil formé de 5 carpelles séparés par autant de fausses cloisons.

### **3. La graine**

#### **4.1. Morphologie et microstructure**

La graine de lin a une forme ovale, aplatie et lisse. La graine présente un bec plus ou moins recourbé à son extrémité. Le tégument de la graine prend des couleurs variant du jaune au marron (figure 02). Les dimensions des graines commerciales sont variables : de 3,0 à 6,4 mm de longueur de 1,8 à 3,4 mm de largeur et 0,6 à 1,5 mm d'épaisseur en moyenne (**Freeman, 1995**). Le poids de mille grains varie entre 5 et 10 g (**Labalette et al., 2011**). La variabilité de ce poids est relative à la date et à la densité de semis et rend compte de la bonne formation et alimentation des graines (Figure 02) (**FAO, 2012**).



**Figure 02 :** La couleur de l'enveloppe de la graine de lin peut varier du jaune vif à olive en passant par le brun foncé et peut même inclure des panachées. (**Bommareddy et al., 2009**).

#### **4.2. Composition chimique de graines de lin**

La composition de la graine varie en fonction de son degré de maturité, ainsi que des conditions biotiques et abiotiques de culture (**Hall et al., 2006**). La graine de lin englobe de nombreux composés et éléments biologiquement actifs, y compris l'acide linoléique, l'acide  $\alpha$ -linoléique, (**Shim et al., 2014**).

Les graines de lin sont composées majoritairement d'huile (30 à 45 %), de protéines (10 à 30 %) et de fibres alimentaires (25-32 %) (Tableau 01), mais également de composés secondaires (**Daun et al., 2003 ; Coskuner et Karababa, 2007**).

Les graines de lin présentent également des teneurs élevées en lignanes et notamment en SDG (secoisolaricirésinol di-glucoside), 75 à 800 fois plus que dans les autres graines oléagineuses (**Nesbitt et al., 1999**).

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

Les niveaux de protéines dans les graines de lin varient entre 10,5 et 31%. Ces changements dépendaient du génotype, cependant, les conditions pédoclimatiques avaient également un effet sur l'accumulation des protéines de lin principalement distribuées dans les cotylédons (76%) et l'endosperme (16%). Les deux principales protéines identifiées sont des protéines de stockage : l'albumine et la globuline. L'albumine dans les graines varie de 26 à 41% de protéines totales, selon la variété de lin (**Hall et al., 2006**).

#### **4. Huile de Lin**

Les graines de lin contiennent 35 à 45 % d'huile, le lin peut donc être classé comme une graine oléagineuse (**Daun et al., 2003**), dont une partie se trouve dans les téguments (10 %) et les cotylédons (12 %). La plupart des huiles (78 %) sont localisé dans les cellules embryonnaires et s'accumule sous forme de triglycérides (TAG).

L'huile de lin "ou huile de lin" est une huile jaune d'or obtenue à partir des graines mûres de lin cultivé, pressées à froid et/ou pressées à chaud, et parfois extraites au solvant, à usage industriel. La texture de l'huile de lin varie d'épaisse à liquide avec une couleur claire (**Bloedon et Szapary, 2004**). Au niveau cellulaire, l'huile est contenue dans des vésicules intracytoplasmiques appelées oléosomes, sphéroïdes, globules lipidiques, d'un diamètre moyen de 1,34 microns. Ces oléosomes contiennent 97,58 % de lipides neutres (triglycérides), 1,34 % de protéines, 0,90 % de phospholipides et 0,11 % d'acides gras libres.

##### **5.1. Composition et caractéristiques d'huile de lin**

L'huile de lin est principalement composée de 5 types d'acides gras (tableau 01), acide palmitique (C16: 0) (4 ~ 6%), acide stéarique (2 ~ 3%), acide oléique (10 ~ 22%), graines de lin Acide acide (12 à 18 %) et acide linoléique (ALA) (50 à 62 %). Il se compose également de stérols, d'hydrocarbures, de tocophérols et d'alcools triterpéniques (**Sultana, 1992**). La composition chimique de l'huile de lin peut varier selon le lieu de plantation et la variété (**Lafond et al., 2008**).

**Tableau 01:** Composition en acides gras de l'huile de lin (Daun et al., 2003).

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

## 5. Domaines d'utilisation

Le lin a été redécouvert comme un véritable essentiel pour la santé. Il devrait être classé comme un aliment pour la vie. Traditionnellement, le lin et ses huiles ont été utilisés à diverses fins, y compris des utilisations industrielles telles que la fabrication de peintures, de vernis et de linoléum, de nutraceutiques, de produits pharmaceutiques, d'aliments pour animaux et comme ingrédients alimentaires dans les aliments humains ou transformés (Laiq et al., 2010) . (Figure 03)

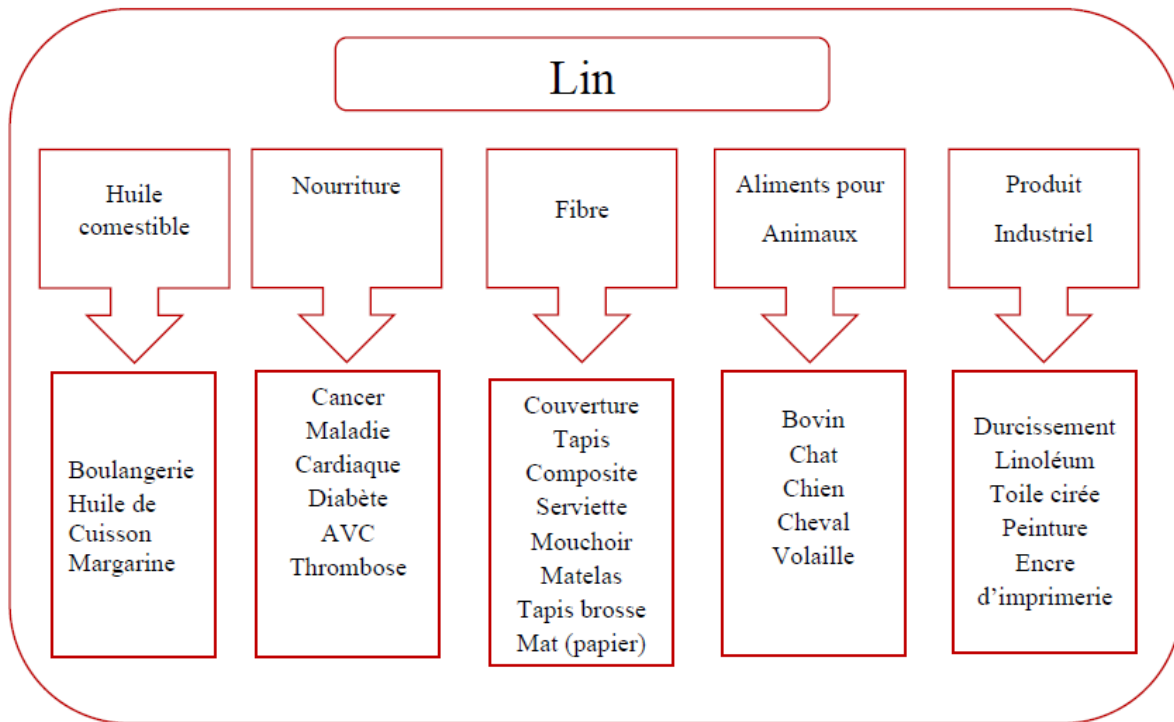


Figure 03: Diagramme de l'utilisation du lin (Laiq et al., 2010).

### 6.1. Utilisation industrielle

L'utilisation industrielle du lin réside principalement dans son huile. En effet cette dernière présente un indice d'iode très élevé le définissant comme une huile siccatrice.

Cette propriété, permettant la polymérisation à l'air de l'huile pour former un film ressemblant à du plastique, a justifié son utilisation dans les encres, vernis et autres applications de surface. Pour saturer la matière des ardoises, pour mettre au point le savon noir et pour protéger les pièces de monnaie de même que l'acier rouillé. L'huile de lin rentre également dans la composition du linoléum. De plus avec le développement de substituts aux produits pétroliers, l'huile de lin peut être utilisée comme biolubrifiant, comme huile destinée à remplacer les huiles perdues de type huile de tronçonneuse ou encore comme matière première dans la synthèse du diester. (Bloedon et Szapary, 2004).

Le lin est également d'intérêt industriel car l'ensemble de la plante peut être valorisé en huile comme décrit précédemment, mais aussi en alimentation animale grâce aux tourteaux et dans l'industrie textile grâce à ses fibres. Ces fibres peuvent également être utilisées pour la fabrication de matériaux composites utilisés dans les carrosseries de voiture. L'alimentation des volailles par du tourteau de lin permet également de produire des oeufs enrichis en oméga-3.

Les graines alimentaires ont trouvé une place de choix dans l'alimentation moderne: les graines de lin entières sont alors utilisées en boulangerie, grillées ou non, en couverture de

spéciaux, le lin est donc une plante d'avenir. L'huile de lin présente donc de nombreuses propriétés intéressantes (**Bloedon et Szapary, 2004**).

## **6.2. Utilisation thérapeutique**

Les graines de lin sont maintenant considérées comme des aliments fonctionnels car elles contiennent des nutriments et des composantes qui favorisent la santé et qui peuvent prévenir certaines maladies. Ces composantes sont les fibres alimentaires, l'acide  $\alpha$ -linoléique, les lignanes (**Muir et Westcott, 2003**), de même que les protéines (**Oomah, 2001**).

On trouve notamment l'acide alpha-linolénique (un oméga 3) qui agit dans la réduction du risque cardiovasculaire. Les fibres solubles et insolubles, les lignanes et les protéines sont également responsables de l'intérêt porté au lin. Le lin permet ainsi d'inhiber des médiateurs pro-inflammatoires, de diminuer le cholestérol sanguin, de lutter contre les maladies auto-immunes et de diminuer les risques de cancer hormono-dépendant (**Oomah et Mazza, 1999 ; Oomah, 2001; Rapport et Lockwood, 2001**).

L'huile de lin est conseillée chez les personnes souffrant de sclérose en plaque ou de diabète. Elle a aussi un effet sur les systèmes hormonal et immunitaire. L'utilisation quotidienne d'huile de lin protège la membrane gastrique et urinaire (**tableau 02**). Elle convient aussi pour le visage, la peau irritée et le corps, elle est reconnue pour ses propriétés adoucissantes et émoullientes.

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

**Tableau 02** : Composantes fonctionnelles des graines de lin (Muir et Westcott, 2003)

Composantes des graines de lin	Bénéfices sur la santé
<b>Grain entier ou broyée</b>	Réduction du cholestérol total et du cholestérol LD Réduction de la réponse glycémique postprandiale Diminution de l'inflammation et du risque cancer
<b>Fibres solubles</b>	Réduction de la cholestérolémie et de la glycémie.
<b>Fibre insoluble</b>	Régulation de la fonction intestinale.
<b>Acide alpha-linolénique</b>	Réduction de la cholestérolémie et des concentrations de biomarqueurs inflammatoires. Réduction du risque de coronaropathie, d'accident vasculaire cérébral et de cancer.
<b>Lignanes</b>	Traitement de l'hypertrophie de la prostate. Prévention du cancer (cancer de sein, du colon et du poumon, leucémie).

## 7. Activités antimicrobiennes des graines de lin

L'activité antimicrobienne de la graine de lin est associée à diverses activités antifongiques et antibactériennes. De nombreuses études ont montré que l'activité antimicrobienne de la graine de lin est souvent associée à la présence de polyphénols naturels, en particulier les lignanes glycosylés (SDG-SMG) et les aglycones (SECO ou anhydro-SECO) (Pag et al., 2014) .

De plus, des études ont montré que les acides gras agissent sur les micro-organismes nuisibles en retardant leur croissance, et sont donc les principaux composants des additifs alimentaires antibactériens. La recherche a également montré que les résidus du processus d'extraction de l'huile de lin connu sous le nom de tourteau de graines ne sont pas de l'huile et des fibres, mais contribuent à l'activité antimicrobienne car ils sont associés à des substances acides et hautement phénoliques aux propriétés antimicrobiennes (tableau 03). (Zuk et al., 2014). L'huile de lin a une activité antimicrobienne contre *Staphylococcus aureus*,



*Streptococcus agalactiae*, *Enterococcus faecalis*, *Micrococcus xanthanus*, *Bacillus subtilis* et *Candida albicans* (Kaithwas et al., 2011).

**Tableau 03** : Activités antimicrobiennes de lin (Fadzir et al., 2018)

<b>Propriétés antimicrobiennes du lin</b>	<b>Microorganismes inhibés</b>
Antibactérienne	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus cereus</i> et <i>Bacillus pumilus</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Vibrio sp</i> <i>Escherichia coli</i> , <i>Streptococcus agalactiae</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Micrococcus luteus</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Lactobacillus sporogenes</i>
Antifongique	<i>Candida albicans</i> <i>Fusarium graminearum</i> , <i>Aspergillus flavus</i> et <i>Aspergillus niger</i> , <i>Penicillium chrysogenum</i>



*Chapitre 03*  
*Substances végétales*  
*Bioactives : métabolites*  
*secondaires*

Les plantes médicinales comme le lin constituent une source riche et diversifiée de métabolites secondaires, qui ont une application commerciale dans les domaines pharmaceutiques et biomédicaux. On cite :

### **1. Les composés phénoliques**

Les composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes simples et procyanidines) constituent le groupe le plus important de composés phytochimiques dans les plantes (**Thompson, 2003**). Les composés phénoliques majoritaires n'existent pas à l'état libre, mais sous forme d'esters ou plus généralement sous forme d'hétérosides (**Bruneton, 1999**). Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des plantes et sont présents dans toutes les parties des plantes (**Lugasi et al., 2003**). Les principales fonctions de ces composés dans les plantes sont de protéger contre les agents pathogènes et les herbivores, et de limiter les dommages causés par les rayons UV. Dans ce cas, ils agissent par effet écran et antioxydant (**Lebham, 2005**). Il existe différentes classes de polyphénols dont : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, le stilbène, les lignanes, les saponines, les polystérols ou les phytostanols.

Les différentes propriétés des plantes médicinales sont essentiellement dues à leurs composés bioactifs. L'intérêt porté sur ces composés ne cesse de croître ces dernières années. Ils sont étudiés dans le but de trouver de nouvelles structures modèles pour le développement de médicaments thérapeutiques ou protecteurs (**Bossokpi, 2003**).

### **2. Les polyphénols**

Les polyphénols ou « composés phénoliques » regroupent un grand nombre de plus de 8000 molécules (**Bahorun, 1997 ; Garcia-Salas et al., 2010**). Les polyphénols sont synthétisés via deux voies de biosynthèse : l'acide shikimique et l'acétate (**Bruneton, 2009**). L'élément structurel de base caractérisant les polyphénols est la présence d'au moins un cycle benzénique directement attaché à au moins un groupement hydroxyle ainsi que des groupements fonctionnels (esters, esters méthyliques, glycosides, etc.) (**Bruneton, 1999**). Les polyphénols sont classés selon le nombre d'atomes de carbone dans le squelette de base. Il existe plusieurs classes de polyphénols, principalement les acides phénoliques simples, les phénols simples, le stilbène, les coumarines, les tanins, les quinones, les flavonoïdes, les lignanes, les lignines et les xanthones (**Dacosta, 2003**).

### 3. Les acides phénoliques

Le terme acide phénolique peut s'appliquer à tous les composés comportant au moins une fonction carboxyle et une fonction hydroxyle phénolique, on distingue :

#### 3.1. Acide hydroxybenzoïque

L'acide hydroxybenzoïque est un dérivé de l'acide benzoïque de structure générale de type basique (C6-C1). Ces molécules existent généralement sous forme d'esters ou de glycosides. Les acides hydroxybenzoïques les plus abondants sont répertoriés dans (le tableau 04) (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

Tableau 04 : Principaux acides hydroxy benzoïques (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

R1	R2	R3	R4	Acides phénoliques
H	H	H	H	Acide benzoïque
H	H	OH	H	Acide phydroxy benzoïque
H	OH	OH	H	Acide protocatechique
H	OCH	OH	H	Acide vanillique
H	OH	OH	OH	Acide gallique
H	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	Acide syringique
OH	H	H	H	Acide salicylique
OH	H	H	OH	Acide gentisique

#### 3.2. Acides hydroxycinnamiques

Ces acides dérivent de l'acide cinnamique et ont une structure basique générale de type (C6-C3). Ils forment généralement des monoesters avec des molécules organiques telles que l'acide chlorogénique (ester de l'acide hydroxycinnamique : acide caféique et acide quinique, comme l'acide caféoylquinique (ACQ) par exemple l'acide chlorogénique : 3-ACQ, 5-ACQ,

selon que la liaison est dans le position 3 ou 5 sur le groupe hydroxyle de l'acide quinique). Il existe également des composés formés en combinant plusieurs acides hydroxycinnamiques avec de l'acide quinique, tels que l'acide 3,5-O-dicaféoquinique. Le degré d'hydroxylation et de méthylation du cycle benzénique entraîne une réactivité chimique importante de ces molécules (tableau 05) (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

Tableau 05 : Principaux acides hydroxy cinnamiques (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

R1	R2	R3	Acides phénoliques
H	H	H	Acide cinnamique
H	OH	H	Acide p-coumarique
OH	OH	H	Acide caféique
OCH3	OH	H	Acide férulique
OCH3	OH	OCH3	Acide sinapique

### 3.3. les quinones

Les quinones sont une série de diènes (hydrocarbures contenant deux doubles liaisons), plutôt que des composés aromatiques avec un cycle benzénique (C6) comme la benzoquinone, sur laquelle deux atomes d'hydrogène sont remplacés par deux atomes d'oxygène pour former deux liaisons carbonyle (dicétones d'éthylène conjuguées cycliques) . Ce sont des composés oxydés, correspondant à l'oxydation des dérivés aromatiques par deux substitutions cétoniques. Ils sont caractérisés par des motifs 1,4-dicétocyclohexyl 2,5-diène (paraquinone) ou éventuellement des motifs 1,2-dicétocyclohexyl 3,5-diène (orthoquinone). Les quinones sont utilisées dans les teintures, les médicaments et les fongicides (Bruneton, 1993).

### 3.4. Les tannins

Les tannins sont très abondants chez les angiospermes dicotylédones (Tannins Hydrolysables) et les gymnospermes (Tannins condensés). Leur masse moléculaire est comprise entre 500 et 3000 PM. Répandu, en particulier dans les tissus anciens ou d'origine pathologique. Ces composés ont collectivement des propriétés bronzantes liées à des macromolécules (protéines, polysaccharides...) via des liaisons résistantes aux attaques fongiques et bactériennes (Atefeibu, 2002).

Ils sont utilisés dans la transformation des aliments et pour la clarification (propriétés biologiques) du vin, de la bière et des jus. Leurs structures complexes consistent en des unités monomères répétitives qui diffèrent par leurs centres asymétriques. Ils sont constitués de polyols (ou de polyols ou de diols, caractérisés par des groupements hydroxyles) (le plus souvent du glucose) ou d'oligomères de catéchines ou de triterpènes ou de flavanols liés à des motifs galloyle (ou leurs dérivés) ou de composition polymère. On distingue généralement deux groupes de tanins différents en fonction de la structure et de l'origine biologique : les tanins hydrolysables et les tanins galliques (Bruneton, 2009).

### 3.5. Les coumarines

La coumarine est également un dérivé C6-C3 et appartient au groupe de composés connus pour être les benzo- $\alpha$ -pyrones, toutes substituées en 7 par un groupe hydroxyle. Ils existent dans la nature libre ou liés aux sucres. Elles sont produites en grande quantité en réponse à une attaque biotique ou abiotique et semblent constituer des défenses de type phytoalexine (Figure 04) (O'Kennedy et Thornes, 1997).

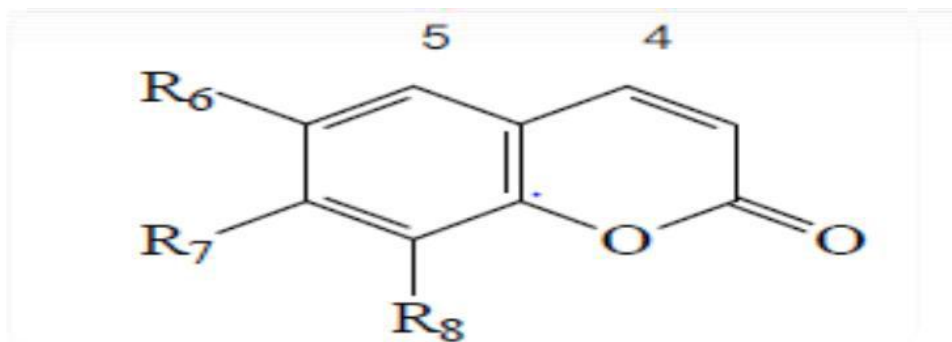


Figure 04: Structure chimique de coumarine (O'Kennedy et Thornes, 1997).

### 3.6. Lignanes

Le lin est utilisé en pharmacie pour ses graines, et son mucilage est utilisé comme laxatif en vrac. L'huile de graines contient une forte proportion d'acide alpha linoléique, qui joue un rôle

important dans la prévention des maladies cardiovasculaires en régulant la cholestérolémie et en limitant la formation de plaques d'athérosclérose. La graine de lin est de loin la matière végétale la plus abondante en lignanes phytoestrogènes (**PE**). Ces dernières années, les effets bénéfiques des lignanes de lin (notamment des SDG) dans la prévention des cancers hormono-dépendants (cancer du sein et de la prostate) ont été largement démontrés par des études épidémiologiques établissant que la présence de lignanes alimentaires est associée à certains cancers. le taux d'incidence (**Lamblin et al., 2008**).

### 3.7. Flavonoïdes

Les polyphénols sont des composés avec une structure de base en C6-C3-C6, constituée de deux cycles aromatiques (cycles A et B) reliés par un hétérocycle contenant de l'oxygène (cycle C), qui est le squelette de base des flavonoïdes, (Figure 05) (**Erlund, 2004**).

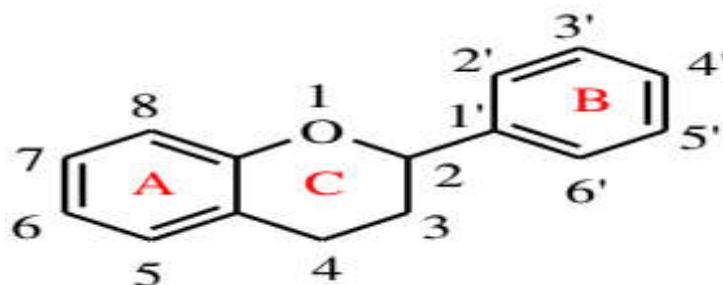


Figure 05 : Squelette de base des flavonoïdes (**Erlund, 2004**).

Ils sont présents dans divers organes de toutes les plantes vasculaires : racines, tiges, feuilles et fruits (**Bruneton, 1999**). Ils sont synthétisés au niveau du chloroplaste et participent à la photophase de la photosynthèse en tant que porteurs d'électrons, certains quittant le chloroplaste et s'accumulant dans la vacuole (**Elicoh-Middleton, 2000**).

Les flavonoïdes existent sous forme de glycosides C ou O, tels que l'hypérine et la rutine (un glycoside entre le flavonol quercétine et le disaccharide rutine) (**Dacosta, 2003**)

Ils se répartissent en plusieurs catégories : flavonoïdes (apigénine, lutéoline), flavonols (quercétine, kaempférol, myricétine et catéchine), flavanones (naringénine), dihydroflavonols, flavanes, flavanols, flavan-3-ols (épicatéchine), flavonoïdes, chalcone, flavonoïdes et les anthocyanes (pélagonine, anthocyanine et paeoniflorine), la chalcone (butéine et phlorétine)) et les isoflavones (isoflavones, pestinoïdes) et les coumarines (**Bruneton, 2009**).

Les flavonoïdes partagent une source biosynthétique commune, suivant deux voies complémentaires, la voie de l'acétate de malonate et la voie du shikimate (**Elicoh-Middleton, 2000**)

### 3.8. Les stilbènes

Les membres de cette famille ont la structure C6-C2-C6. Ce sont des phytoalexines, des composés produits par les plantes en réponse aux attaques de pathogènes fongiques, bactériens et viraux (Krisa et al., 1997).

### 3.9. Les anthocyanes

Or les pigments anthocyaniques, qui colorent les fleurs, les fruits et parfois les feuilles, sont proches des flavonoïdes par leur origine, leur structure et leurs propriétés pharmacologiques (Catier et Roux, 2007).

Les anthocyanes n'existent que sous la forme de glycosides appelés anthocyanes, que l'on trouve dans les racines, les tiges, les feuilles et les graines. Leur structure de base est caractérisée par un noyau « flavonoïde », généralement glycosylé en position C3 (Collin et Crouzet, 2011). (Figure 06).

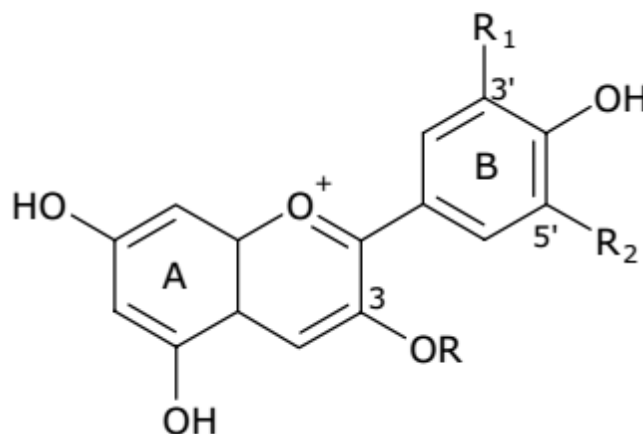


Figure 06 : Structure chimique d'anthocyanidine .

## 4. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont un groupe de composés azotés, les hétérocycles, aux propriétés physiologiques remarquables même à faible dose (Zenk et Juenger, 2007).

Ils présentent des réactions de précipitation courantes et sont détectés par des réactions de précipitation (capacité à lier les métaux) et représentent un groupe fascinant de produits naturels. Ils constituent l'un des plus grands ensembles de près de 10 000 à 12 000 structures (Stöckigt et al., 2002).

## 5. Huiles essentielles et composés terpéniques

### 5.1. Huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des extraits naturels purs de plantes aromatiques (**Wegrzyn et Lamendinh, 2005**). Ils sont le produit de la distillation de plantes ou de parties de plantes. Ce sont des substances résineuses odorantes, volatiles, de consistance huileuse mais sans corps gras, plus ou moins coulantes, très concentrées, souvent colorées, apportant de fortes concentrations en principes actifs (**Solène, 2012**).

### 5.2. Composés terpéniques

Ce sont des produits naturels, assemblés à partir d'un nombre entier d'unités isoprènes, conduisant à la formation de composés terpéniques de plus en plus complexes tels que : hormones (gibbérellines, acide abscissique), pigments caroténoïdes (carotène, stérols jaunes des feuilles), stérols et leurs dérivés (ergostérol, sitostérol, saponines, etc.) (**Hopkins, 2003**).

## 6. Les huiles fixes

Les huiles végétales sont des mélanges de consistance liquide ou semi-liquide à température ambiante, composés majoritairement de substances hydrophobes, solubles dans des solvants organiques non volatils apolaires ou faiblement polaires : on les appelle alors « huiles fixes ou grasses » (**Karleskind, 1992**).

Chaque huile végétale a ses propres composants, mais le principe est toujours le même : acides gras, vitamines et/ou insaponifiables.

Les huiles végétales sont de simples lipides, c'est-à-dire 100% corps gras, composés d'atomes de carbone, d'hydrogène et d'oxygène, qui forment eux-mêmes des triglycérides. A cela s'ajoutent les insaponifiables, qui contiennent tantôt des vitamines, tantôt des phytostérols, des traces d'huiles essentielles aromatiques, voire les deux (**Julien, 2013**).

## 7. Les mucilages

Le mucilage représente 10 % de la composition totale des graines. Il peut être divisé en parties neutres, qui sont des arabinoxylanes ramifiés composés de D-xylose, de L-arabinose, de D-glucose et de D-galactose et principalement composés de L-rhamnose et de D-galactose la fraction acide (**Bruneton, 1999 ; Sepúlveda et al., 2007**).



***LA PARTIE  
EXPÉRIMENTALE***

Dans ce travail nous avons traité deux articles qui visent à évaluer l'effet anti bactérien de l'huile de graines de lin vis-à-vis d'une large gamme de bactéries gram négatif et gram positif.

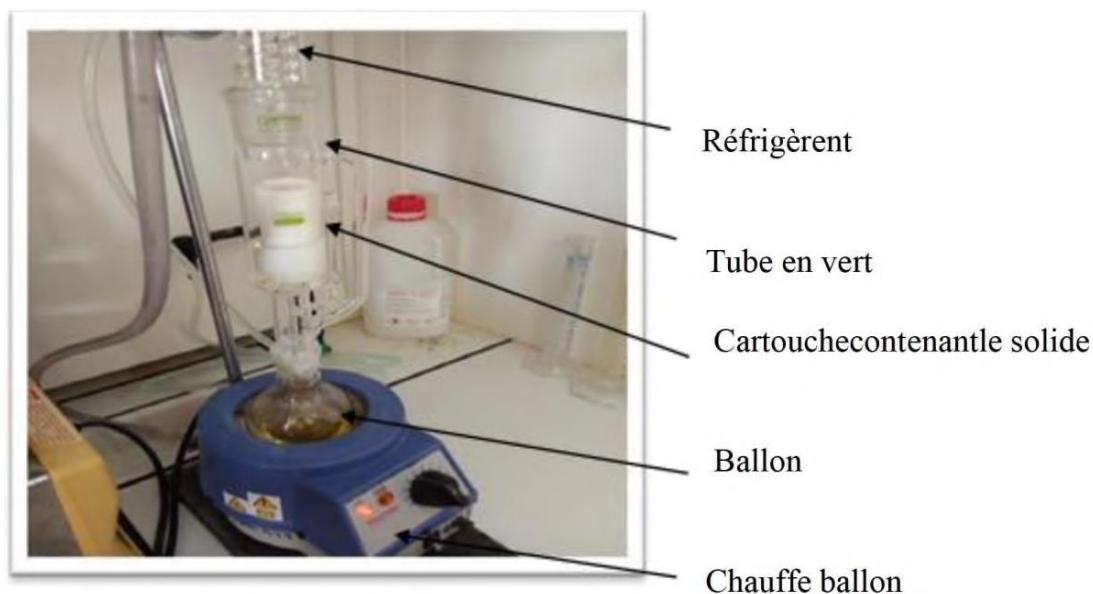
**Tableau 06 : les articles étudiés**

Article	Titre	Auteur	Année	Pays
1	Antibacterial and Antibiofilm Activity of Flaxseed Oil	Al-Mathkhury et al.	2016	Iraq
2	Antimicrobial Properties, Cytotoxic Effects, and Fatty Acids Composition of Vegetable Oils from Purslane, Linseed, Luffa, and Pumpkin Seeds	Petropoulos et al.	2021	Sirbia

### 1. Préparation des extraits

**Al-Mathkhury et al., (2016)**, ont utilisé la méthode de Soxhlet pour l'extraction des huiles à partir de graines de lin.

Un extracteur Soxhlet (**Figure 07**) est un récipient en verre utilisé en chimie analytique et en chimie organique pour l'extraction continue par solvant de produits chimiques contenus dans des poudres solides. L'appareil porte le nom de son inventeur : **Franz Von Soxhlet**



**Figure 07 :** Montage de Soxhlet

300 g de graines de lin ont été moulues puis soumises dans un extracteur Soxhlet, dans de du n-hexane pendant 8 heures puis séchées au four. (Amira et Reddy, 2012).

Les hydrolysats ont été par la suite séparés par soumission à l'HPLC, chromatographie liquide rapide, Colonne C-18DB de taille de particules de 3  $\mu$ m (50  $\times$  4,6 mm I.D), la phase mobile était composée de 0,1 % de TFA : acéto-nitrile (55 : 45 V/V), la détection UV réglée à 280 nm et le débit était de 1,5 ml/min. (Amira et Reddy, 2012).

Dans l'article de **Petropoulos et al., (2021)** ; les huiles ont été récupérées du marché, selon les informations fournies, ces huiles sont extraites suivant la méthode de pression à froid.

Dans cette méthode, les graines de lin sont pressées mécaniquement sans chauffage, et le rendement est relativement faible, de l'ordre de 30 %. Cependant, l'huile extraite est de la plus haute qualité : l'huile extra vierge. Pour obtenir cette qualité, seuls le pressurage et le filtrage sont autorisés lors de l'extraction. C'est-à-dire qu'aucun solvant ou autre produit chimique n'est utilisé. C'est la seule façon d'obtenir notre huile de lin de qualité supérieure et de conserver de précieux oligo-éléments, des acides gras oméga 3, des arômes et des vitamines. L'huile conserve sa couleur caractéristique et la saveur typique du lin. Le rendement réduit de cette méthode justifie le prix plus élevé des produits pressés à froid.

L'extrait testé a été préparé comme le suivant : l'huile (5 ml) a été extraite par extraction liquide-liquide avec 10 ml de méthanol ; ce processus était répété 3 fois. Les extraits combinés ont ensuite été séchés sur du sulfate de sodium anhydre, filtrés et évaporés à sec sous pression réduite.

## 2. Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC)

Dans l'étude d'**Al-Mathkhury et al., (2016)**, Les composants de l'huile de lin ont été séparés sur une colonne FLC (Fast Liquid Chromatographic), la phase mobile était l'acide trifluoroacétique (TFA) à 0,1% et l'acétonitrile (55:45 V/V), la détection UV est réglée à 280 nm et le débit est de 1,5 ml/min.

## 3. Les microorganismes utilisés

Les bactéries utilisées sont mentionnées dans le **tableau 07**

**Tableau 07** : les bactéries utilisées

Référence	Les bactéries de gram +	Les bactéries de gram -
<b>Al-Mathkhury et al., (2016)</b>	<i>S. aureus (MSSA)</i> <i>S.aureus (MRSA)</i> , <i>S. epidermidis</i> <i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Escherichia coli</i> <i>K. pneumoniae</i>
<b>Petropoulos et al., (2021)</b>	<i>Bacillus Cereus</i> (food isolate) <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 11632) <i>Micrococcus flavus</i> (ATCC 10240)	<i>Escherichia coli</i> (ATCC25922) <i>Shigella boyedi</i> <i>Enterobacter cloacae</i> (ATCC 35030), <i>Salmonella typhimurium</i> (ATCC 13311)

## 4. Préparation de suspension bactérienne

Dans l'article de **Al-Mathkhury et al., (2016)**, quelques colonies pures et discrètes, cultivées sur gélose nutritive, ont été prélevées dans un tube stérile de solution saline normale dont la turbidité a été ajustée à environ  $1,5 \times 10^8$  UFC/ml par rapport à la norme de turbidité McFarland.

## 5. Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles de graines de lin

- L'effet antibactérien des huiles dans l'article d'**Al-Mathkhury et al., (2016)** vis-à-vis des bactéries testées a été évalué par la méthode de diffusion sur gélose (**Valgas et al., 2007**). L'inoculum bactérien a été étalé uniformément à l'aide d'un coton-tige stérile sur une

boîte de Pétri stérile contenant de Mueller Hinton. Des séries de dilutions des huiles sont réalisées dans le DMSO. Les systèmes ont été incubés pendant 24 heures à 37°C, dans des conditions aérobies.

Après incubation, une croissance bactérienne confluyente a été observée. L'inhibition de la croissance bactérienne a été mesurée en mm Les tests ont été réalisés 3 fois.

- Dans l'article de **Petropoulos et al., (2021)**, les extraits ont été dissous dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) à 5% et la méthode de micro-dilution a été utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne. (**Finimundy et al., 2020**)

Tout d'abord, l'inoculum a été préparé et la suspension bactérienne a été ajustée avec une solution saline stérile à une concentration de  $1. 10^5$  (CFU /ml).

Dans ce test, des microplaques stériles de 96 puits ont été utilisées. Les extraits ont ensuite été préparés et transférés dans chaque puits de la microplaque, après avoir été dilués deux fois en série afin d'obtenir une gamme de concentrations allant de 50 à 0,09 mg/ml.

Les microplaques ont été incubées pendant 24 h à 28 C. Les concentrations les plus faibles sans croissance visible au microscope binoculaire ont été définies comme CMI.

E211 (benzoate de sodium) et E224 (métabisulfite de potassium) ont été utilisés comme témoins positifs et le DMSO à 5 % a été utilisé comme témoin négatif.

# ***RÉSULTATS ET DISCUSSION***

Les travaux réalisés par (Al-Mathkhury et al., 2016) et (Petropoulos et al., 2021) visent à évaluer l'effet antibactérien des huiles de graines de lin.

Dans le premier travail (Al-Mathkhury et al., 2016), les huiles utilisées sont extraites à partir des graines de lin par la méthode de soxhlet.

Cette méthode est la méthode de référence utilisée pour l'extraction des huiles végétale. Son utilisation est largement documentée dans la bibliographie. C'est une méthode classique pour l'extraction solide-liquide. Ces avantages sont les suivants : l'échantillon entre rapidement en contact avec une portion fraîche de solvant, ce qui aide à déplacer l'équilibre de transfert vers le solvant. Cette méthode ne nécessite pas de filtration après extraction. Les inconvénients les plus significatifs de cette méthode, par comparaison avec les autres techniques conventionnelles sont : la durée importante d'extraction et la grande quantité de solvant consommée, ce qui conduit non seulement à des pertes économiques mais pose aussi des problèmes sur le plan environnemental. Les échantillons étant portés à haute température pendant une période relativement longue, le risque de thermodestruction de certains composés n'est pas à négliger si la matière végétale contient des composés thermolabiles. Etant donné la grande quantité de solvant utilisée, l'étape postérieure d'évaporation/concentration devient limitante. Des échauffements locaux sont également possibles. (Luque de Castro et Garcia-Ayuso, 1998 ; Grigonis et al., 2005 ; Wang et Waller, 2006)

Dans le même travail, l'hexane a été choisi comme solvant d'extraction, il présente l'avantage d'être très sélectif vis-à-vis des huiles et d'avoir une chaleur latente de vaporisation assez faible (330 kJ/kg) ce qui permet de l'évaporer facilement, de façon très poussée, et pour un coût énergétique limité. Il a été sélectionné depuis de nombreuses années pour ses propriétés apolaires qui lui confèrent une grande affinité pour les lipides. En outre, Le recours à l'hexane dans le procédé de trituration des graines oléagineuses, permet d'assurer un rendement d'extraction de l'ordre de 97 % contre seulement 89 % par recours aux seuls moyens mécaniques. Cependant l'hexane est susceptible d'être remis en question en raison de sa toxicité sur le système nerveux et de son inflammabilité. (Galvin, 1997). Son utilisation pour l'extraction des huiles et corps gras est réglementée en termes de quantité d'hexane consommé par tonne de graines triturées.

L'huile testée dans les études de (Petropoulos et al., 2021), est une huile commercialisée préparée par pression à froid, cette technique est largement utilisée dans les huileries pour l'extraction des huiles à partir des graines oléagineuses (huile > 30%). L'huile testée est

soumise ensuite à une extraction liquide-liquide par le méthanol, ce processus permet d'éliminer prioritairement les composants ayant le plus d'affinité avec le méthanol tels que les acides gras libres responsables de l'acidité de l'huile, mais aussi certains contaminants tels que les phtalates. (Roua Bou Orm et al., 2020).

L'utilisation de ces deux méthodes d'extraction (soxhlet, et pression à froid) a été largement discutée dans la littérature. En général, les meilleures teneurs en composés bioactifs sont obtenus en utilisant la méthode de pression à froid. (Papadopoulos et al., 2003)

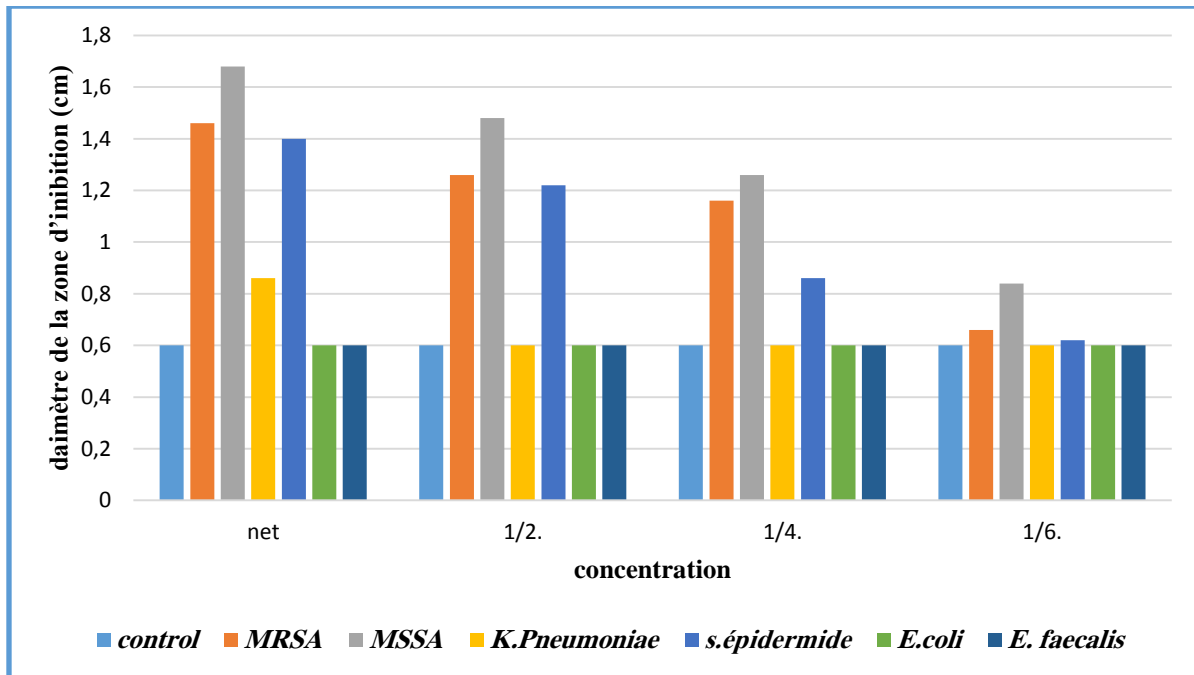
Les teneurs en acides gras d'acides gras des huiles obtenues par extraction soxhlet étaient un peu plus faibles que celles des huiles pressées à froid. Cette réduction peut être attribuée aux impuretés possibles dans l'huile extraite avec un solvant. (Kızılkaya, 2012 ; Fernandes et al., 2017)

Enfin, le pressage à froid peut être une méthode économique car il exclut non seulement l'utilisation de la chaleur mais aussi celle des solvants organiques, car elle exclut non seulement l'utilisation de la chaleur, mais aussi de la méthode de soxhlet.

**La figure 08** illustre l'effet in vitro de l'huile de lin sur les souches bactériennes testées dans le travail d' (Al-Mathkhury et al., 2016). Selon les résultats obtenus l'effet antibactérien est proportionnel à la concentration utilisée. De plus aucun effet inhibiteur ne contre *E. coli*, *E. faecalis* et *S.epidermidis* n'a été observé. D'autres par des effets variables ont été observés contre *S.aureus* résistant à la méthicilline (SARM), *S.aureus* sensible à la méthicilline (MSSA), *K.pneumonia*.

Parmi les souches testées, *S.aureus* est plus particulièrement *S.aureus* sensible à la méthicilline (MSSA) semble la souche la plus sensible à l'extrait d'huile de lin préparé par soxhlet.



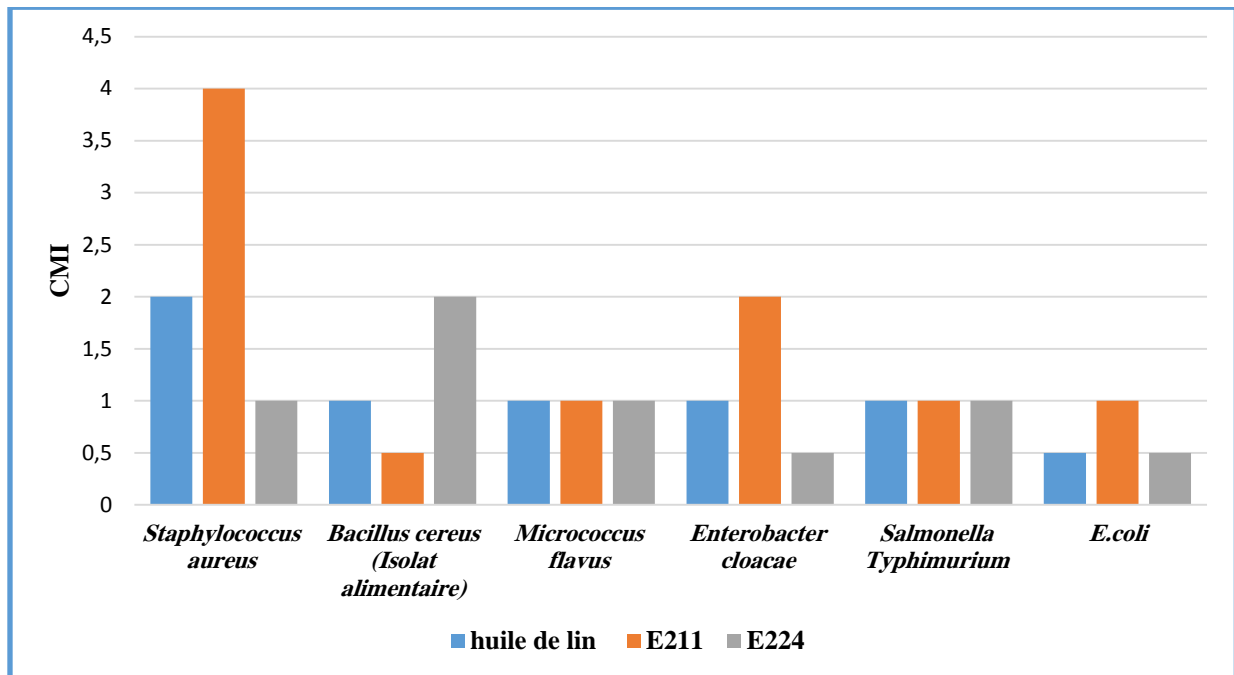


**Figure 08 :** Effet inhibiteur de l’huile de lin sur les isolats bactériens. Le diamètre du puits est de 6 mm, c’est-à-dire qu’il n’y a pas de zone d’inhibition.

Les propriétés antibactériennes de l’huile de lin testée dans l’étude de **Petropoulos et al., (2021)**, sont présentées dans **la figure 09**, une efficacité variée efficacité variable a été enregistrée contre les bactéries testées.

En particulier, l’huile de lin a présenté des effets d’inhibition de la croissance élevés contre *S.aureus* et *M.flavus*, avec des CMI similaires à celles d’E211 et E224 (**témoins positifs**).

En outre, l’huile testée a été aussi ou plus efficace que l’**E224** contre *B. cereus*, tandis que l’**E211** a été la plus efficace. En ce qui concerne *S. typhimurium*, l’extrait d’huile testée a une efficacité similaire à celle des témoins positifs. Enfin, l’huile de lin a montré une plus grande plus efficace contre *E. coli*. Les activités antibactériennes de l’huile de lin sont bien documentées et des effets variables.

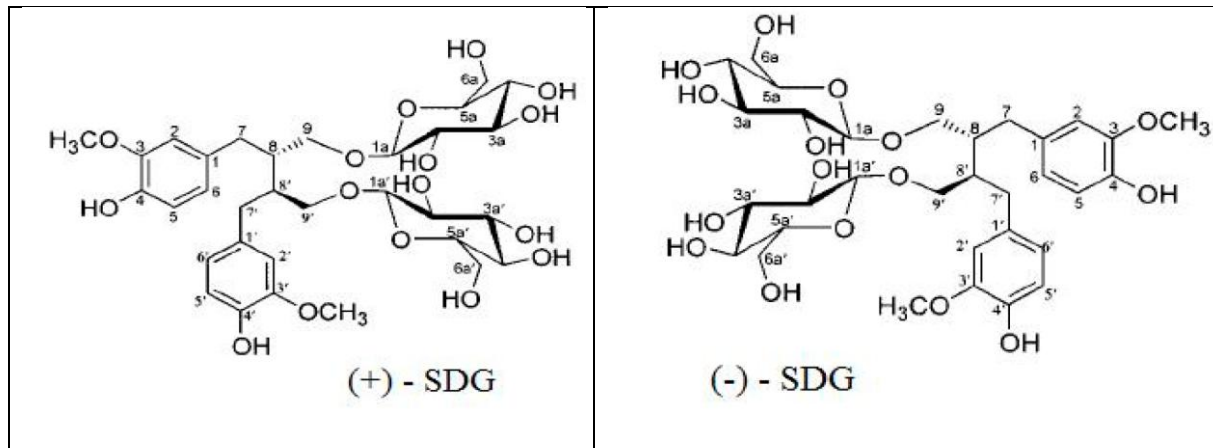


**Figure 09** : Activité antibactérienne des huiles de graines étudiées (CMI)

CMI : concentration minimale d'inhibition / E211 : benzoate de sodium / E224 : métabisulfite de potassium.

Les résultats de HPLC obtenus dans l'étude de **Al-Mathkhury et al., (2016)** ont révélé que l'huile de lin était très riche en diglucoside de secoisolariciresinol (SDG), Par conséquent, toute l'activité antibactérienne de l'extrait de graines de lin peut être attribuée à ce composant. (**Sarajlija et al., 2012**).

Le SDG est un phytoestrogène antioxydant présent dans les graines de lin, de tournesol, de sésame et de citrouille. Dans les aliments, il peut être trouvé dans les pains commerciaux contenant des graines de lin.



**Figure 10 :** la structure chimique de secoisolariciresinol diglucoside, (+) SDG, (-) SDG (Ford et al., 2001).

Il a été observé que les graines de lin ont une activité antimicrobienne contre les bactéries gram positives alors qu'elles sont moins efficaces contre bactéries gram négatives (Fadzir et al., 2018 ; Gaafar et al., 2013 ; Homman, 2018) . La sensibilité aux molécules bioactives est différente entre bactéries Gram positives et Gram négatives et pourrait être attribuée aux différences dans les constitutions morphologiques de ces microorganismes (Pitchamuthu et al., 2012).

Les activités antibactériennes de l'huile de lin sont bien documentées et des effets variables ont été suggérés contre des bactéries testées. (Kaithwas et al., 2011) ont suggéré une efficacité de l'huile de lin contre un large spectre de bactéries comme *S. aureus*, *S.agalactiae*, *E. coli*, *E. faecalis*, et *M. luteus* avec une activité antimicrobienne comparable ou supérieure à celle du contrôle positif (cefax). D'après (Santos et al., 2018), l'huile de lin a présenté une activité antibactérienne significative contre *S.enteritidis* et *S.typhimurium*, cependant aucun effet inhibiteur contre *S. aureus*, *L. monocytogenes* et *B.cereus*. Les mêmes auteurs ont également suggéré que les pratiques de culture peuvent affecter les propriétés bioactives des huiles obtenues. Les huiles extraites des graines de plantes cultivées biologiquement étant plus puissantes que celles des plantes cultivées conventionnellement. Les huiles extraites par pression à froid dans l'étude de ont présenté une efficacité vis-à-vis d'*E.coli*, alors que celles extraites par soxhlet n'ont présenté aucun effet. Ceci peut être expliqué par le fait que la méthode d'extraction peut affecter la composition des huiles en acide gras. Dans leur rapport de synthèse, (Yoon et al., 2018), ont souligné le large spectre d'activité antibactérienne des lipides en mettant l'accent sur les acides gras à 18 carbones tels que l'acide  $\alpha$ -linoléique, linoléique et oléique, qui étaient les acides gras les plus répandus dans les huiles testées.

# ***CONCLUSION***

Après la synthèse de deux articles étudiés, nous pouvons dire que la recherche de nouvelles substances à activité biologiques et particulièrement antimicrobienne d'origine naturelle devient une nécessité pour la lutte contre les infections.

De ses travaux, il ressort que les techniques d'extraction utilisées affectent la composition de l'extrait et donc ses activités biologiques.

Les travaux menés ont montré que la meilleure méthode d'extraction des huiles de graines de lin est la pression à froid, c'est une méthode qui exclut non seulement l'utilisation de la chaleur mais aussi celle des solvants organiques qui sont avérés toxiques.

L'activité antibactérienne de l'huile végétale de (*Linum usitatissimum*) a été évaluée dans les deux articles consacrés à la croissance *in vitro* de différentes souches bactériennes de Gram positif et Gram négatif. Les meilleurs résultats sont obtenus avec *E.coli* dans l'étude de **Petropoulos et al., (2021)**, et *S.aureus* **Al-Mathkhury et al., (2016)**.

A travers ses résultats, d'autres recherches sont nécessaires pour évaluer les propriétés physico-chimiques et les composés bioactifs dans les mélanges des huiles étudiées ou dans les mélanges avec d'autres huiles végétales conventionnelles, car les effets synergiques peuvent améliorer les propriétés bioactives globales des huiles conventionnelles.

Comme il serait souhaitable d'évaluer l'activité antimicrobienne (antibactérienne, antifongique, et antibiofilm) des huiles extraites des plantes utilisées localement pour le traitement des infections microbiennes.

***RÉFÉRENCES***  
***Bibliographiques***

## A

1. **Al-Mathkhury , Al-Dhamin A.S., Lutfi Al Taie K.(2016)**,Antibacterial and Antibiofilm Activity of Flaxseed Oil Department of Biology, College of Science, University of Baghdad, Baghdad, Iraq., *Iraqi Journal of Science*. (57)1086-1095.
2. **ALachaher F. Z. (2018)**. Effet de la supplémentation des graines brunes de lin sur le profil lipidique et les statuts redox et inflammatoire, chez les rats rendus diabétique par streptozotocine. Thèse de Doctorat, Université d'Ahmed Benbella, Oran, Alger.
3. **Alioua M.A (2015)**. Les Staphylocoques : sensibilité aux antibiotiques et profil moléculaire de *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méthicilline. Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar- Annaba (Algérie); 20.
4. **Amirah D. M., Reddy P. (2012)**.Comparison of extraction techniques on extraction of Gallic acid from stem bark of *jatropha curcas*. *applied sciences* 12 : 1106-1111.
5. **Atefeibu E.S.I. (2002)**. Contribution à l'étude des tanins et de l'activité antibactérienne d'*Acacia Nilotica*Var *Andesonii*. Thèse de doctorat, Université cheikh AntaDiop de Dakar. :33.

## B

6. **Bahorun T. (1997)**. Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. *Food and agricultural resarch council, Réduit, Mauritius*. : 83-94.
7. **Bloedon L.T., Szapary P.O. (2004)**. Flaxseed and cardiovascular risk. *Nutrition Review*. 62 : 18-27.
8. **Bommareddy, A., Zhang, X., Schrader, D., Zeman, D., Matthees, D. P., Dwivedi, C. (2009)**. Effects of Dietary Flaxseed on Intestinal Tumorigenesis in ApcMin Mouse. *Nutrition and Cancer*. 61 :276–283.
9. **Bossokpi I. P. L. (2003)**. Etude des activités biologiques de *fagarazanthoxyloides Lam* (Rutaceae). Thèse doctorat, Université de Bamako : 8-10.
10. **Bruneton J. (1993)**. Pharmacognosie phytochimie des plantes médicinales. 2èmeEd. Paris ; Tec & Doc Lavoisier. 207-211.
11. **Bruneton J. (1999)**. Pharmacognosie phytochimie des plantes médicinales. 3èmeEd. Paris ; Tec & Doc Lavoisier. 207-211.

12. **Bruneton J. (1999)**. Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales. 3<sup>ème</sup> édition, *Tec et Doc (ED) Paris*. 658.
13. **Bruneton J. (2009)**. Pharmacognosie phytochimie des plantes médicinales. 4<sup>ème</sup>Ed. Paris ; *Tec & Doc Lavoisier*. 207-211.

## C

14. **Catier O., Roux D. (2007)**. Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie: *Cahiers du préparateur en pharmacie*. 3<sup>ème</sup> Ed. France, Wolters Kluwer.
15. **Collin S., Crouzet J. (2011)**. Polyphénols et procédés: Transformation des polyphénols au travers des procédés appliqués à l'agro-alimentaire. Paris, Tec & Doc Lavoisier.
16. **Coskuner Y., Karababa E. (2007)**. Some physical properties of flaxseed (*Linum usitatissimum* L.). *Journal of Food Engineering*.78 : 1067-1073.

## D

17. **D. Grigonis P.R., Venskutonis B., Sivik M., Sandahl C.S., Eskilsson. (2005)** ;Comparison of different extraction techniques for isolation of antioxidants from sweet grass (*Hierochloë odorata*), *The Journal of Supercritical Fluids*. 33: 223-233.
18. **Dacosta Y. (2003)**. Les phytonutriments bioactifs : 669 références bibliographiques. Edition. *Yves Dacosta, Paris*. 317.
19. **Daun J., Barthet V., Chornick T., Duguid S. (2003)** Structure, composition, and variety development of flaxseed. dans: *Flaxseed in Human Nutrition, Second Edition*. EdsThompson, L. U. and Cunnane, S. C., AOCS Press, Champaign, Illinois, USA : 1-40.
20. **Davido B. (2010)**. Etude de la prise en charge ambulatoire des infections cutanées communautaires à *Staphylocoque doré*. Thèse de Doctorat, Université Denis Diderot, Paris (France). 14-16.
21. **Diallo A.A. (2013)**. *Escherichia coli* pathogènes et résistantes aux antibiotiques dans les effluents d'origine humaine et animale : prévalence et caractérisation avant et après traitement épuratoire. Thèse de Doctorat, Université de Toulouse 3-Paul Sabatier – Toulouse (France) : 13-14
22. **Diederichsen A., Richards K. (2003)**. Cultivated flax and the genus *Linum* L. *Flax: the genus Linum*, :32-38.



## E

23. **Elicoh-Middleton J. R., Chithan K., Theoharis C. (2000).** Effect of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart diseases and cancer. *Pharmacology and Experimental therapeutics*. 4 : 673-751.
24. **Erlund I. (2004).** Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. *Nutrition Research*, 24 : 851-874

## F

25. **FADZIR U.A., DARNIS D.S., MUSTAFA B.E. and MOKHTAR K.I., (2018).** *Linum usitatissimum* as an antimicrobial agent and a potential natural healer: à review. *Archives of Orofacial Science*. 13 : 55-62.
26. **Fadzir U A., Darnis D.S., Mustapha B.E., Mokhtar K.I. (2018).** *Linum usitatissimum* as an antimicrobial agent and potentiel natural healer : A review. *Archives of Orofacial Sciences*. : 57-58.
27. **FAO (2012).** Guide pratique - Stockage et conservation des grains à la ferme. Site consulté le 13 mars 2012, [www.fao.org/Wairdocs/X5163F/X5163f02.htm](http://www.fao.org/Wairdocs/X5163F/X5163f02.htm)
28. **FAOSTAT** (page mise à jour le 7 janvier 2008) Base de données statistique de l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture <http://faostat.fao.org/>.
29. **Fernandes G.D., Gomez-Coca R.B., Perez-Camino M.C., Moreda W, Barrera-Arellano D. (2017)** .Chemical characterization of major and minor compounds of nut oils: almond, hazelnut, and pecan nut. *Journal of Chemistry*. :2609549
30. **Finimundy T.C., Karkanis A., Fernandes Â.,Petropoulos S.A., Calhelha R., Petrovi J., Sokovi M., Rosa E., Barros L.,Ferreira. (2020),** I.C.F.R. Bioactive properties of *Sanguisorba minor* L. cultivated in central Greece under different fertilization regimes.*Food Chemistry*.327, 127043.
31. **Ford J. D., Huang K. S., Wang H. B., Davin L. B.,Lewis N. G. (2001).**Biosynthetic Pathway to the Cancer Chemopreventive Secoisolariciresinol Diglucoside-Hydroxymethyl Glutaryl Ester-Linked Lignan Oligomers in Flax (*Linum usitatissimum*) Seed. *Journal of Natural Products*. 64 :1388-97.
32. **Freeman T. P. (1995).** Structure of flaxseed. *Dans: Flaxseed in human nutrition*. Cunnane S. C., Thompson L. U. eds., AOCS Press, Champaign, USA,

## G

33. **Gaafar A.A., Salama, Z.A., Askar M.S., El-hariri D.M., Bakry B.A., (2013).** *In vitro* antioxidant and antimicrobial activities of Lignan flax seed extract (*Linum usitatissimum L.*). *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 23 : 291-297
34. **Galvin JB. (1997).** Toxicity data for commercial hexane and hexane isomers. *Technology and solvents for extracting oilseeds and nonpetroleum Oils*. AOCS Press, : 75–85.
35. **Garcia-Salas P., Morales-Soto A., Segura-Carretero A. and Fernández-Gutiérrez A. (2010).** Phenolic-Compound-Extraction Systems for Fruit and Vegetable Samples. *Molecules*. 15 :8813-26.

## H

36. **Hall C. I., Tulbek M. C., Xu., Y. (2006).** Flaxseed. *Advances in Food and Nutrition Research*, 51 : 1-97.
37. **Halligudi N. (2012).** Pharmacological properties of flax seed Review *Hygeia. Journal for drugs and medicines* 4 : 70-77.
38. **Hocking P.J, Kirkegaard, J.A, Angus J.F. (1997).** Comparison of canola, Indian mustard and linola in two contrasting environments. I. Effects of nitrogen fertilizer on dry matter production, seed yield and seed quality. *Field Crops Research*, : 49, 23
39. **Homman W.A.A.M.M.,(2018).** Evaluation of antimicrobial activity of linseed (*Linum usitatissimum*) on different types of bacteria. Iraq: University of Basrah.
40. **Hopkins W. G. (2003).** *Physiologie végétale*. Ed. De Boeck Université, Bruxelles, :514.

## J

41. **Jonathan R.K. (1999).** Bacterial inhibition of fungal growth and pathogenicity. *Microbial Ecology in Health and Disease*.11: 129-142.
42. **Julien K. (2013).** *Les huiles végétales c'est malin*. Leduc.s Éditions, 22 août 2013 – 256. :13, 19, 20, 21, 35.

## K

43. **Kaithaws G., Dipak K., Majumdar. (2010).** Therapeutic effect of linum usitatissimum fixed oil on acute and chronic arthritic models in albino rats. *Inflammopharmacol* ; 18 ; 127-136

44. **Kaithwas, G., Mukerjee, A., Kumar P.; Majumdar, D.K. (2011)**, Linum usitatissimum (linseed/flaxseed) fixed oil: Antimicrobial activity and efficacy in bovine mastitis. *Inflammopharmacology* 19, 45–52. [CrossRef] [PubMed]
45. **Karleskind A. (1992)**. Détermination des caractéristiques physiques. dans: Manuel des corps gras. Karleskind A. ed., Lavoisier Tec & Doc, Paris, France, 2, :1290-1311.
46. **Kasote D. M., Hegde M. V. & Deshmukh K. K. (2011)**. Antioxidant activity of phenolic components from n- butanol fraction (PC-BF) of defatted flaxseed meal. *American Journal of Food Science and Technology*. 6 :604- 612.
47. **Kızılkaya B. (2012)**. Evaluation of fatty acid composition, antioxidant and antimicrobial activity, mineral composition and 3172 *J Food Sci Technol (August 2018)* 55(8):3163–3173 123 calories values of some nuts and seeds from Turkey. *Records of Natural Products* .6:339–349
48. **Krisa S., WaffoTeguo P., Decendit A., Deffieux G., Huguet F., Fauconneau B. and Mérillon JM. (1997)**. Production, purification et activité biologique des picéïdes (stilbènes) extraits de cultures cellulaires de *vitisvinifera* L. *Bulletin de la Société de pharmacie de Bordeaux*, 136 : 7-18.
- L**
49. **Labalette F., Landé N., Wagner D., Roux-Duparque M., Saillet E. (2011)**. La filière lin oléagineux française : panorama et perspectives. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*. 18 : 113-122.
50. **Laiq Khan M., Sharif M., SarwarSameea M., Ameen M. (2010)**. Chemical composition of different varieties of linseed. *Pakistan veterinary Journal* 30 : 79-82.
51. **Lafond G.P, Irvine B, Johnston A.M, May W.E, Mcandrew D.W, Shirliffe S.J, Stevenson F.C. (2008)**. Impact of agronomic factors on seed yield formation and quality in flax. *Canadian Journal of Plant Science*. 88(3): 485-500.
52. **Lamblin F., Hanou C., Fliniaux O., Mesnad F., Fliniaux M. A., Lainé E. (2008)**. Intérêt des lignanes dans la prévention et le traitement des Cancers. *Médecine/ Sciences*, 24,: 512-513.
53. **Lebham. (2005)**. Thèse au Laboratoire d'Ecophysiologie et de Biotechnologie des Halophytes et des Algues. 2005 Institut Universitaire Européen de la Mer (IUEM)- Université de Bretagne Occidentale (UBO).
54. **Létard J.C, Canard J.M, Costil V., Dalbiès P., Grunberg B., Lapuelle J. (2015)**. Phytothérapie Principes Généraux. *Hegel*. (1) 29-35.
55. **Lugasi A., Hovari J., Sagi K.V., Biro L. (2003)**. The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta Biologica Szegediensis*. 47(1-4) : 119-125.

56. **Luque de Castro M.D., Garcia-Ayuso L.E. (1998)** Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future, *Analytica Chimica Acta* 369 ; 1- 10.

## M

57. **Madi A. (2010)**: Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Saugé) et la mise en évidence de leurs activités biologiques, Mémoire de Magister, Université Mentouri Constantine.
58. **Mami A. (2013)**. Recherche des bactéries lactiques productrices de bactériocines à large spectre d'action vis-à-vis des germes impliqués dans les toxi-infections alimentaires en Algérie. Thèse de Doctorat, Université d'Oran, Oran (Algérie). : 41-42.
59. **Matar G.M. (2018)**. Editorial: Pseudomonas and Acenitobacter. From Drug resistance to pathogenesis *Front Cell Infect Microbiol.*8. :68.
60. **Muir A. D., Neil D. (2003)**. Flax the genus *linum* Westcott Agriculture and Agri-Food Canada, Saskatoon, Saskatchewan, Canada.
61. **Muir A. D., Westcott N. D. (2003)**. Flax, The genus *Linum*. Taylor & Francis Group. Canada, p.22-25.

## N

62. **Nesbitt P. D., Lam Y., Thomposo L. U. (1999)**. Human metabolism of mammalian lignan precursors in raw and processed flaxseed *American journal of clinical nutrition*.69:549-555.

## O

63. **O'kennedy R., Thornes R.D. (1997)**. Coumarins–Biology, Applications and Mode of Action, John Wiley & Sons Ltd., *Chichester, Eds*, :315
64. **Orm R.B, Citeau M., Comitis A., Savoie R., Harscoat-Schiavo C., Subra-Paternault P., Carré P., Leaoand JD. , Joffre F. (2020)**, Walnut oil deacidification by liquid–liquid extraction with ethanol in a single- and multistage crossflow process ; Hosted by EDP Sciences. 27, 35.
65. **Oomah B. D. (2001)**. Flaxseed as a functional food source. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 81: 889-894.

66. **Oomah B. D., Mazza G. (1999).** Health benefits of phytochemicals from selected Canadian crops. *Trends in Food Science & Technology*. 10 : 193-198.

## P

67. **Pag AI., Radu RG., Draganescu D., Popa MI and Sirghie C. (2014).** Flaxseed cake : a sustainable source of antioxydant and antimicrobial extracts. *Cell Chem Technol.*48,: 265-273.
68. **Papadopoulos K., Triantis T., Yannakopoulou E., Nikokavoura A., Dimotikali D. (2003)** Comparative studies on the antioxidant activity of aqueous extracts of olive oils and seed oils using chemiluminescence. *Analytica Chimica Acta*. 494:41–47.
69. **Petropoulos S.A., Fernandes Â.; Calhelha R.C., Roupheal Y., Petrović, J., Soković M., Ferreira I.C.F.R., Barros. ( 2021)** L. Antimicrobial Properties, Cytotoxic Effects, and Fatty Acids Composition of Vegetable Oils from Purslane, Linseed, Luffa, and Pumpkin Seeds. *Applied Sciences*.11, 5738.
70. **Pitchamuthu A, Muthiah G, Rajaram P (2012)** Preliminary study on the antimicrobial activity of *Enicostemma littorale* using different solvents. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 5: 552-555.

## R

71. **Rapport L., Lockwood B. (2001).** Flaxseed and flaxseed oil. *The Pharmaceutical Journal*. 266 : 287-289.
72. **Renouard S. (2011).** *Régulation transcriptionnelle de la biosynthèse des lignanes du lin (linum usitatissimum et linum flavum) et amélioration de l'extraction de Lignanes.* Science du vivant, Thèse de doctorat (Université d'Orléans), p231.

## S

73. **Santos J.S., Escher G.B., da Silva Pereira J.M., Marinho M.T., Prado-Silva L.d., Sant A.A.S., Dutra L.M., Barison A., Granato D. (2018),** 1H NMR combined with chemometrics tools for rapid characterization of edible oils and their biological properties. *Industrial Crops and Products*. 116 : 191–200.
74. **Sarajlija H., Čukelj N., Novotni D., Mršić G. (2012).** Preparation of Flaxseed for lignan determination by gas chromatography-mass spectrometry method. *Czech Journal of Food Sciences*. 30: 45–52.
75. **Sarni-Manchado P., Cheynier V. (2006).** Les polyphénols en agroalimentaire. Ed. Tec &Doc, Paris, : 2-10.

76. **Savoire R. (2008).** *Etude multi-échelles de la séparation solide-liquide dans la trituration du lin oléagineux*, Thèse de doctorat (Université de Technologie, Compiègne),
77. **Sepúlveda E., Sáenz C., Aliaga E., Aceituno C. (2007).** Extraction and characterization of mucilage in *Opuntia* spp. *Journal of Arid Environments*. 68 : 534-545.
78. **Shim Y. Y., Gui B., Arnison P. G., Wang Y. et Reaney M. J. T. (2014).** Flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) bioactive compounds and peptide nomenclature. *Trends Food sics Technol.* 38: 5-20.
79. **Solène J. (2012).** La qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et sur leur toxicité. Thèse de diplôme d'état de docteur en pharmacie, Faculté de pharmacie, Université de Lorraine.
80. **Stöckigt J., Sheludk Y., Unger M., Gerasimenko I., Warzecha H. and Stöckigt D. (2002).** High performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoretic electrospray ionisation mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups. *Journal of chromatography a.*967 (1) : 85-113.
81. **Sultana C. 1992.** Le lin oléagineux. Dans : Manuel des corps gras. Karleskind A. édition., *Lavoisier Technique et documentation, Paris, France.*, 1 :154-157.

## T

82. **Thompson, L.U. (2003).** Flaxseed in human nutrition, 2nd Edition, *AOCS Press, Champaign, Illinois*, 458.
83. **Tian X., Zheng X., Sun Y., Fang R., Zhang S., Lin J., Cao J and Zhou T. (2020).** Molecular Mechanisms and Epidemiology of Carbapenem Resistant *Escherichia coli* isolated from chinese patients during 2002-2017. *Infection and Drug Resistance*.13 : 501-512.
84. **Tkhilaishvili T., Wang L., Tavanti A., Trampuz A., Diluca M . (2020).** Antimicrobial Efficacy of Two Commercially Available Bacteriophage Formulation, Staphylococcal Bacteriophage against Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* . Prevention and Eradication of Biofilm formation and control of a systemic Infection of *Galleria mellonella* Larvae. *Frontiers in Microbiology*. 11: 1-2.

## V

85. **Valgas C., de Souza S., Elza F., Smânia J.R. A. (2007).** Screening methods to determine antibacterial activity of natural products. *Brazilian Journal of Microbiology*.38 : 369-380.
86. **Vidic J., Chaix C., Manzano M and Heyndrickx M. (2020)** Food sensing : Detection of *Bacillus cereus* spores in Dairy Products Biosensors.10:2-4.

## W

87. **Wang and C. L. Waller. (2006)** ; Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants, *Trends in Food Science & Technology*, 17 : 300 – 312.
88. **Warrand J. (2004)**. Etude structurale et propriétés en solution des polysaccharides constitutifs du mucilage de lin (*Linum usitatissimum*), *Thèse de l'Université de Picardie Jules Verne*, Amiens. 220.
89. **Wegrzyn R., Lamendinh H. (2005)**. Huiles essentielles et aromathérapie bucco-dentaire. *Le Chirurgien-dentiste de France*.1225 : 62-66.

## Y

90. **Yobouet B.A. (2016)**. Contamination du lait cru et de l'attiéké vendus sur les marchés informels à Abidjan (Côte d'Ivoire) par le groupe *Bacillus cereus* et analyse des risques. Thèse de Doctorat, Université Nangui Abrogoua. Côte d'Ivoire : 37-38.
91. **Yoon B.K., Jackman J.A., Valle-González E.R., Cho N.J. (2018)**, Antibacterial Free Fatty Acids and Monoglycerides: Biological Activities, Experimental Testing, and Therapeutic Applications. *International Journal of Molecular Sciences*.19 : 1114.

## Z

92. **Zenk M. H., Juenger M. (2007)**. Evolution and current status of the phytochemistry of Nitrogenous compounds. *Phytochemistry*, 68 : 2757-2772.
93. **Zhao S., Chen J., Fei P., Feng H., Wang Y., Ali Md., Li S., Jing H and Yang W., J. Dairy Sci. (2020)**. Prevalence, molecular characterization and antibiotic susceptibility of *Bacillus cereus* isolated from dairy products in China. *Journal of Dairy Science*.103 : 4-5.
94. **Zuk M., Dorotkiewicz-Jack A., Drulis-Kawa Z., Arendt M., Kulma A., Szopa J. (2014)**. Bactericidal activities of GM flaxseed extract on pathogenic bacteria clinical strains. *BMC Biotechnologie*.40, : 70

# *ANNEXES*





ISSN: 0067-2904

GIF: 0.851

## Antibacterial and Antibiofilm Activity of Flaxseed Oil

Harith Jabbar Fahad Al-Mathkhury<sup>1</sup>, Ahmed Saad Al-Dhamin, Khamael Lutfi Al-Taie  
Department of Biology, College of Science, University of Baghdad, Baghdad, Iraq

### Abstract:

The present study aimed to explore the antibacterial and antibiofilm activity of flaxseed oil on some locally isolated bacterial pathogens. No inhibitory effect was noticed against *Escherichia coli* or *Enterococcus faecalis*. However, variable effects were developed against Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), methicillin sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA), *Klebsiella pneumoniae* and *Staphylococcus epidermidis*. The flaxseed exhibited antibiofilm activity against all tested bacterial isolates (MSSA, MRSA, *S. epidermidis* and *K. pneumoniae*) and showed various degrees of inhibition against them. Experimental wounds were healed by application of flaxseed oil. In conclusion, flaxseed oil is a good alternative medication can be used to treat wound infection caused by bacteria.

**Keywords:** Flaxseed, MSSA, MRSA, Antibacterial, Antibiofilm

## الفعالية ضد بكتيرية و ضد الغشاء الحيائي لزيت بذور الكتان

حارث جبار فهد المذخوري\*، احمد سعد الضامن، خمائل لطفي الطائي

قسم علوم الحياة، كلية العلوم، جامعة بغداد، بغداد، العراق

### الخلاصة

هدفت هذه الدراسة لإيضاح الفعالية ضد بكتيرية و ضد الغشاء الحيائي لزيت بذور الكتان على بعض الممرضات البكتيرية المعزولة محليا لم تلحظ فعالية تثبيطية ضد الايشريكية القولونية او المكورات المعوية البرازية. في حين كانت هناك تأثيرات متغايرة ضد المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للمثيسيلين والمكورات العنقودية الحساسة للمثيسيلين والكلبيسيلا الرئوية والمكورات العنقودية البشرية. أظهرت بذور الكتان فعالية ضد الغشاء الحيائي للبكتيريا قيد الدراسة (المكورات الذهبية المقاومة للمثيسيلين والمكورات العنقودية الحساسة للمثيسيلين و الكلبيسيلا الرئوية و المكورات العنقودية البشرية ) وبدرجات تثبيط متفاوتة. تم شفاء الجروح التجريبية بفعل زيت بذور الكتان. تم الاستنتاج من الدراسة ان زيت بذور الكتان من البدائل العلاجية الناجحة ومن الممكن ان يستعمل لعلاج خمج الجروح المصابة بالبكتيريا قيد الدراسة.

### Introduction

Infectious disease caused by bacteria, viruses and fungi are still a serious problem in public health. In Iraq it is estimated that over 90% of bacterial pathogens are resistant to antibiotics [1-4]. The increase in multidrug resistance of pathogenic bacteria has led to an urgent need for identifying alternative strategies to counter bacterial infection [5]. A biofilm is a structured consortium of bacteria embedded in a self-produced polymer matrix consisting of polysaccharide, protein and DNA. Bacterial biofilms cause chronic infections because they show increased tolerance to antibiotics and disinfectant chemicals as well as resisting phagocytosis and other components of the body's defence system [6]. The latest researches have been focused on identifying the potential antimicrobial agents from the natural resources. The antimicrobial activity of plant extracts has been known for many years, as plants are known to produce useful antimicrobial phytochemicals [7].

1Email: harithfahad@scbaghdad.edu.iq

## Antimicrobial Properties, Cytotoxic Effects, and Fatty Acids Composition of Vegetable Oils from Purslane, Linseed, Luffa, and Pumpkin Seeds

Spyridon A. Petropoulos <sup>1,\*</sup>, Ângela Fernandes <sup>2</sup>, Ricardo C. Calhelha <sup>2</sup>, Youssef Rouphael <sup>3</sup>,  
Jovana Petrovic <sup>4</sup>, Marina Sokovic <sup>4</sup>, Isabel C. F. R. Ferreira <sup>2</sup> and Lillian Barros <sup>2,\*</sup>

- <sup>1</sup> Laboratory of Vegetable Production, Department of Agriculture, Crop Production and Rural Environment, University of Thessaly, Fytokou Street, N. Ionia, 384 46 Volos, Greece
- <sup>2</sup> Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolonia, 5300-253 Bragança, Portugal; afeitor@ipb.pt (Â.F.); calhelha@ipb.pt (R.C.C.); iferreira@ipb.pt (I.C.F.R.F.)
- <sup>3</sup> Department of Agricultural Sciences, University of Naples Federico II, Via Università 100, 80055 Portici, Italy; youssef.rouphael@unina.it
- <sup>4</sup> Institute for Biological Research "Sinisa Stankovic" – National Institute of Republic of Serbia, University of Belgrade, Bulevar Despota Stefana 142, 11000 Belgrade, Serbia; jovana0303@ibiss.bg.ac.rs (J.P.); mris@ibiss.bg.ac.rs (M.S.)

\* Correspondence: spetropoulos@uth.gr (S.A.P.); lillian@ipb.pt (L.B.);

Tel.: +30-242-109-3196 (S.A.P.); +351-273-330-901 (L.B.)

©check for updates

Citation: Petropoulos, S.A.; Fernandes, Â.; Calhelha, R.C.; Rouphael, Y.; Petrovic, J.; Sokovic, M.; Ferreira, I.C.F.R.; Barros, L. Antimicrobial Properties, Cytotoxic Effects, and Fatty Acids Composition of Vegetable Oils from Purslane, Linseed, Luffa, and Pumpkin Seeds.

*Appl. Sci.* **2021**, *11*, 5738. <https://doi.org/10.3390/app11125738>

Academic Editors:

Gwiazdowska Daniela,  
Krzysztof JuS and Katarzyna  
Marchwinska

Received: 15 May 2021

Accepted: 18 June 2021

Published: 21 June 2021



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

**Featured Application:** Vegetable oils are a rich source of fatty acids and bioactive compounds with numerous beneficial effects to human health. The presented results showed that seed oils of linseed, purslane, luffa, and pumpkin have significant antimicrobial properties that could find application in the food industry as functional ingredients or as non-synthetic antimicrobial agents in the design of new healthy food products. Moreover, they could be used in mixtures with other oils to design new vegetable oils with functional properties and enhance content in omega-3 fatty acids.

**Abstract:** In the present study, the antimicrobial and cytotoxic activities, as well as the fatty acids composition in vegetable seed oils from linseed, purslane, luffa, and pumpkin were evaluated. For this purpose, two linseed oils and one luffa oil were commercially obtained, while purslane and pumpkin oils were obtained from own cultivated seeds. The results showed a variable fatty acids composition among the tested oils, with -linolenic, linoleic, oleic, palmitic, and stearic acid being the most abundant compounds. In regards to particular oils, linseed oils were a rich source of -linolenic acid, luffa and pumpkin oil were abundant in linoleic acid, while purslane oil presented a balanced composition with an almost similar amount of both fatty acids. Luffa oil was the most effective against two of the tested cancer cell lines, namely HeLa (cervical carcinoma) and NCI-H460 (non-small cell lung cancer), while it also showed moderate toxicity against non-tumor cells (PLP2 cell line). Regarding the antibacterial activity, linseed oil 3 and pumpkin oil showed the highest activity against most of the tested bacteria (especially against *Enterobacter cloacae* and *Escherichia coli*) with MIC and MBC values similar to the used positive controls (E211 and E224). All the tested oils showed significant antifungal activities, especially luffa and pumpkin oil, and for most of the tested fungi they were more effective than the positive controls, as for example in the case of *Aspergillus versicolor*, *A. niger*, and *Penicillium verrucosum* var. *cyclopium*. In conclusion, the results of our study showed promising antimicrobial and cytotoxic properties for the studied seed oils which could be partly attributed to their fatty acids composition, especially the long-chain ones with 12-18 carbons.

**Keywords:** seed oils; antibacterial properties; cytotoxicity; antifungal properties; omega-3 fatty acids; omega-6 fatty acids; antitumor activities; *Portulaca oleracea* L.; *Luffa aegyptica* Mill.; *Cucurbita maxima* L.; *Linum usitatissimum* L.

