



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOULOUD MAMMERI DE TIZI-OUZOU
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES
DEPARTEMENT BIOCHIMIE-MICROBIOLOGIE.

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER ACADIEMIQUE

Filière: Sciences Biologiques.

Option : Biotechnologie Microbienne.

Thème :

**Elaboration et caractérisation des formes
nutraceutiques fonctionnelles à base de fruit
de gombo et des graines de lin**

Travail réalisé par:

M^{elle} : ARABI Meriem

M^{elle} : RENIFFI Tinhinane

Proposé et dirigé par :

M^{elle} BENAHMED DJILALI Adiba

Promotrice Professeur à l'UMMTO

Devant le jury :

Président : Mr AMIR Y

Professeur à l'UMMTO

Examinatrice : Mme DERMECHE S

Maitre Conférences classe B à l'UMMTO

Année : 2020/2021

Remerciements

L'information et la formation ne sont que des directives, mais le fruit et l'épanouissement en sont la résultante.

Nous tenons à remercier le bon « DIEU » le tout puissant, de nous avoir donné la santé, la force, le courage, la patience et la volonté pour accomplir ce modeste travail.

Nous tenons à adresser nos sincères remerciements à notre promotrice Mme BENAHMED DJILALI Adiba, professeur au Département de Microbiologie –Biochimie, Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, Université de Mouloud Mammeri Tizi Ouzou pour avoir encadré ce travail, pour sa disponibilité, sa rigueur scientifique et ses conseils ainsi que pour ses qualités relationnelles.

A tout le personnel du laboratoire du Département de Microbiologie-Biochimie Pour leur sympathique accueil et toute sa bonne collaboration. Je vous prie d'agréer l'expression de ma profonde gratitude

Un grand merci pour Mr AMIR Y. Professeur à la faculté des Sciences Agronomiques et des Sciences Biologiques à l'Université Mouloud Mammeri pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant la présidence de ce jury.

Et à Madame DERMECHE S. Maître Conférences (B) à la faculté des Sciences Agronomiques et des Sciences Biologiques, Université Mouloud Mammeri d'avoir accepté d'examiner notre travail.

A tous les étudiants de Master 2 de la promotion 2020/2021.

A tous les enseignants de l'UMMTO

A la famille RENIFFI et ARABI

Tous mes sincères remerciements aux responsables des Laboratoires de Recherche à l'Université de Boumerdès (Unité de Recherche et laboratoire de Chimie pharmaceutique)

d'avoir m'accorder de réaliser des analyses rhéologiques et d'extraction de la matière grasse.

A nos amis (es) : Trouvez ici l'expression de ma sincère admiration.

Nous sommes très reconnaissantes envers toute personne, qui nous a aidés à réaliser ce travail.

Dédicace

*A mes chers parents : **MOHAMED & LOUIZA***

Sources de mes joies, secrets de ma force

Vous serez toujours le modèle

Papa, dans ta détermination, ta force et ton honnêteté.

Maman dans ta bonté, ta patience et ton dévouement pour

nous

Merci pour tous vos sacrifices pour que vos enfants

grandissent et prospèrent

Merci de trimer sans relâche, malgré les péripéties de la vie

au bien être de vos enfants

Merci d'être tout simplement mes parents

C'est à vous que je dois cette réussite

et je suis fière de vous l'offrir .

A mes grands mères

AYO Dahbia** et **JIDA Fatima

Que Dieu vous garde pour nous .

*A mes frères **Younes** et **Amrane***

*A mes cousines **Nawal** et **Lynda**, qui m'ont toujours indiqué*

la bonne voie et qui ont su m'aider.

A mes tantes et mes oncles

*A mes amis **Lilia**, **Zina**, **Sarah**, **Soraya**.*

ARABI Meriem

Dédicace

Louange à Dieu tout puissant, qui m'a permis de voir ce jour tant attendu

*je dédie cette thèse : Amon très cher père **Ahmed RENIFFI***

Tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux, honnête, de la personne méticuleuse, je tiens à honorer l'homme que tu es.

Grace à toi papa j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Je voudrais te remercier pour ton amour, ta générosité, ta compréhension... Ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours.

Aucun dédicace ne saurait exprimer l'amour l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour toi.

Ce modeste travail est le fruit de tous les sacrifices que tu as déployés pour mon éducation et ma formation. Je t'aime papa et j'implore le tout puissant pour qu'il t'accorde une bonne santé et une bonne santé et une vie longue et heureuse

A Ma chère mère : Rosa ZEROUKI

Autant de phrases et d'expressions aussi éloquentes soit-elles ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance. Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Ta patience sans fin, ta compréhension et ton encouragement sont pour moi le soutien indispensable que tu as toujours su m'apporter. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir. que Dieu le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et te protège de tout mal, je t'aime maman.

A mon très cher frère : Massinissa RENIFFI

A tous les moments d'enfance passés avec toi mon frère, en gage de ma profonde estime pour l'aide que tu m'as apporté. Tu m'as soutenu, réconforté et encouragé. Puissent nos liens fraternels se consolider et se pérenniser encore plus, et je te souhaite que de la réussit et de bonheur, je t'aime.

A tout ma famille : (mes grandes parent, mes oncles et mes tantes) paternelles et maternelle

Aucun langage ne saurait exprimer mon respect et ma considération pour votre soutien et encouragements. Je vous dédie ce travail en reconnaissance de l'amour que vous m'offrez quotidiennement et votre bonté exceptionnelle. Que Dieu le Tout Puissant vous garde et vous procure santé et bonheur

A tout mes amies :

Plus particulièrement à Meriem Pour l'attention particulière que tu m'as toujours portée et aide inconditionnelle dans la réalisation de ce travail.

RENIFFI Tinhinane

Résumé

La présente étude a pour but d'élaborer et de caractériser des formes nutraceutiques fonctionnelles à base de fruit de gombo et de la graine de lin à des fins d'utilisation contre les problèmes gastriques.

Le screening phytochimique du fruit de gombo et de la graine de lin a été réalisé. En outre, l'évaluation de certains paramètres physico-chimiques (pH, acidité, vitamine C, sucres totaux) de fruit de gombo séché à différentes conditions de séchage et de la graine de lin a été aussi réalisée.

Quatre gels fermentés ont été préparés à base de fruits de gombo, de la poudre de la graine de lin, du lait (en poudre instantanée ou liquide) et de bactéries lactiques. L'ensemble des formulations ont été caractérisées de point de vue physico-chimique, teneurs en substances bioactives (polyphénols totaux, flavonoïdes et caroténoïdes), rhéologique (viscosité) et galénique (possibilité de pastillage) et pharmacodynamique (gonflement et libération des substances bioactives).

Les résultats d'analyse phytochimique démontrent que le fruit de gombo est riche en coumarines, saponosides, flavonoïdes et en tanins galliques et que la graine de lin est riche flavonoïdes et en coumarines. L'huile de lin est riche en acides gras insaturés (Acide Myristique (0,05%) , Acide palmitique (5,31%) ,Acide palmitoléique (0,05%), Acide stéarique (4,84%) , Acide oléique (20,21%), Acide linoléique (15,96%), Acide linoléique (52,69%), Acide Arachidonique (0,13%), Acide gondoïque (0,28%) ,Acide Béhenique (0.10%)).

L'ensemble des extraits éthanoliques des formulations (F1, F2, F3 et F4) possède une activité antioxydante avec des pourcentages d'inhibition respectivement (77,26%, 39,3%, 30,3%, 40,09%).

Les résultats d'activité antimicrobienne ont révélé que les extraits éthanolique de l'infusé de gombo, graines de lin, F1, F2 , F3 et F4 exercent une inhibition des deux souches *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Staphylococcus aureus* MU 50 avec des zones d'inhibition respectivement égales 9 mm, 13 mm, 9,3 mm, 11 mm , 0 mm, 7 mm , 0 mm, 11,6mm ,13mm, 9 mm ,9 mm, 9 mm , Par contre, les deux souches *Enterococcus faecalis* et *Bacillus creus* s'avèrent résistantes contre ces deux extraits.

Mots clés: *Albomuschus esculentus*, *Linum usitatissimum*, gels, pastilles, activités antioxydante et antimicrobienne.

Abstract

The present study aims to develop and characterize functional nutraceutical forms based on okra fruit and flaxseed for use against Gastric problems.

Phytochemical screening of okra fruit and flaxseed was performed. In addition, the evaluation of some physicochemical parameters (pH, acidity, vitamin C, total sugars) of dried okra fruit at different drying conditions and flaxseed was also performed.

Four fermented gels were prepared from okra fruit, flaxseed powder, milk (instant or liquid powder) and lactic acid bacteria. All the formulations were characterized from physicochemical point of view, contents of bioactive substances (total polyphenols, flavonoids and carotenoids), rheological (viscosity) and galenic (possibility of pastillage) and pharmacodynamic (swelling and release of bioactive substances).

The results of the phytochemical analyses show that okra fruit is rich in coumarins, saponosides, flavonoids and gall tannins and that flax seed is rich in flavonoids and coumarins. Flaxseed oil is rich in unsaturated fatty acids (Myristic acid (0,05%), palmitic acid (5,31%), palmitoleic acid (0,05%), Stearic acid (4,84%), Oleic acid (20,21%), Linoleic acid (15,96%), Linolenic acid (52,69%), Arachidonic acid (0,13%), Gondoic acid (0,28%), Behenic acid (0,10%)).

All the ethanolic extracts of the formulations (F1, F2, F3 and F4) have an antioxidant activity with percentages of inhibition respectively (77,26%, 39,3%, 30,3%, 40,09%).

The antimicrobial activity results revealed that the ethanolic extracts of the infused okra, flaxseed, F1,F2 ,F3 and F4 exerted inhibition of both *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Staphylococcus aureus* MU 50 strains with equal inhibition zones 9 mm, 13 mm, 9,3 mm, 11 mm , 0 mm, 7 mm , 0 mm, 11,6mm ,13mm, 9 mm , 9 mm, 9 mm , On the other hand, the two strains *Enterococcus faecalis* and *Bacillus creus* were found to be resistant against these two extracts.

Key words: *Albomuschus esculentus*, *Linum usitatissimum*, gels, lozenges, antioxidant and antimicrobial activities

Liste d'abréviation

µg EAG/g MS : Microgramme d'Equivalent d'Acide Gallique par gramme de la Matière Sèche

µg EQ/g MS : Microgramme d'Equivalent de Quercitrine par gramme de la Matière Sèche.

DO: Densité optique

IG: Indice de gonflement

MG: Matière grasse

MH: Mueller Hinton

MO: Matière organique

MS : Matière sèche

P : masse de la prise d'essai

R(%) : rendement en pourcentage

V : volume de la prise d'essai

TABLE DES MATIERES

Résumés

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction générale.....	1
Chapitre 1: Généralités sur le gombo (<i>Albomuschus esculentus</i> L.).....	3
1 Origine	3
2 Description botanique.....	3
3 Classification	4
4 Taxonomie	4
5 Composition biochimique.....	5
6 Activités pharmacologiques.....	6
6.1 Activité antidiabétique.....	6
6.2 Activité anticancéreuse	6
6.3 Effet sur la digestion.....	6
6.4 Effet sur le système de défense de l'organisme	7
6.5 Activité antibactérienne	7
6.6 Impact socio-économique.....	7
6.7 Production mondiale.....	8
Chapitre II: Généralités sur la graine de lin.....	9
1 Origine et généralités	9
2 Description botanique.....	9
3 Classification	10
4 Variétés.....	11
5 Morphologie	11
5.1 Morphologie des graines	12

6	Utilisations traditionnelle et moderne.....	12
7	Production mondiale.....	15
Chapitre III: Généralités sur les métabolites secondaires.....		16
1	Généralités sur les composés polyphénoliques.....	16
	□ Classification.....	16
2	Flavonoïdes.....	17
	□ Classification.....	18
3	Tannins	18
	□ Classification.....	18
4	Coumarines.....	18
	□ Classification.....	19
5	Généralités sur les polysaccharides	19
	□ Classification.....	19
6	Mucilages.....	20
7	Caroténoïdes	20
8	Définition d'un antioxydant.....	20
8.1	Systèmes de défenses d'antioxydants.....	20
8.1.1	Antioxydants endogènes enzymatiques	20
8.1.2	Antioxydants exogènes non enzymatiques	21
Chapitre IV : Généralités sur la flore intestinale		22
1	Définition.....	22
2	Composition classique de la flore humaine	23
2.1	Flore gastrique	23
2.2	Flore intestinale	24
3	Interactions bactériennes dans le tube digestif	24
3.1	Antagonisme bactérien	25
3.2	Effet synergique.....	25

4	Déséquilibres du microbiote (dysbiose) et pathologies intra-intestinales	25
5	Pharmacobiotique	26
	Chapitre V: Matériel et méthodes	27
1	Cadre de l'étude.....	27
2	Matériel.....	27
2.1	Matériel végétal	27
2.2	Matériel Biologique	28
2.3	Préparation des poudres de fruit de gombo et la graine de lin.....	28
2.3.1	Elaboration des formulations nutraceutiques	28
2.4	Matériel du laboratoire et produits utilisés	29
3	Méthodes d'analyses.....	29
3.1	Caractérisation morphologique de fruit de gombo et de la graine de lin.....	29
3.1.1	Mesure de poids moyen	29
3.2	Analyse phytochimique de fruit de gombo et de la graine de lin	29
3.2.1	Préparation de l'infusion.....	29
3.2.1	Les anthocyanes	30
3.2.2	Les tannins	30
3.2.3	Les tannins galliques.....	30
3.2.4	Les flavonoïdes	30
3.2.5	Les saponosides	30
3.2.6	Les quinones libres	30
3.2.7	Les quinones combinées	31
3.2.8	Les alcaloïdes.....	31
3.2.9	Les glucosides.....	31
3.2.10	Les coumarines.....	31
3.2.11	Les sennosides.....	31
3.3	Caractérisation physico-chimique des fruits de gombo et la graine de lin	32

3.3.1	Détermination de la teneur en eau.....	32
3.3.2	Mesure de pH (NF V 05-108, 1997).....	32
3.3.3	Détermination de la teneur en cendres (NF V 05-113, 1972).....	33
3.3.4	Détermination de l'acidité titrable (NF V 05-101, 1974).....	34
3.3.5	Dosage des sucres	34
3.3.6	Dosage de l'acide ascorbique.....	36
3.4	Extraction et dosage des substances bioactive.....	37
3.4.1	Extraction de matière grasse par soxhlet.....	37
3.4.2	Dosage des polyphénols totaux.....	38
3.4.3	Dosage des flavonoïdes.....	39
3.4.4	Dosage des caroténoïdes	41
	Mode opératoire.....	41
3.4.5	Extraction de mucilage du gombo et la graine de lin.....	41
3.5	Indice de gonflement des poudres des formulations élaborées	41
3.5.1	Principe	41
3.5.2	Mode opératoire	42
3.6	Pastillage de poudres des formulations élaborées	42
3.6.1	Protocole opératoire	42
3.7	Analyses galéniques des pastilles	43
3.8	Taux de gonflement	43
3.9	Activité antioxydante.....	44
3.9.1	Test du DPPH	44
3.10	Mesure de la viscosité des gels élaborés.....	45
3.10.1	Mode opératoire	45
3.11	Analyse par microscope électronique à balayage (MEB).....	45
3.12	Activité antimicrobienne des extraits éthanolique préparés à base de la poudre de fruit de gombo et la poudre de la graine de lin et les quatre formulations élaborées	46

3.12.1	Principe.....	46
3.12.2	Préparation des milieux de culture	46
3.12.3	Préparation des disques	46
3.12.4	Préparation des prés cultures.....	47
3.12.5	Standardisation des suspensions bactériennes.....	47
3.12.6	Mise en évidence de l'activité antibactérienne par la méthode des disques	47
3.12.7	Lecture.....	47
Chapitre VI: Résultats et discussion.....		49
1	Résultats de la caractérisation morphologique du fruit de gombo et des graines de lin	49
2	Résultats d'analyse phytochimique du fruit de gombo et des graines de lin.....	49
3	Caractérisation physico-chimique de fruit de gombo et des graines de lin	51
3.1	Résultats des formulations élaborées F1, F2, F3, F4	53
4	Résultat des extraction et dosage des substances bioactives	54
4.1	Résultats d'extraction de la matière grasse des graines de lin.....	54
4.2	Résultats du dosage des polyphénols totaux du fruit de gombo, les graines de lin et les formulations élaborées	56
4.3	Résultats d'analyse des flavonoïdes	57
4.4	Résultats du dosage des caroténoïdes	58
4.5	Résultats d'extraction du mucilage des graines de lin et le fruit de gombo	59
5	Résultats d'indice de gonflement de différentes formulations en poudre	59
6	Résultats de caractéristiques physiques des pastilles.....	60
6.1	Taux de gonflement des pastilles.....	61
6.2	Résultats du test de libération des flavonoïdes des pastilles des formulations F1, F2,F3, F4 , et celles de la graine de lin dans l'eau distillée	64
7	Résultats de l'activité anti-oxydante.....	65
8	Résultats d'analyse de la viscosité des gels des formulations (F1, F2, F3 et F4).....	67
9	Résultats d'analyse par Microscope Electronique à Balayage (MEB)	68

10 Activité antimicrobienne des extraits éthanoliques des quatre formulations (F1, F2, F3 et F4), fruits de gombo et les graines de lin 70

Conclusion générale 72

Références bibliographiques

Annexes

Listes des tableaux:

Tableau I: Classification phylogénétique.....	4
Tableau II: : Composition nutritionnelle de la partie comestible du gombo frais.....	5
Tableau III: Description botanique du lin	10
Tableau IV: Classification scientifique de <i>Linum usitatissimum</i> L.	10
Tableau V: Utilisations traditionnelle et moderne de la graine de lin.....	14
Tableau VI : Structure des squelettes des polyphénols	17
Tableau VII : Composition des formulations élaborées et leurs temps de fermentation	28
Tableau VIII: Résultats des poids moyens de fruit de gombo (n=35) et les graines de lin (n=100).....	49
Tableau IX : Résultats d'analyse phytochimique de fruit de gombo et des graines de lin	49
Tableau X : Résultats de la caractérisation physico-chimique de fruit de gombo et les graines de lin.....	51
Tableau XI : Résultats du dosage des sucres contenus dans les extraits des fruit de gombo et des graines de lin.....	52
Tableau XII : Aspect des formulations élaborées.....	53
Tableau XIII : Résultats du dosage de sucre des quatre formulations élaborées.....	54
Tableau XIV Profil en acides gras d'huile des graines de lin obtenu par chromatographie en phase gazeuse (% m/m d'esters méthyliques).....	55
Tableau XV : Résultats du dosage des polyphénols totaux des extraits aqueux et éthanoliques des différentes formulations, des fruits de gombo séchés à l'air libre et des gaines de lin....	56
Tableau XVI: Résultats du dosage des flavonoïdes des extraits aqueux et éthanoliques des différentes formulations, des fruits de gombo séchés à l'air libre et des graines de lin.....	57
Tableau XVII: Indice de gonflement des différentes formulations.....	60
Tableau XVIII: Quelques propriétés physiques des pastilles élaborées.....	61
Tableau XIX: Activité antioxydante des extraits éthanoliques et aqueux de fruit de gombo, des graines de lin et les formulations élaborées.....	65
Tableau XX: Diamètre des zones d'inhibition des extraits des échantillons contre les souches testées (<i>Enterococcus faecalis</i> et <i>Bacillus creus</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923, <i>Staphylococcus aureus</i> MU50).....	70

Liste des figures

Figure 1: Aspect des parties de la plante de gombo (a): la graine (b): les fleurs et (c): les fruits	3
Figure 2: Morphologie de la plante de lin	11
Figure 3: Coupe manuelle de graine de lin (<i>L. usitatissimum</i>)	12
Figure 4 : Microbiote intestinale au fil de tractus digestif	23
Figure 5: Montage de l'extraction de la matière grasse par soxhle.....	38
Figure 6: diagramme de dosage des polyphénols totaux.....	39
Figure 7: Etapes de dosage des flavonoïdes.....	40
Figure 8 : Appareil de la pastilleuse (HERAZOG).	43
Figure 9: Protocole de test du DPPH.....	44
Figure 10: Préparation de l'échantillon dans le Viscosimètre (a) Viscosimètre en marche (b).....	45
Figure 11 : Appareil de microscope électronique à balayage.....	46
Figure 12 : Résultat d'extraction de matière grasse des graines de lin.	54
Figure 13: Comparaison entre les acides gras des deux huiles des graines de lin en %.	56
Figure 14: Histogrammes représentant des concentrations en caroténoïdes des différents échantillons	58
Figure 15 : Aspect du mucilage extrait de fruit de gombo (a) et des graines de lin (b).....	59
Figure 16 : Aspect des pastilles des formulations élaborées.	61
Figure 17: Cinétique de taux de gonflement des pastilles.....	62
Figure 18: Photographie d'évolution des taux de gonflement des pastilles des formulations F1, F2, F3, F4 et celle de la poudre des graines de lin dans un milieu de dissolution (eau distillée).....	62
Figure 19: Concentrations des flavonoïdes libérés des différentes pastilles en fonction de temps d'immersion dans l'eau distillée.....	64
Figure 20 : % d'inhibition des extraits éthanoliques et aqueux de fruit de gombo et des graines de lin et les formulations élaborées.....	66
Figure 21: Evolution de la contrainte de cisaillement des différentes formulations en fonction de la vitesse de cisaillement.....	67
Figure 22: Évolution de la viscosité en fonction de la contrainte de cisaillement des différentes formulations.....	67

Figure 23: Structure microscopique de la formulation F1.	68
Figure 24 : Structure microscopique de la formulation F2.....	69
Figure 25 : Structure microscopique de la formulation F 3.....	69

Introduction générale

Le microbiote est un “second cerveau” pour l’organisme humain qui est un ensemble de micro-organismes qui vivent à l’intérieur du tube digestif et au niveau intestinal. Sa diversité est maximale au niveau du côlon, et reste évolutive au cours de la vie. Ces micro-organismes possèdent plusieurs fonctions : protecteurs, structurales, immunitaires, métaboliques, et de neuromodulateurs.

Plusieurs causes sont à l’origine d’un déséquilibre de ce microbiote créant une dysbiose intestinale. Parmi ces causes citant : les infections virales, bactériennes et parasitaires, le stress, les facteurs environnementaux, la prise de médicaments, l’alimentation et l’alcool. Une perturbation durable et importante favorise le développement de maladies digestives, métaboliques, immunitaires, neurologiques et psychiatriques (Corblin et *al.* 2021).

De nos jours, les gens aspirent à l'utilisation de la phytothérapie pour tout type de traitement parce qu'il est bien meilleur que le coût élevé des soins médicaux hors de portée des pauvres. Les propriétés des plantes médicinales résident dans certaines substances phytochimiques. Ces substances ayant une action physiologique définie sur le corps humain. Les plus importantes de ces substances citant les alcaloïdes, les flavonoïdes et les tannins (Kumar et *al.* 2018).

Le gombo (*Abelmoschus esculentus* L.) est la seule culture légumière d'importance dans la famille des *Malvacées* et très populaire dans le sous-continent Indo-Pak (Kumar et *al.* 2013). Le fruit de gombo est utilisé non seulement pour ses valeurs nutritionnelles, mais aussi pour ses propriétés nutraceutiques et thérapeutiques, en raison de la présence de divers composés bioactifs importants dont leur applications pharmacologiques et potentielles (antidiabétiques, antioxydants, anticancéreux, immunomodulateur et microbicides) (Elkhalifa et *al.* 2021).

La graine de lin (*Linum usitatissimum* L.) est l'une des cultures les plus anciennes, ayant été cultivée depuis le début de la civilisation (Goyal et *al.* 2014). Elle est plus riche en glucides et constitue une source d'huile, mais aussi un facteur clé dans l'alimentation vu sa richesse en composés phytochimiques protecteurs tels que la lignane agissant sur la santé contre les maladies chroniques (Madhusudhan, 2009).

Alors, peut-on utiliser le gombo et la graine de lin et les ferments lactiques comme probiotiques pour traiter les troubles gastriques ?

Dans ce contexte s'inscrit le présent travail comme étude préliminaire qui rentre dans le cadre de projet de recherche de notre promotrice visant les objectifs suivants:

- 1 Extraction et dosage des substances bioactives (polyphénols, flavonoïdes, mucilage...) de fruit de gombo et la graine de lin.
- 2 Elaboration des formulations (gels) et formes pharmaceutiques (pastilles fonctionnelles) à base de fruit de gombo, la graine de lin, le lait sous forme (poudre instantanée ou liquide) et les ferments lactiques comme probiotiques.
- 3 Caractérisation de formes élaborées de point de vue biochimique, rhéologique et pharmacodynamique
- 4 Evaluation de l'activité bactérienne des extraits éthanolique de la graine de lin et fruit de gombo.

- Ce travail est subdivisé en trois parties :

La première partie comprend trois chapitres traitant respectivement des généralités sur le fruit du gombo, la graine de lin et la flore intestinale.

La deuxième partie est consacrée à l'étude expérimentale qui regroupe les différentes méthodes ainsi que le matériel utilisé.

Enfin, la dernière partie rapporte les résultats et discussion finalisée par une conclusion générale.

Chapitre 1: Généralités sur le gombo (*Abelmoschus esculentus* L.)

1 Origine

Le gombo est originaire d'Afrique de l'Est et d'Éthiopie. Il est largement cultivé dans toutes les régions du monde avec un climat tropical ou méditerranéen (Doymaz, 2004). Cette plante est cultivée sur une large gamme de sols. Cependant, un sol fertile bien drainé riche en matière organique est souhaitable pour augmenter le rendement de sa culture (Abidi et al. 2014).

2 Description botanique

L'*Abelmoschus esculentus* L. (Figure 1) est une espèce herbacée annuelle robuste, dressée à la base pouvant atteindre 3 à 4 m de hauteur plus au moins ramifiée suivant les variétés.

Globalement, la tige principale est cylindrique, lignifiée ultérieurement, de couleur verte souvent tachetée en rouge avec des poils raides disséminés, glabrescents. Sur le plan agricole, on distingue deux groupes de variétés, l'espèce à tige courte et à tige longue (Dhali, 2019).

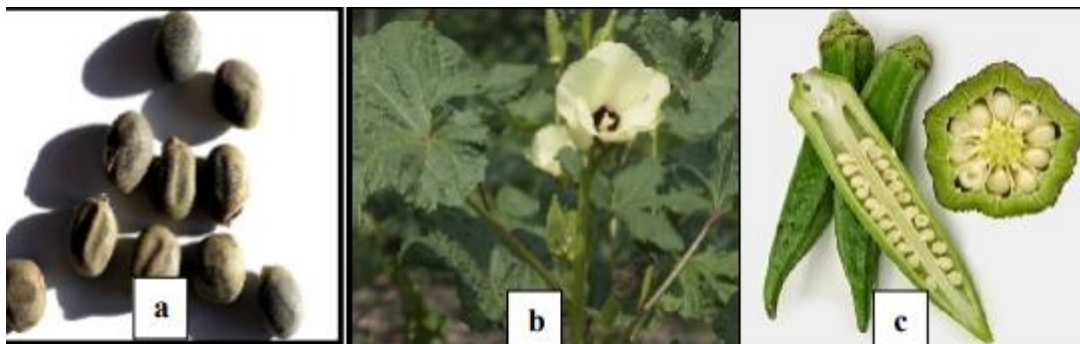


Figure 1: Aspect des parties de la plante de gombo (a): la graine (b): les fleurs et (c): les fruits (Menouar, 2015).

Les fleurs de gombo (Figure 1. (a)) se sont des *Malvacées*, sont éphémères, hermaphrodites, axillaires, solitaires, de grandes dimensions et de couleur crème, jaune ou

jaune d'or avec une coloration rouge à la base des cinq pétales libres. L'anthèse se produit très tôt dans la matinée, à l'aube les fleurs sont épanouies (Menouar, 2015).

Le fruit de gombo (Figure 1. (c)) est une capsule érigée, cylindrique, fusiforme, de section ronde (fruit lisse) ou anguleuse (5 à plus de 10 arêtes par fruit), de coloration variable (vert à rouge). Généralement, les fruits peuvent être duveteux, légèrement rugueux ou épineux. Ils sont récoltés frais quelques jours après la floraison. En effet, la croissance du fruit est maximale la première semaine de culture. Au-delà, il se lignifie et devient impropre à la consommation. A maturité, les fruits deviennent fibreux et s'ils ne restent pas complètement fermés, s'ouvrent par des fentes longitudinales (Ouedraogo, 2009).

3 Classification

L'espèce *Abelmoschus esculentus* L. porte des noms différents selon les pays: Okra ou Lady's finger en anglais, Gombo en français, Quingombo en espagnol, Bhindi en hindi, Quiabero au Brésil et Bamiah en arabe. Les jeunes fruits produits par cette espèce sont utilisés comme légume. On récolte les fruits immatures de 3 à 6 cm de long dont les fibres ne sont pas encore différenciées et dont les graines sont en cours de formation (Menouar, 2015).

La classification phylogénétique de cette espèce proposée par APG est présentée dans le tableau ci-dessous.

Tableau I: Classification phylogénétique (APG, 2003 in Menouar, 2015).

Règne	Végétal
Sous-règne	Tracheobinota
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Dilleniide
Ordre	Malvales
Famille	<i>Malvaceae</i>
Genre	<i>Abelmoshus</i>
Espèce	<i>Ablmoshus esculentus</i> L.

4 Taxonomie

Les taxonomistes ont décrit environ 50 espèces dans le genre *Abelmoschus*. En 1966 Van Borssum-Waalkes a pu classer seulement 6 espèces en se basant sur les caractères de

l'épicalice et du fruit (nombre, longueur et forme des pièces de l'épicalice, caducité de l'épicalice avant l'anthèse ou après la déhiscence de la capsule, longueur relative de l'épicalice et de la capsule, forme de la capsule). Puis la classification de Van Borssum-Waalkes a été amendée lors du colloque international tenu à New Delhi (Inde) dont 9 espèces ont été classées à partir de ses travaux de la cytogénétique:

- *Abelmoschus esculentus* L. Moench est une espèce exclusivement cultivée;
- *Abelmoschus moschatus* Medikus, *Abelmoschus manihot* L.) Medikus et *Abelmoschus caillei* (A. Chev.) Stevels: les trois espèces sont cultivées et sauvages;
- *Abelmoschus tetraphyllus*, *Abelmoschus tuberculatus* P., *Abelmoschus ficulneus* L., *Abelmoschus crinitus*, *Abelmoschus angulosus*: sont des espèces sauvages (Fondio, 2005).

5 Composition biochimique

Les gousses fraîches de gombo sont faibles en calories, pratiquement sans graisse, riches en fibres et ont plusieurs nutriments essentiels comme la vitamine C, l'acide folique ou la vitamine B9 (46 à 88 mg) et un peu de la vitamine A. Les glucides du gombo se présentent principalement sous forme de mucilage. La peau de la gousse (mésocarpe) et les graines sont des excellentes sources de zinc (80 mg/ g). Le gombo contient également du magnésium, du manganèse et du nickel (Tableau II) (Silue, 2016).

Tableau II: Composition nutritionnelle de la partie comestible du gombo frais (Silue, 2016).

Eléments nutritifs	Organe	
	Feuilles pour 100	Fruit pour 100 g
Eau (g)	88,6	81,50
Energie (kcal)	36,00	56,00
Matière sèche (g)	0,20	0,60
Glucides (g)	8,20	11,30
Protéines (g)	2,10	4,40
Fibres (g)	1,70	2,10
Calcium (mg)	84,00	532,00
Fer (mg)	1,20	0,70
Phosphore (mg)	90,00	70,00
β-Carotène (µg)	185,00	385,00
Thiamine (mg)	0,04	0,25

Riboflavine (mg)	0,08	2,80
Niacine (mg)	0,60	0,20
Vitamine C (mg)	47,00	59,00

6 Activités pharmacologiques

6.1 Activité antidiabétique

Les parties de gombo ont été largement rapportées pour réduire les niveaux hyperglycémiques. En effet, le mucilage de gombo mélangé avec de l'éthanol et les extraits aqueux des gousses ont été testés sur des modèles de diabète, l'abaissement des niveaux de glucose dans le sang a été constaté. En pratique clinique, un médicament chinois à base d'extrait des fleurs sèches d'*Abelmoschus manihot*, nommé la capsule Huangkui (HKC), est utilisé pour le traitement de l'IRC, DN, glomérulonéphrite chronique, néphropathie membranaire et d'autres maladies inflammatoires (Elkhalifa et al. 2021).

Aussi, la peau et les graines d'*Abelmoschus esculentus* possèdent une action de normalisation de la glycémie et d'abaissement des profils lipidiques dans un état diabétique (Sabita et al.2011).

6.2 Activité anticancéreuse

L'extrait brut de polysaccharides de gombo exerce un effet anticancéreux sur les cellules cancéreuses Huh7it en diminuant considérablement la prolifération cellulaire et induisant l'apoptose cellulaire. Ainsi, le gombo cru et son extrait de polysaccharides peuvent être potentiellement utiles pour soigner des patients atteints de cancer du foie (Hayaza et al.2019).

L'étude réalisée par Deng et al. (2020), a démontré qu'A. *Esculentu* inhibe significativement la croissance et la métastase de cellules CRC in-vitro. Ainsi, la même espèce pourrait être développée comme un complément alimentaire candidat pour la prévention ou le traitement du cancer colorectal (Deng et al. 2020).

6.3 Effet sur la digestion

Plusieurs nutriments de gombo sont utilisés pour traiter les problèmes digestifs à savoir, les polysaccharides présents dans les gousses immatures possédaient des propriétés antiadhésives considérables. En effet, ces polysaccharides ont été particulièrement efficaces pour inhiber l'adhésion d'*Helicobacter pylori*, qui peut provoquer une gastrite et des ulcères gastriques, et aussi ils sont utilisés pour soutenir la santé du colon (Gemedede et al. 2015).

En outre, les fibres sont nécessaires à la santé du côlon et à la santé digestive. Elles aident à nettoyer le système intestinal, permettant au côlon de fonctionner à des niveaux plus élevés d'efficacité. Particulièrement, la vitamine A joue un rôle dans les muqueuses saines, aidant le système digestif à fonctionner correctement (Gemede et *al.* 2015).

6.4 Effet sur le système de défense de l'organisme

Wahyuningsih et *al.* (2018), ont démontré que les polysaccharides bruts des gousses de gombo pourraient améliorer l'activité phagocytaire, l'indice splénique, la prolifération des splénocytes et le niveau de TNF- α , mais diminuer le niveau d'IL-17 en réponse à la prévention de la surexpression des cytokines pro-inflammatoires.

6.5 Activité antibactérienne

Luthfi et *al.* (2020), ont prouvé que les métabolites secondaires d'extrait de fruit de gombo inhibent la prolifération de la bactérie *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* qui est responsable d'une parodontite agressive. D'autres études antérieures ont montré que les composés glycolyses des fruits de gombo immatures sont capables d'inhiber l'adhésion de la bactérie (*H. pylori*) à la muqueuse gastrique humaine et l'adhésion de *Campylobacter jejuni* à l'épithélium intestinal de poulet in vitro (Carvalho et *al.* 2011).

6.6 Impact socio-économique

Des études réalisées en Chine ont révélé qu'un extrait alcoolique de feuilles de gombo a une activité antioxydante, il améliore les fonctions rénales et aussi il réduit la protéinurie, et sa graine constitue une source de protéines (20%) et d'huile végétale (14%).

Généralement, l'huile est riche en protéines et en éléments minéraux comme le phosphore, le magnésium, le calcium et le potassium.

Les graines de gombo torréfiées sont employées dans certaines régions comme substituant du café (Piozongo, 2014).

En effet, le fruit de gombo est riche en glucides (7 à 8 %), présents essentiellement sous forme de mucilage possédant des propriétés variées. Cependant, les fibres et les protéines se présentent en faibles teneurs (1,8 %), l'acide aspartique et l'arginine représentent 10 % des acides aminés. Le gombo revêt donc une importance économique, surtout pour les femmes et il joue un rôle essentiel dans l'équilibre nutritionnel des populations (Piozongo, 2014).

6.7 Production mondiale

La production mondiale de gombo en 2003 a été estimée à 4 940 071 tonnes. Les principaux producteurs étaient l'Inde (3 500 000 t), le Nigeria (730 000 t) et le Pakistan (110 000 t). Pour la même année, la production nationale de gombo au Burkina Faso s'élevait à 26000 tonnes (Ouedraogo, 2009).

Chapitre II: Généralités sur la graine de lin

1 Origine et généralités

Le Lin (*Linum usitatissimum*) est une culture à fleurs bleues qui produit des petites graines plates dont la couleur varie du jaune doré au brun rougeâtre. Ces graines sont consommées soit entières, soit sous forme de poudre ou d'huile (Heli et *al.* 2007).

L'huile de lin est une excellente source d'acides gras oméga-3, l'acide linoléique, avec des niveaux typiques de 55% dans l'huile (Oomah, 2001). Actuellement, le lin est cultivé pour son huile (Berugland, 2002). De même, il rentre dans la composition de certains aliments, médicaments, textiles et revêt donc une grande importance pour la culture et le développement de l'humanité depuis plus de 8 000 ans (Karg, 2010).

L'histoire culturelle de lin peut être retracée par les restes botaniques mis au jour lors de fouilles archéologiques, tels que les graines, les fragments de capsules, les tiges de lin et le pollen, ainsi que par les produits du lin tels que les fibres et les textiles. Des sources écrites historiques et des peintures murales anciennes fournissent des informations supplémentaires sur l'utilisation de lin (Karg, 2011).

Le lin est probablement exploité au Proche-Orient avant même sa domestication, car les plus anciennes découvertes proviennent de sites épipaléolithiques, non encore concernés par l'agriculture (cultures du prepottery Neolithic A et B ancien) (Muriel et *al.* 2012). Les plus anciennes mentions ont été faites dans la région du Croissant Fertile et remontent au 9ème millénaire avant J-C (Helbæk, 1959 ; Van Zeist et Bakker-Heeres, 1975).

2 Description botanique

Le lin est l'une des plus anciennes plantes cultivées pour la production d'huile et de fibres. IL appartient au genre *Linum* et à la famille des *Linaceae* (Tableau III). Le nom botanique, *Linum usitatissimum* a été donné par Linnaeus dans son livre "Species Plantarum" (Linnaeus, 1857 ; Jhala et Hall, 2010).

Le lin est une plante herbacée annuelle avec un système racinaire peu profond et ayant une tige fibreuse pouvant atteindre 60 cm de hauteur. Les feuilles sont simples et épaisses, alternes et lancéolées. Les fleurs sont solitaires de couleur bleu pâle. Les fruits ont la forme de petites capsules sphériques, qui renferment des graines brunes, ovales et aplaties (Jesus, 2017). Les noms communs lin et graine de lin sont utilisés en Amérique du Nord et en Asie,

respectivement, pour *L. usitatissimum*. Les variétés d'oléagineux et de fibres sont des développements spécialisés de cette espèce (Millam et al. 2005).

Tableau III: Description botanique du lin (Millam et al. 2005).

Description botanique	Plante
Nom scientifique	<i>Linum usitatissimum</i>
Noms communs	lin, lin cultivé, lin domestique, lin usuel, lin des fleurs, lin de Riga
Noms anglais	<i>flax, common flax, linseed</i>
Classification botanique	famille des linacées (<i>Linaceae</i>)
Formes et préparations	graines, huiles, farines, cataplasmes

3 Classification

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

Tableau IV: Classification scientifique de *Linum usitatissimum* L

(Diederichsen et Richards, 2003).

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

4 Variétés

Il est possible de distinguer deux grandes variétés au sein de l'espèce *Linum usitatissimum* selon leurs utilités (Aline, 2019):

- Le lin oléagineux est cultivé pour la production de graines riches en huile (35 à 45 % du poids sec) qui ont une forte teneur en acides gras insaturés, notamment en acide linoléique (C 18 : 2) et en acide linoléique (C 18 : 3) (Jain et al. 1999). Ce type de lin est utilisé pour la production d'huile qui rentre dans la fabrication de peintures, vernis, linoléums ou pour l'alimentation humaine et animale (Aline, 2019).

- Le lin fibreux est cultivé pour ses fibres qui ont une forte valeur ajoutée dans l'industrie de textile et un intérêt grandissant en agro-industrie.

De nos jours, environ trente variétés de lin textile sont inscrites dans le catalogue officiel français de 2000 à 2016 et selon Geves, (2012), nous citons quelques variétés : Agatha, Alizée, Aramis, Jade, lissette, Méline, Novéa, Olga, Vivéa.

5 Morphologie

Le lin présente plusieurs constituants (Figure 2): une racine principale pivotante (1) surmontée d'une tige sur laquelle les feuilles sont disposées en spirale (2). L'inflorescence en forme de cyme porte des fleurs de type 5 (3). Après fécondation, l'ovaire donne naissance à une capsule (4) dont une coupe transversale montre la présence de 5 loges (5) contenant dix graines de forme ovale (6) (Masclef, 1891).



Figure 2: Morphologie de la plante de lin (Masclef, 1891).

5.1 Morphologie des graines

Les capsules sphériques du fruit contiennent deux graines dans chacun des cinq compartiments. La graine est plate et ovale avec un bout pointu (Ganorkar et Jain, 2013). Elle a une surface lisse et brillante. Sa couleur varie du brun foncé au jaune. La texture de la graine de lin est croquante et moelleuse et possède un agréable goût de noix (Carter, 1996).

La graine de lin mature est oblongue et aplatie, comprenant un embryon avec deux cotylédons entourés d'une fine enveloppe mince endosperme et d'une enveloppe lisse, souvent brillante, de couleur jaune à brun foncé (coque) (Youn et al. 2014).



Figure 3:Coupe manuelle de graine de lin (*L. usitatissimum*) (Youn et al. 2014).

6 Utilisations traditionnelle et moderne

Les graines de lin sont consommées pour leurs qualités nutritives. Leur utilisation en médecine remonte à l'Égypte ancienne. Ce sont ensuite les grecs qui développèrent de nombreux remèdes à base de lin, tout comme la médecine traditionnelle chinoise et indienne (Chatain et al. 2016). Au moyen âge, le lin était considéré comme une plante magique (Chevalier,1944).

Les graines de lin sont riches en huile, en particulier l'acide lino-lénique (oméga-3) et l'acide linoléique (oméga-6). En France, l'huile de lin a été longtemps réservée à un usage technique. Elle n'est autorisée à la consommation humaine qu'en 2009. Ces graines sont

utilisées en boulangerie, grillées ou non, en couverture de pains spéciaux (Goyal et *al.* 2014), et en alimentation animale, en particulier pour les poules pondeuses dont on souhaite augmenter la teneur en oméga-3 des œufs (Chatain et *al.* 2016).

Depuis l'antiquité, ces graines sont utilisées en médecine pour leurs propriétés laxatives et diurétiques, pour leurs propriétés émoullientes et adoucissantes pour la peau sèche et finalement sous forme de cataplasmes pour leurs propriétés anti-inflammatoires contre les irritations des muqueuses et les inflammations cutanées.

Les préparations par voie orale à base de farine ou d'huile des graines de lin sont également employées en médecine traditionnelle pour combattre la fatigue, les difficultés de concentration et le vieillissement mental et physique. La médecine ayurvédique (Inde) utilise le lin en infusion contre la toux, les bronchites et les inflammations des voies urinaires (Tableau V) (Goyal et *al.* 2014).

De plus, les graines de lin protégeraient contre les maladies cardiovasculaires et les syndromes métaboliques, en réduisant les taux de lipides et de glucose, la pression artérielle, le stress oxydatif et l'inflammation à cause de sa richesse en oméga-3 et en lignane, le diglucoside de sécoisolaricirésinol, un phyto-œstrogène et antioxydant (Prasad, 2009; Goyal et *al.* 2014). Sa richesse en fibres aurait des effets positifs sur la satiété, d'où l'utilisation également comme amincissant. Grace aux propriétés anti-oxydantes et anti-inflammatoires, ces graines réduiraient également le risque de certains cancers, surtout hormonosensibles (cancer du sein, de l'endomètre, de l'ovaire et de la prostate) (Tableau V) (Adolphe et *al.* 2010 ; Goyal et *al.* 2014).

Le lin utilisé en textile peut être responsable de byssinose, maladie respiratoire non-IgE médiée, ou d'asthme professionnel provoqué par l'inhalation de poussière de lin chez les ouvriers de l'industrie de textile (Noweir et *al.* 1975).

La farine de lin peut être responsable de dermatite ou d'urticaire de contact chez les infirmières, les pharmaciens, les droguistes manipulant la farine de lin à titre professionnel ou chez les enfants qui reçoivent des cataplasmes à la farine de lin (Rajka et *al.* 1950 ; Charpin et *al.* 1992). Le tableau V résume quelques utilisations de la graine de lin.

Tableau V: Utilisations traditionnelle et moderne de la graine de lin (Goyal et al. 2014).

Forme	Préparation/ Indications	Préparation/ Indications
Utilisations traditionnelle et médicinale		
Boisson	1 cuillère-à-café de poudre de graine de lin dans l'eau chaude	Constipation
Farine	Mélange la farine de lin avec du miel 30–40 g de cette pâte est consommée à jeun	Tuberculose pulmonaire, hémoptysie, toux, bronchite Ulcère gastroduodéal Inflammations intestinales Douleurs abdominales Splénomégalie Déclin du système nerveux, difficultés de concentration Vieillessement mental et physique
Farine	pour cataplasme	Plaies, eczéma, psoriasis, sécheresse de la peau
Farine	pour bains de bouche	Gingivite, pharyngite
Huile de lin		Maladies rénales (diurétique)
Tisane	Infusion de graines de lin dans l'eau chaude (30 minutes)	Asthme, bronchite, dyspnée, toux
Utilisation moderne		
Graine, huile, extrait	Sous forme naturelle ou en préparation pour sa richesse en lignanes (phytoestrogènes, antioxydant) Acide linoléique (oméga-3) Acide linoléique (oméga-6)	Hypercholestérolémie, dyslipidémie, HTA, maladies cardiovasculaires Diabète, Syndrome métabolique, obésité Tumeurs, surtout hormonosensibles

7 Production mondiale

Le lin est produit dans plusieurs pays du monde : Chine, Russie, Pologne, Lituanie, Biélorussie, Ukraine mais aussi en Europe de l'ouest : France, Belgique, Pays-Bas et en Afrique avec l'Égypte le long du Nil.

Le lin est une culture mineure au niveau mondial à peine 1% des surfaces totales d'oléagineux (Françoise et *al.* 2011).

La production mondiale de graines de lin en 2010 s'élève à 2 millions de tonnes, le Canada étant le principal producteur de graines (22% de la production mondiale). Une partie des graines produites au Canada sont exportées vers l'Union Européenne (Natacha, 2013).

Chapitre III: Généralités sur les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont synthétisés en très faibles quantités, de manière spécifique et en fonction d'un stade de développement ou d'une condition éco-physiologique. Les métabolites secondaires sont classiquement regroupés en trois grandes familles. Ainsi, les molécules possédant au moins un groupement hydroxyle lié à un noyau aromatique constituent la famille des composés phénoliques (coumarines, lignines, flavonoïdes...).

Les métabolites secondaires formés de plusieurs unités de type isoprène forment la famille des terpénoïdes (terpènes), l'une des plus vastes catégories de métabolites secondaires (caroténoïdes, chlorophylles...). Enfin, la famille des alcaloïdes regroupe les molécules présentant un ou plusieurs atomes d'azote intracycliques (Ginis, 2012).

1 Généralités sur les composés polyphénoliques


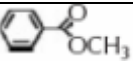

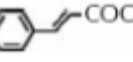
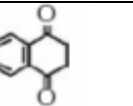
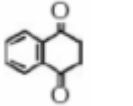
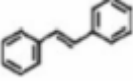
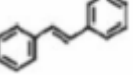
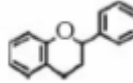
Les polyphénols sont des composés naturels que l'on trouve en grande partie dans les fruits, les légumes, les céréales et les boissons. Les polyphénols sont des métabolites secondaires des plantes et sont généralement impliqués dans la défense contre les rayons ultraviolets ou les agressions des agents pathogènes.

Vers la fin du 20^{ème} siècle, les études épidémiologiques et les méta-analyses connexes ont fortement suggéré que la consommation à long terme des régimes alimentaires riches en polyphénols végétaux offrait une certaine protection contre le développement des cancers, des maladies cardio-vasculaires, le diabète, l'ostéoporose et les maladies neurodégénératives (Pandey et Rizv, 2009).

✓ Classification

Les polyphénols forment un très vaste ensemble de substances chimiques, ils peuvent être classifiés selon le nombre et l'arrangement de leurs atomes de carbone (Tableau VI). Ces molécules sont généralement trouvées conjuguées aux sucres et les acides organiques (Belyagoubi, 2011).

Tableau VI : Structure des squelettes des polyphénols (Belyagoubi, 2011)

Nombre de carbones	Squelette	Classification	Exemple	Structure de base
7	C6-C1	Acides phénols	Acide gallique	
8	C6-C2	Acétophénonnes	Gallacetophénone	
8	C6-C2	Acide phénylacétique	Acide ρ -hydroxyphénylacétique	
9	C6-C3	Acides hydroxycinamiques	Acide ρ -coumarique	
9	C6-C3	Coumarines	Esculitine	
10	C6-C4	Naphthoquinones	Juglone	
13	C6-C1-C6	Xanthones	Mangiférine	
14	C6-C2-C6	Stilbènes	Resveratrol	
15	C6-C3-C6	Flavonoïdes	Naringénine	

2 Flavonoïdes

Les flavonoïdes désignent une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux. Le nom flavonoïde proviendrait du terme flavedo, désignant la couche externe des écorces d'orange. Cependant, d'autres auteurs supposaient que le terme flavonoïde a été plutôt prêté du flavus ; (flavus=jaune) (Farez, 2016).

Les flavonoïdes ont été isolés par le scientifique Chervreul en 1814, mais ont été réellement découverts qu'en 1930 par Albert Szent-Györgyui, désignés sous le nom de vitamine P, en raison de leur efficacité à normaliser la perméabilité des vaisseaux sanguins, cette dénomination fut abandonnée lorsqu'on se rendit compte que ces substances ne

correspondaient pas à la définition officielle des vitamines, il devient clair que ces substances appartiennent aux flavonoïdes (Farez, 2016).

✓ **Classification**

Les flavonoïdes sont définis avec une structure de base commune formée de deux cycles aromatiques (cycle A et cycle B) reliés par trois atomes de carbone qui forment un hétérocycle oxygéné (Heim et *al.* 2002).

L'organisme humain ne synthétise pas de flavonoïdes. Le seul apport de flavonoïdes se situe dans notre alimentation (Guerra et *al.* 2004).

3 Tannins

Les tannins sont des métabolites secondaires de certaines plantes terrestres vasculaires. On les rencontre dans toutes les parties du végétal (racines, écorce, feuilles, liège, fruits non mûrs, galls, etc.). Ce sont des molécules de nature phénolique dont l'un des rôles est de protéger les plantes contre l'attaque de certains parasites et des herbivores (Brillouet, 2013).

✓ **Classification**

Chimiquement il existe deux grands types de tannins :

Les tannins condensés (ou proanthocyanidines) se rencontrent dans l'écorce, les racines et les feuilles de la plupart des espèces végétales et aussi dans les fruits et les graines. Les tannins condensés sont des dimères, des oligomères ou des polymères de flavonoïdes, spécifiquement des flavan-3-ols, Les tannins hydrolysables ont une distribution taxonomique plus restreinte ; principalement dans les arbres et les plantes herbacées dicotylédones et dans de nombreux aliments comme les grenades, les fraises, les noix et les vins. Les tannins hydrolysables proviennent principalement des acides phénoliques, tels que l'acide gallique ou l'acide ellagiques d'où leur subdivision en gallotanins ou tannins galliques et ellagitanins ou tannins ellagiques. Associé au D-glucose, l'acide gallique constitue un ester, le pentagalloylglucose, précurseur des tannins hydrolysables (Brillouet, 2013).

4 Coumarines

Les coumarines sont des substances naturelles et synthétiques connues depuis longtemps. Elles ont un grand intérêt en raison de leurs applications potentielles biologiques.

Il s'agit de composés à neuf atomes de carbone possédant le noyau 2H-1-benzopyran-2-one. Ce composé dériverait de la cyclisation de l'acide cis cinnamique oxygéné en C-2 (Borgesetal et *al.* 2005).

✓ **Classification**

Les auteurs ont classé les coumarines selon la nature des substituants sur leurs structures en cinq catégories: les coumarines simples sont les plus répandues dans le règne végétal possèdent des substitutions (OH ou OCH₃) en R2 et R3 et les furanocoumarines constituent une famille de composés synthétisés par certaines espèces de végétaux supérieurs. Elles dérivent principalement de l'ombelliféracée par condensation isopronoides en C5, et souvent liposolubles. (Harkati, 2011)

Pyranocoumarines : Composés formés par la fusion d'un hétérocycle pyrane avec la coumarine qui sont soit dans le prolongement (forme linéaire) : xanthyletine ; ou bien latéralement (forme angulaire) : seseline, visnadine.

Dicoumarines (coumarines dimériques) : Ce sont des composés formés par la liaison de deux unités coumariniques simples (Harkati, 2011).

5 Généralités sur les polysaccharides

D'après Dupont. (1998), un polysaccharide est un polymère de résidus monosaccharidiques reliés entre eux par des liens glycosuriques. Ces liens se forment par l'élimination d'une molécule d'eau entre le groupe hémiacétal hydroxyle de l'extrémité de l'un et le groupe hydroxyle primaire ou secondaire du résidu suivant (Dupont.1998).

✓ **Classification**

Selon la nature de leurs composants ils sont divisés en deux classes:

- Homopolysaccharides ne sont composés que de monosaccharides identiques. Parmi les homopolysaccharides, on retrouve les α -glucanes généralement composés des résidus de glucose liés en α -1,6 et α -1,3.

- Hétéropolysaccharides: la majorité des polysaccharides bactériens est probablement constituée d'hétéropolysaccharides. Ils comprennent les polymères dont l'unité répétitive est constituée d'au moins deux résidus différents (Rougeaux et *al.* 1999). Les monosaccharides les plus fréquemment rencontrés sont le glucose, le galactose et le rhamnose pour les oses neutres, l'acide glucuronique et l'acide galacturonique, pour les oses acides (Dubreucq et *al.* 1996).

6 Mucilages

Ce sont des constituants normaux des plantes. Ils sont localisés dans les graines le plus souvent. Il en existe de 2 sortes : acides uroniques et neutres. Vercaitere, (2011) dévoile que les mucilages sont des complexes de polysaccharides formés du sucre, par contre les mucilages acides uroniques d'unités forment les masses gluantes dans l'eau, sont en général hétérogènes en composition (Divekar et *al.* 2010).

7 Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments colorés dont la couleur varie du jaune au rouge. Environ 700 caroténoïdes ont été isolés à partir de produits naturels mais seulement une vingtaine est détectable dans les tissus ou le sérum humain. Ils sont naturellement synthétisés par des plantes, certains champignons, des algues et quelques bactéries (Thi Hanh, 2014).

8 Définition d'un antioxydant

Les antioxydants sont des molécules ayant la capacité de neutraliser des radicaux libres qui sont responsables de nombreuses maladies. Ces molécules inhibent ou retardent le processus d'oxydation en bloquant l'initiation ou la propagation des chaînes de réactions oxydatives. Ils sont utilisés dans les aliments pour retarder la détérioration (Engonga, 2009).

8.1 Systèmes de défenses d'antioxydants

Diverses stratégies des antioxydants existent, soit en augmentant les défenses enzymatiques antioxydants endogènes, soit en renforçant les défenses non enzymatiques par des moyens diététiques ou pharmacologiques (Saidi, 2019).

8.1.1 Antioxydants endogènes enzymatiques

Les principaux systèmes enzymatiques antioxydants les plus efficaces chez les mammifères ainsi que chez les plantes sont la superoxyde dismutase, la catalase et le glutathion peroxydase.

D'autres enzymes jouent un rôle non négligeable dans la lutte antioxydante, l'ensemble formant un système complexe: glutathion réductase, thioredoxine réductase, glutathion transférase (Rezaire, 2012).

8.1.2 Antioxydants exogènes non enzymatiques

Les antioxydants exogènes, vu leur efficacité, leur faible coût et leur disponibilité, sont largement utilisés dans les aliments comme additifs dans le but de prévenir la rancidité. Plusieurs substances peuvent agir en tant qu'antioxydants in vivo ont été proposées. Elles incluent : la vitamine E, l'acide ascorbique, la β -carotène, les flavonoïdes, et les composés phénoliques. Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles ont également une capacité de lier les acides gras libres (Ait Chaouche, 2018)

Chapitre IV : Généralités sur la flore intestinale

1 Définition

La flore intestinale normale est une collection complexe et un équilibre de microorganismes qui habitent normalement le tractus gastro-intestinal et remplissant un rôle dans la nutrition, la physiologie et le contrôle du système immunitaire de l'hôte. La microflore intestinale est un organe acquis après la naissance (Mahmoudi, 2014).

Un tube digestif est constitué de 10^{14} micro-organismes qui composent le microbiote intestinal, ce qui est 10 fois plus important que le nombre total de cellules eucaryotes dans le corps humain, des variations qualitatives et quantitatives de la flore intestinale sont observées tout au long du tube digestif de la bouche à l'anus (Figure 4).

La flore buccale est très diversifiée et comprend des bactéries aérobies et anaérobies.

Les bactéries dominantes du microbiote peuvent être réparties en 3 phyla bactériens majeurs, le phylum des firmicutes qui compose 3 classes de bactéries qui contiennent les genres (*Clostridium*, *Listeria*, *Enterococcus* et *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Lactobacillus*), le phylum des bacteroidetes qui représente jusqu'à 30% de la population bactérienne qui contient les bactéries de genres *Bacteroides* et *Prevotella*, le phylum des actinobacteria qui représente moins de 10% de la population de microbiote dont des genres (*Actinomyces*, *Bifidobacterium*) (Dolié, 2018).

La flore gastrique est en revanche limitée quantitativement et qualitativement. Les concentrations varient de manière croissante, en effet, au niveau de l'estomac il y a quelques centaines de bactéries par gramme de contenu alors qu'au niveau du côlon distal on retrouve 10^{11} bactéries par gramme de contenu (Dolié, 2018).

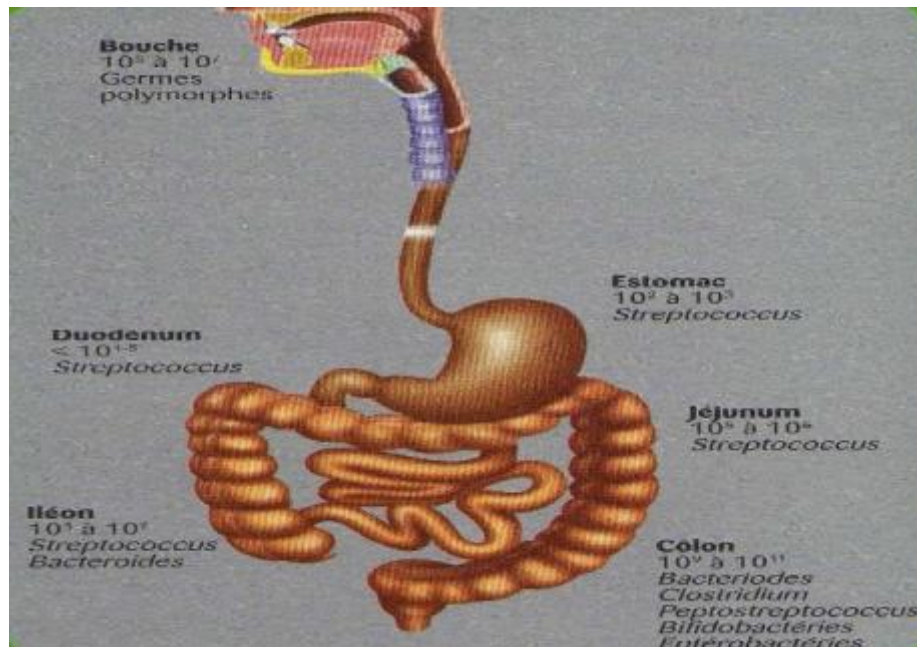


Figure 4 : Microbiote intestinale au fil de tractus digestif (Mahmoudi, 2014).

Le microbiote intestinale constitue un écosystème qui fonctionne comme un organe à part entière en étroite symbiose avec notre organisme et forme avec lui un supra-organisme. En effet, c'est une usine biochimique indispensable pour la digestion des aliments non assimilés par l'organisme et pour diverses fonctions physiologiques chez l'Homme : maturation du système immunitaire, effet barrière contre des pathogènes extérieurs, production de vitamines, collecte d'énergie, accessibilité aux micronutriments, métabolisation des xénobiotiques (Bourlioux, 2014).

2 Composition classique de la flore humaine

2.1 Flore gastrique

Dans l'estomac, la forte acidité, pH variant entre 1 et 5 dépendamment de la prise alimentaire, est responsable de la faible prolifération microbienne (10^1 - 10^4 Unité Formant Colonie par gramme; UFC/g) (Le Lay, 2015).

L'ulcère de l'estomac est très rarement dû au stress. Les médecins connaissent depuis longtemps un secret que le grand public continue à ignorer. Dans 70 à 80% des cas, l'ulcère est

une maladie infectieuse due à une bactérie au nom étrange: *Helicobacter pylori*. Cette bactérie serait également responsable des cancers de l'estomac (Camille, 2018).

2.2 Flore intestinale

On est loin de connaître toutes les espèces et leurs différents types d'une flore intestinale humaine, donc de bien appréhender les variations de flores induites par les modifications de régime alimentaire, les bactéries exogènes et les substances d'antibiotiques (Pierre, 2021).

Les bactéries habituellement présentes dans l'intestin grêle appartiennent aux genres : *Lactobacillus*, *Streptococcus*, et à quelques espèces de la famille des *Enterobacteriaceae* à des concentrations faibles jusqu'à l'iléon où elles apparaissent dominées par des espèces anaérobies à Gram négatif appartenant au genre *Bacteroides* (Pierre, 2021).

Dans le côlon, il faut distinguer 4 types de flores (Pierre, 2021) :

- **Flore dominante** ($N > 10^9$ UFC/g) exclusivement anaérobie renferme de *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Bifidobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Ruminococcus*, *Clostridium*, *Propionibacterium*.
- **Flore sous dominante** ($10^6 > N > 10^8$ UFC/g) : renferme différentes espèces de la famille des *Enterobacteriaceae* (surtout *E.coli*) et les genres *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Fusobacterium*, *Desulfovibrio*, *Methanobrevibacter*.
- **Flore résiduelle** ($N < 10^6$ UFC/g) : constitue des bactéries en transit ou réprimées par la flore résidente.
- **Flore fécale** : c'est une flore facilement accessible pour l'analyse, elle renferme de nombreuses espèces mortes et n'est pas représentative des différentes niches écologiques de l'écosystème microbien digestif. L'analyse de cette flore ne donne qu'une vue très limitée de l'écosystème mais elle permet de retrouver des souches pathogènes ou potentiellement pathogènes pour l'hôte.

3 Interactions bactériennes dans le tube digestif

Les interactions entre bactéries qui constituent la microflore du tube digestif peuvent être antagonistes ou synergiques (Ducluzeau et Raibaud. 1989).

3.1 Antagonisme bactérien

Lorsqu'on ensemence deux souches bactériennes ensemble ou successivement, deux cas sont possibles : les deux bactéries se développent ensemble aussi bien que lorsqu'elles se trouvent seules et l'équilibre qui s'établit ainsi est généralement stable, ou bien une interaction apparaît entre les deux bactéries inoculées : l'une des bactéries l'emporte sur l'autre et éventuellement l'élimine totalement, quel que soit l'ordre d'inoculation.

Ces observations permettent de faire table de la vieille théorie du premier occupant, qui voulait que la première souche implantée «occupe le terrain» et de ce simple fait interdise la prolifération de n'importe quelle autre bactérie introduite ultérieurement (Ducluzeau et Raibaud. 1989).

3.2 Effet synergique

Les interactions ayant trait aux niveaux de population ne sont pas seulement des forces antagonistes. Il peut s'agir aussi de forces synergiques. Ainsi, l'établissement de souches anaérobies strictes très sensibles à l'oxygène (EOS) dans le tractus gastro-intestinal d'animaux gnotoxéniques n'est possible que si d'autres souches résistantes à l'oxygène s'établissent au préalable et amènent le potentiel d'oxydo-réduction de l'intestin à un niveau compatible avec l'établissement des souches EOS. D'autres exemples montrent une interaction plus spécifique entre deux souches. Ainsi, Dubos et ses collaborateurs (1985), ont montré qu'une souche de *Clostridium difficile* permettait l'établissement d'une souche de *Clostridium perenne* dans l'intestin de souris gnotoxéniques recevant un aliment semi-synthétique. Dans ce cas, la souche de *Clostridium difficile* hydrolyse un dipeptide très particulier, β -aspartique-e-lysine, apporté dans l'aliment par la caséine chauffée, non absorbable et qui est un inhibiteur du développement de *Clostridium perenne* lorsqu'il chélate le cuivre de l'aliment dans l'intestin.

4 Déséquilibres du microbiote (dysbiose) et pathologies intra-intestinales

L'hôte et son microbiote sont habituellement en interrelations symbiotiques, des perturbations de l'un des deux peuvent retentir sur l'autre et déséquilibrer l'ensemble (Youness, 2018). Les causes de cette perturbation sont diverses dont lesquelles on peut citer le changement de régime alimentaire, vieillissement, stress et la prise d'antibiotiques perturbent également la flore intestinale (Descoins, 2017). Cette perturbation conduit aussi à diverses pathologies telles que les maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI), le syndrome de l'intestin irritable (Descoins, 2017).

5 Pharmacobiotique

Le microbiote intestinal joue un rôle clé dans la santé de l'hôte et de nombreuses pathologies sont associées à des perturbations de cet écosystème (Possemiers et *al.* 2009). Ces observations ont conduit au développement de stratégies visant à moduler celui-ci par l'apport de bactéries probiotiques ou de fibres probiotiques afin de rétablir l'équilibre intestinal c'est ce qu'on appelle la Pharmacobiotique. L'usage de ces produits en santé humaine s'est largement généralisé depuis deux décennies dans la prévention ou le traitement d'affections diverses (Debré et Le Gall. 2014).

La majorité des probiotiques utilisés appartiennent aux genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*, des taxons reconnus comme étant des représentants de la flore commensale bénéfique du tube digestif, alors que les prébiotiques sont essentiellement représentés par des polysaccharides et oligosaccharides (Debré et Le Gall. 2014).

Chapitre V: Matériel et méthodes

1 Cadre de l'étude

Notre étude expérimentale a été réalisée au sein de différents laboratoires :

-Laboratoires Communs (I et II) d'Analyses Physico-chimiques, ainsi que le Laboratoire pédagogique de Microbiologie, et Laboratoire de Physique et Chimie de Matériaux (LPCM) de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou (UMMTO).

-Laboratoires de Chimie Pharmaceutique et de Rhéologie de l'Université de Boumerdès

Les objectifs ambitionnés à travers cette étude sont:

1/Caractérisation des fruits de gombo (*Albomuschus esculentus* L.) et des graines de lin;
2/Elaboration des formes nutraceutiques fonctionnelles contre les problèmes gastriques à base de fruit de gombo, des graines de lin, du lait et des ferments lactiques comme probiotiques.

Le travail pratique est subdivisé en quatre parties suivantes:

-Analyse phytochimique des fruits de gombo séchés (à l'air libre, à 50°C et à 60°C) et des graines de lin ;

-Extraction et quantification des composés nutraceutiques de fruit de gombo et des graines de lin (polyphénols totaux, caroténoïdes, flavonoïdes et mucilage) ;

- Caractérisation physico-chimique de fruit de gombo, des graines de lin et les quatre formulations élaborées à base des graines de lin, de fruits de gombo, du lait en poudre ou liquide et des ferments lactiques ;

-Tests rhéologiques et pharmacodynamiques des pastilles des formulations élaborées ;

-Activité antibactérienne des extraits éthanolique des graines de lin et de gombo et les quatre formulations élaborées.

2 Matériel

2.1 Matériel végétal

Les matériaux végétaux utilisés sont :

-Le fruit de gombo *Albomuschus esculentus* récolté du sud de Sahara de l'Algérie.

-La graine de lin (*Linum usitatissimum*) commercialisée chez l'herboriste

2.2 Matériel Biologique

Quatre souches bactériennes (*Enterococcus faecalis*, *Bacillus creus*, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Staphylococcus aureus* MU 50) fournies par le laboratoire de microbiologique du département Microbiologie-Biochimie de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou ont été utilisées pour réaliser les tests de l'activité antibactérienne des extraits éthanolique et aqueux préparés à base de fruit de gombo, la graine de lin et les formulations élaborées.

2.3 Préparation des poudres de fruit de gombo et la graine de lin

Trois types de poudres de fruits de gombo (fruits séchés à l'air libre, à 50°C, et à 60°C) et la poudre de la graine de lin ont été analysés. L'ensemble des matières étudiées a été broyé en poudre fine à l'aide d'un broyeur type (moulin à café). Les poudres obtenues ont été conservées dans des bocaux en verre à l'abri de l'air et de l'humidité.

2.3.1 Elaboration des formulations nutraceutiques

Quatre formulations ont été préparées en respectant les ingrédients signalés dans le tableau VII.

Tableau VII : Composition des formulations élaborées et leurs temps de fermentation

Ingrédients	F1	F2	F3	F4
Infusé de fruit de gombo (ml)	50	50	50	50
Lait pasteurisé (ml)	0	0	0	50
Poudre des graines de lin (g)	7	3.5	0	0
Poudre du lait instantanée (g)	0	3.5	7	0
Ferments lactiques (g)	0,015	0,015	0,015	0,015
Temps optimisé de fermentation (coagulation)	1h 15min	1h15min	1h15 min	1h30min

On mélange les ingrédients de chaque formulation dans un bocal stérile, puis on incube l'ensemble des formulations au bain marie à 45°C pour se fermenter (coaguler). Les temps de coagulation ont été choisis sur la base des tests de coagulation préliminaires.

Les quatre gels obtenus après coagulation ont été étalés sur papier aluminium sous forme des fines couches et soumis au séchage dans une étuve à 40°C pendant 2 jours. Une fois sécher, un broyage a été réalisé à l'aide d'un broyeur type (moulin à café). Les poudres fines obtenues ont été conditionnées dans des flacons en verre et conservées à l'abri de la lumière et de l'humidité jusqu'à leurs caractérisation.

2.4 Matériel du laboratoire et produits utilisés

Les Annexes 1et 2 regroupent l'ensemble d'appareillages, solvants, réactifs chimiques et milieux de culture, matériels utilisés pour la réalisation de cette étude.

3 Méthodes d'analyses

3.1 Caractérisation morphologique de fruit de gombo et de la graine de lin

3.1.1 Mesure de poids moyen

Pour notre fruit, la pesée a été faite sur un échantillon de 30 fruits de gombo, 100 graines de lin et les poids moyens de fruit de gombo et de la graine sont calculés selon cette formule :

$$P_m = \frac{P_t}{n}$$

Soit :

P_m : poids moyen d'un échantillon ;

P_t : poids total de l'échantillon ;

n : nombre de l'échantillon

3.2 Analyse phytochimique de fruit de gombo et de la graine de lin

3.2.1 Préparation de l'infusé

Deux infusés ont été préparés à base de la poudre des fruits de gombo séchés à air libre et la poudre des graines de lin. 20 g de chaque poudre ont été macérés dans 100 ml d'eau distillée;

- Porter le mélange à l'ébullition pendant 15 min puis filtrer ;
- Le filtrat est ajusté à 100 ml d'eau distillée.

Les infusés ainsi obtenus ont été utilisés pour la recherche des différents composés phytochimiques.

3.2.1 Les anthocyanes

Introduire dans un erlenmeyer 5 ml de l'infusé, puis on les ajoute quelques gouttes d'HCl. Une réaction positive donne une coloration rouge en présence des anthocyanes.

3.2.2 Les tannins

Quelques gouttes de la solution de FeCl_3 (5%) sont ajoutées à 5 ml de l'infusé. La présence des tannins est identifiée par une coloration bleue noire de la solution.

3.2.3 Les tannins galliques

On sature le filtrat (5ml) par l'acétate de sodium (CH_3COONa), puis on lui ajoute quelques gouttes de FeCl_3 . La réaction est dite positive lorsque la coloration bleue foncée apparaît.

3.2.4 Les flavonoïdes

Environ 5ml d'HCl, un copeau de Mg et 1 ml d'alcool iso butanol sont ajoutés à 5 ml de l'infusé. La réaction est dite positive lorsque la coloration est rouge oranger.

3.2.5 Les saponosides

Dans deux tubes à essai fermés, on met dans l'un 5 ml d'HCl, dans l'autre 5 ml de NaOH ;

On introduit dans chacun deux à trois gouttes de l'infusé ensuite on l'agite verticalement pendant 30 secondes et laisser reposer 15 min. Une réaction positive est déterminée par la présence ou non d'une mousse persistante.

Deux cas sont possibles :

1^{er} cas : en présence des saponines stéroïdiennes, on obtient dans les deux tubes, le même volume de la mousse.

2^{eme} cas : Si la plante contient des saponines tri terpéniques, en milieu basique il y'aura formation d'une mousse quelque fois plus grande par stabilité et par volume.

3.2.6 Les quinones libres

Un volume de 2 ml d'HCl (1N) et 20ml de chloroforme est ajouté à 2 g de la poudre végétale, puis on laisse le mélange pendant 3 heures. Après filtration, on ajoute 5 ml

d'ammoniaque (1/2 V : V). La réaction est dite positive lorsque la coloration rouge violette apparait.

3.2.7 Les quinones combinées

5 ml d'H₂SO₄ (2N) ont été ajoutés à 2g de la poudre, on chauffe le mélange à reflux pendant 2 heures. Le mélange est filtré à l'aide d'un papier filtre. Par la suite, 20 ml de chloroforme sont ajoutés au filtrat, puis on évapore la solution à sec, et reprise à l'ammoniaque. La réaction est dite positive lorsqu'une coloration rouge se manifeste.

3.2.8 Les alcaloïdes

20 ml d'ammoniaque (1/2) et 50 ml du mélange éther –chloroforme (3/2 V : V) ont été ajoutés à 5g de la poudre. Le filtrat obtenu est épuisé par HCl (2N). L'identification des alcaloïdes a été réalisée grâce au réactif de Dragendorff qui donne un précipité rouge.

3.2.9 Les glucosides

Quelques gouttes d'H₂SO₄ ont été ajoutées à 2g de la poudre de fruit. Une coloration rouge brique ensuite violette se manifeste en présence de glucosides.

3.2.10 Les coumarines

Un volume de 20 ml du mélange (éthanol /eau distillée V : V) est ajouté à 2g de la poudre. La suspension obtenue est ensuite bouillie pendant 15 min à reflux puis filtrer et laisser refroidir. L'identification des coumarines se fait par l'ajout de 10 gouttes de la solution KOH (10%) à 3 ou 5 ml de filtrat et quelques gouttes d'HCl à 10% jusqu'à l'obtention d'un milieu fortement acide. L'apparition d'un trouble indique la présence des coumarines.

3.2.11 Les sennosides

Une quantité de 2,5 g de la poudre analysée est introduite dans une fiole conique puis 50 ml d'eau distillée et 2ml d'HCl concentré sont additionnés. Un chauffage au bain-marie pendant 15 min a été réalisé. Refroidir le mélange puis ajouter 40 ml d'éther.

On sépare la phase organique étherée de la phase aqueuse. On sèche la phase étherée sur sulfate de sodium anhydre (Na₂SO₄H₂O). Ensuite on évapore. Lorsque le résidu est refroidi, on lui ajoute 5 ml d'ammoniaque (1/2).

La présence des sennosides est identifiée par une coloration jaune ou orange de la solution. Le chauffage de cette solution au bain- marie pendant 2 min donne une coloration violette rouge.

3.3 Caractérisation physico-chimique des fruits de gombo et la graine de lin

Les mêmes protocoles opératoires ont été utilisés pour caractériser le fruit de gombo et la graine de lin.

3.3.1 Détermination de la teneur en eau

3.3.1.1 Principe

Le séchage de l'échantillon a été réalisé dans une étuve avec ventilation d'air de type Mammert à $105 \pm 03^\circ\text{C}$ jusqu'à avoir un poids constant.

3.3.1.2 Mode opératoire

La détermination de la teneur en eau se fait de la manière suivante:

- Peser les capsules en aluminium et tarer les capsules puis peser dans chaque capsule 5g de l'échantillon, et les placer dans l'étuve ensuite retirer les capsules de l'étuve, et les placer dans un dessiccateur, après refroidissement, on les pèse, l'opération est répétée chaque 15 minutes jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

3.3.1.3 Expression des résultats

La teneur en eau est déterminée selon la formule suivante:

$$H(\%) = \frac{M_1 - M_2}{P} \times 100 \quad (1)$$

Soit :

H(%) : humidité

M₁ : masse de la capsule + la matière fraîche avant séchage en (g) ;

M₂ : masse de la capsule + la matière après séchage (g) ;

P : masse de la prise d'essai en (g).

3.3.2 Mesure de pH (NF V 05-108, 1997)

3.3.2.1 Principe

La détermination du pH par la méthode potentiométrique, a été réalisée à l'aide d'un pH mètre.

3.3.2.2 Mode opératoire

- Macérer 4g de l'échantillon dans 100ml d'eau distillée chaude et agiter et laisser le mélange refroidir puis étalonner le pH mètre en utilisant une solution tampon ensuite prélever un volume V de l'échantillon suffisamment important pour permettre l'immersion de l'électrode enfin noter la valeur du pH.

3.3.2.3 Remarque

Il faut rincer l'électrode avec l'eau distillée avant chaque mesure puis sécher à l'aide du papier absorbant.

3.3.3 Détermination de la teneur en cendres (NF V 05-113, 1972)

3.3.3.1 Principe

L'échantillon à analyser a été calciné à 550°C dans un four à moufle jusqu'à l'obtention des cendres blanchâtres de poids constant.

3.3.3.2 Mode opératoire

- Dans des creusets en porcelaine, peser 5g de l'échantillon et placer les creusets dans un four à moufle fermé; la température est augmentée progressivement de manière à éviter une calcination violente de produit ce qui entrainerait des pertes maintenues à une température de 550°±15°C jusqu'à l'obtention d'une poudre de couleur blanchâtre de poids constant enfin retirer les creusets du four et les mettre à refroidir dans le dessiccateur, puis les peser.

3.3.3.3 Expression des résultats

La teneur en cendres est calculée par la formule suivante:

$$MO\% = \frac{M_1 - M_2}{P} \times 100 \quad (2)$$

Soit:

MO: matière organique en (g) ;

M₁: masse de creuset + la prise d'essai en (g) ;

M₂: masse de creuset après incinération en (g) ;

P: masse de la prise d'essai (g).

$$Tc\% = 100 - MO \quad (3)$$

Soit:

Tc: Taux de cendres.

3.3.4 .Détermination de l'acidité titrable (NF V 05-101, 1974)

Le principe de cette méthode consiste en un titrage de l'extrait de la matière végétale analysée avec une solution d'hydroxyde de sodium NaOH (0,1N) en présence de phénophtaléine comme indicateur de couleur.

3.3.4.1 Mode opératoire

- Peser 10g de l'échantillon et placer le dans une fiole conique, puis ajouter 70ml d'eau distillée récemment bouillie et refroidie, puis mélanger jusqu'à l'obtention d'un liquide homogène ensuite chauffer le contenu au bain marie pendant 30mn puis Refroidir, transvaser quantitativement le contenu de la fiole conique dans une fiole jaugée de 100ml et compléter jusqu'au trait de jauge avec l'eau distillée, bien mélanger puis filtrer et additionner 10ml du filtrat aux 10ml d'eau distillée enfin ajouter trois gouttes de phénolphtaléine et tout en agitant, titrer avec de la solution d'hydroxyde de sodium 0,1N jusqu'à l'obtention d'une couleur rose persistante pendant 30 secondes.

3.3.4.2 Expression des résultats

L'acidité titrable est calculée selon la formule suivante:

$$A\% = \frac{175 \times V_1}{V_0 \times M} \quad (4)$$

Soit:

M: masse prélevée en gramme;

V₀: volume en ml de la prise d'essai;

V₁: volume en ml de la solution NaOH à 0,1N.

3.3.5 Dosage des sucres

Pour ce dosage, on met en évidence trois catégories de sucres à savoir: le saccharose, les sucres totaux et réducteurs.

Avant de lancer les dosages, on prépare deux solutions Fehling A et B et les deux filtrats (1) et (2) de compositions suivantes:

3.3.5.1 Filtrat (1)

- Peser 10g de l'échantillon dans un bécher de 100ml et ajouter 2,5ml d'acétate de plomb et Remplir jusqu'au 2/3 du volume de bécher avec l'eau distillée puis agiter à plusieurs reprises et laisser reposer pendant 15min ensuite ajuster avec d'eau distillée à 100ml enfin homogénéiser et filtrer sur un papier filtre et récupérer le filtrat.

3.3.5.2 Filtrat (2)

- Prélever 50ml du filtrat(1) et ajouter 5ml d'HCl concentré puis chauffer le mélange au bain marie à 70°C pendant 5 min ensuite neutraliser avec NaOH (10N) en présence de phénolphtaléine à 1%.

a- Dosage des sucres totaux

✓ Mode opératoire

- Prélever 5ml de la solution Fehling A et 5ml de la solution Fehling B et ajuster jusqu'à 100ml avec l'eau de robinet puis chauffer le contenu jusqu'à ébullition durant 2min ensuite titrer par le filtrat(2) obtenu jusqu'à la disparition de la couleur bleue et ajouter 2 gouttes de bleue de méthylène jusqu'à ce que la coloration bleue soit remplacée par une coloration marron cuivrée enfin noter le volume de filtrat (2) V_2 .

✓ Expression des résultats

La quantité des sucres totaux dans la prise d'essai est donnée par la formule suivante:

$$S_T = \frac{500}{V \times (V_2 - 0.05)} \times 10 \quad (5)$$

Soit:

S_T : quantité des sucres totaux (g/100ml) ;

V: volume de la prise d'essai;

V_2 : volume du filtrat (2) utilisé au titrage.

b- Dosage des sucres réducteurs

✓ Mode opératoire

- Introduire 5ml de la solution Fehling A et 5ml de la solution Fehling B dans un bécher de 500ml et ajuster jusqu'à 100ml avec l'eau de robinet puis chauffer le contenu jusqu'à l'ébullition durant 2mn puis titrer par le filtrat(1) jusqu'à ce que la teinte bleue disparaisse et ajouter 2 gouttes de bleu de méthylène et continuer le titrage jusqu'à ce que la coloration bleue devienne rouge brique enfin arrêter le titrage et noter le volume du filtrat (1) dépensé V_1 .

✓ Expression des résultats

La quantité de sucres réducteurs dans la prise d'essai est calculée selon la formule suivante:

$$S_R = \frac{240}{V \times (V_1 - 0.05)} \quad (6)$$

Soit:

S_R : quantité des sucres réducteurs (g/100ml) ;

V: volume de la prise d'essai (ml) ;

V_1 : volume du filtrat (1) utilisé pour le titrage.

C-Taux de saccharose

La quantité de saccharose est calculée selon la formule suivante:

$$S = (S_T - S_R) \times 0.95 \quad (7)$$

Soit:

S: quantité de saccharose (g/l) ;

S_T : quantité des sucres totaux (g/l) ;

S_R : quantité des sucres réducteurs (g/l).

3.3.6 Dosage de l'acide ascorbique

Le dosage direct de l'acide ascorbique par la méthode iodométrique.

3.3.6.1 Principe

Cette méthode est basée sur la réaction d'oxydation de l'acide ascorbique par l'iode en milieu acide.

3.3.6.2 Mode opératoire

- Prendre 50ml du filtrat et ajouter 3ml de l'acide sulfurique (H_2SO_4) à 0,1N et quelques gouttes d'amidon à 0,5% comme indicateur coloré ensuite titrer le mélange par une solution d'iode à 0,05% jusqu'à l'apparition de la couleur bleue.

3.3.6.3 Expression des résultats

La quantité d'acide ascorbique que contient 1l de filtrat est donnée par la formule suivante:

$$Y = N \times 20 \times 4.4 \quad \text{D'acide ascorbique par litre.} \quad (8)$$

Soit:

N: nombre de ml d'iode versé;

Y: quantité de la vitamine C dans l'échantillon (mg/l).

3.4 Extraction et dosage des substances bioactive

3.4.1 Extraction de matière grasse par soxhlet

3.4.1.1 Principe

Un extracteur soxhlet (ou appareil de soxhlet) est une pièce de verrerie utilisée en chimie analytique et en chimie organique, elle permet de faire l'extraction par solvant continu. Cet appareil porte le nom de son inventeur Franz Von Soxhlet (figure 5)

La graine de lin est épuisée en matière grasse par le passage de solvant. On estime qu'une extraction est totale au bout de 2 heures. Le solvant utilisé est: l'hexane. Une fois l'extraction est terminée le solvant est récupéré à l'aide d'un Rotavapeur. Cette extraction repose sur le principe suivant : les composés apolaires comme les corps gras sont insolubles dans les composés polaires comme l'eau, mais solubles dans les solvants apolaires tels que l'hexane. Le point d'évaporation de l'hexane étant inférieur à celui de la matière grasse à extraire, il est donc très facile de les séparer par chauffage.

3.4.1.2 Mode opératoire

30 g de la poudre de la graine de lin sont mis dans la cartouche, puis celle-ci est placée dans le tube spécialement conçu relié à un ballon contenant 500ml de l'hexane puis on procède au chauffage du solvant, Le montage de l'appareil est lié à un réfrigérant en le branchant à un robinet puis brancher la prise du chauffe-ballon et régler la température à 60° C pendant 1 h et 30 min (l'extraction a été réalisée pendant environ 8 cycles) ensuite débrancher le chauffe-ballon. Arrêter le robinet après refroidissement puis démonter l'appareil , l'hexane de l'extrait a été évaporé sous vide à l'aide d'un Rotavapeur, la matière grasse obtenue a été analysée par la chromatographie phase gazeuse (CPG) pour déterminer le profil des acides gras (annexes 4 et 5). Enfin La matière grasse obtenue doit être conservée au frais et à l'obscurité pour que les acides gras ne perdent pas leur activités d'une part et empêcher leur oxydation d'autre part.

3.4.1.3 Expression des résultats

Le taux de la matière grasse est calculé selon la formule suivante :

$$\text{MG}(\%) = \frac{P1-P2}{ME} \times 100 \% \quad (9)$$

P2 : poids du ballon vide (g).

P1 : poids du ballon après évaporation(g).

ME : masse de la prise d'essai(g).

MG : taux de la matière grasse(g).

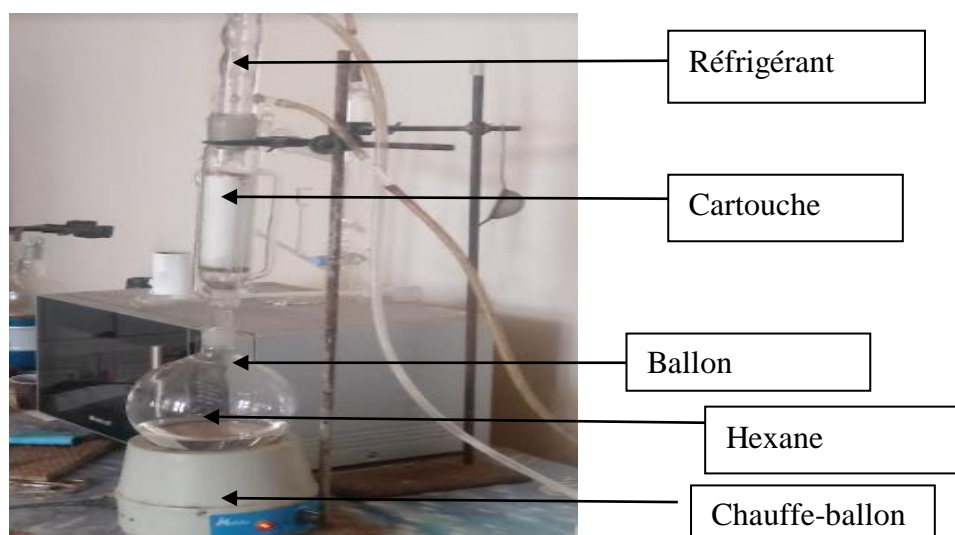


Figure 5: Montage d'extraction de la matière grasse par soxhle

3.4.2 Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols ont été déterminés par spectrométrie selon la méthode de Folin-ciocalteu (Singleton et *al.*1999). Ce réactif de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique

3.4.2.1 Principe

Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-ciocalteu en un complexe ayant une couleur constituée d'oxyde de tungstène ($W_8 O_{23}$) et de molybdène ($Mo_8 O_{23}$), l'intensité de la couleur est proportionnelle au taux des composés phénoliques oxydés (Biozot et Charpentier. 2006).

3.4.2.2 Mode opératoire

La poudre du végétal (0,25g) a été soumise à une extraction par macération dans deux solvants, l'eau distillée et l'éthanol (10 ml) pendant 72 h . Les extraits obtenus sont filtrés puis dosés par le protocole présenté dans la figure 6

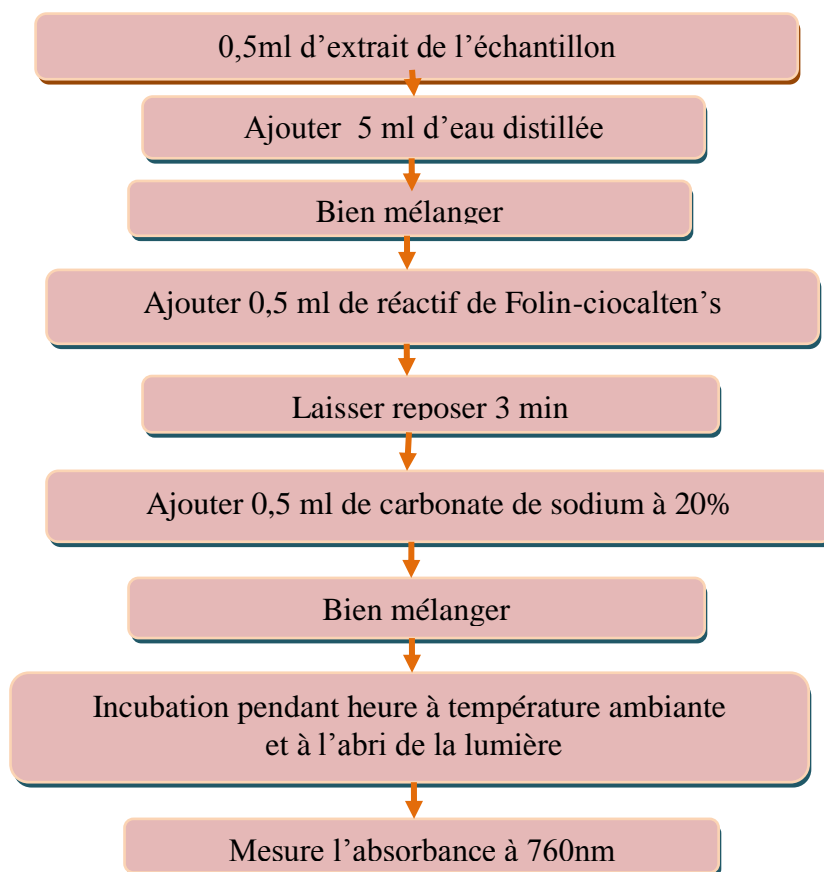


Figure 6: diagramme de dosage des polyphénols totaux (Singleton et *al.*1999)

3.4.2.3 Courbe d'étalonnage

La concentration en composés phénoliques totaux a été déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard d'étalonnage (annexe 6).

Les résultats des polyphénols totaux sont exprimés en milligramme d'Equivalent d'Acide Gallique par gramme de Matière Sèche de plante (mg EAG /g MS).

3.4.3 Dosage des flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ (Kosalec et *al.* 2004) a été adoptée pour quantifier les flavonoïdes dans les différents extraits obtenus (Figure 7).

3.4.3.1 Principe

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par la méthode basée sur la formation d'un complexe très stable, entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes (Ali-Rachedi et al. 2018)

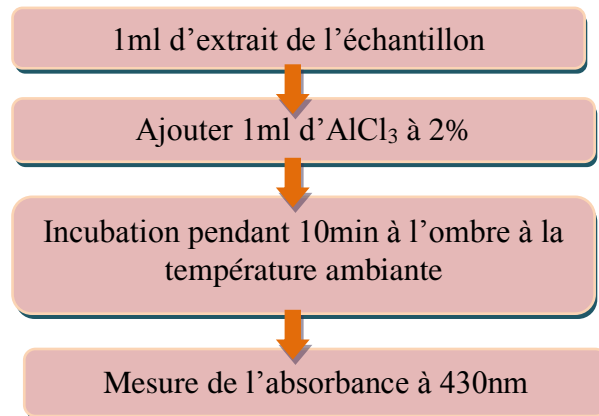


Figure 7: Etapes de dosage des flavonoïdes

3.4.3.2 Courbe d'étalonnage

La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire réalisée par la Quercétine comme étalon à différentes concentrations (0,001-0,01mg/ml) dans les mêmes conditions que l'échantillon.

Les résultats sont exprimés en milligrammes d'Equivalent de Quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS) présentés dans l'annexe 7.

3.4.4 Dosage des caroténoïdes

3.4.4.1 Principe

Les caroténoïdes sont des composés insolubles dans l'eau et soluble dans les solvants apolaire tels que l'hexane et le chloroforme. L'extraction de ces substances consiste a utilisé deux phases : une phase apolaire qui permet la récupération des caroténoïdes et une phase polaire (éthanol/acétone) qui élimine les interférents tels que les polyphénols et les flavonoïdes (Ammara et Dilmi .2017).

Mode opératoire

Peser 0,5 g de la poudre végétale finement broyée et ajouter 20 ml du mélange hexane/acétone/éthanol (2 :1 :1) ensuite agiter le mélange à l'abri de la lumière pendant 30 minutes puis filtrer et récupérer la phase supérieure par 10 ml d'hexane pour une deuxième extraction et réunir les deux phases enfin lire l'absorbance à 450 nm pour le dosage des caroténoïdes totaux , les concentrations des caroténoïdes sont estimées en se référant à la courbe d'étalonnage utilisant la solution mère de β -carotène (0,1g/ml de solvant) et les résultats sont exprimés en mg/100g d'extrait (Voir annexe 8 de la courbe d'étalonnage de la β carotène).

3.4.5 Extraction de mucilage du gombo et la graine de lin

Préparer deux béchers, ajouter 30 g de poudre de fruit de gombo dans l'un et 30 g de la poudre de la graine de lin dans l'autre bécher, et ajouter 30 ml d'eau distillée dans les deux béchers.

-Placer les deux béchers dans un bain marie à 50°C pendant 96 min, puis précipiter les deux solutions par 35 ml d'éthanol et sécher à 40°C ou à l'aide d'un lyophilisateur

3.5 Indice de gonflement des poudres des formulations élaborées

3.5.1 Principe

L'indice de gonflement est le volume en ml occupé par 1gramme de poudre, y compris le mucilage qui y adhère, qui a été mis à gonfler dans un liquide aqueux (Paris ,1976).

3.5.2 Mode opératoire

Dans une éprouvette graduée à bouchon rodé, de 20 cm de hauteur sur 20 mm de diamètre, introduire 1g de poudre. Humecter la poudre avec 1ml d'alcool et ajouter 25 ml d'eau. Agiter énergiquement toutes les 10 min pendant 1 h. Laisser reposer pendant 2h.

Mesurer le volume occupé par la poudre. Effectuer 3 essais simultanément. L'indice de gonflement est donné par la moyenne des 3essais.

$$IG = (V1 + V2 + V3)/3 \quad (10)$$

3.6 Pastillage de poudres des formulations élaborées

Les comprimés sont généralement fabriqués par compression d'un volume constant de particules obtenues par la méthode de granulation. L'opération de compression nécessite des presses qui peuvent être alternatives ou rotatives. C'est l'ensemble matrice/ poinçons qui va déterminer la forme du produit fini.

Cependant, compte tenu des propriétés des poudres (ou mélange de poudres) qui sont très sensibles à la manutention, à la provenance ou à la manipulation, la réussite du procédé de compactage et la formation d'un comprimé conforme demande une compréhension des propriétés fondamentales des poudres. Ces propriétés, peuvent-être d'ordre physico-chimique et/ou mécanique, permettent d'expliquer comment une formulation pourrait se comporter en compression.

3.6.1 Protocole opératoire

Chaque pastille élaborée pèse 4 g, une balance de précision permet de peser la masse de grains pour l'introduire dans la matrice . L'introduction manuelle des grains peut provoquer une perte dans la masse pesée initialement a été surestimée à 2 %, c'est pour ça nous avons ajouté quelques milligrammes.

Le pastillage des poudres de formulations élaborées a été réalisé à l'aide d'une presse manuelle HERZOG (Figure 8) ; en utilisant des poinçons ronds et plats et avec un diamètre de 40 mm. Le poids moyen de chaque pastille est de l'ordre de $4g \pm 0,05g$.

Les pastilles élaborées présentent des résistances mécaniques suffisantes pour pouvoir être manipulées sans s'effriter, ni se briser.



Figure 8 :Appareil de la pastilleuse (HERAZOG).

3.7 Analyses galéniques des pastilles

Certaines propriétés physiques et galéniques des pastilles élaborées ont été déterminées citant : l'épaisseur, la dureté et y compris l'étude in vitro (Taux de gonflement) a été effectuée dans une solution (eau distillée).

3.8 Taux de gonflement

Sachant que les comprimés une fois consommés pénètrent dans le tube digestif où l'estomac et ils vont subir un processus spontané d'absorption par les macromolécules telles que (protéines, cellulose...) s'accompagnant d'une importante augmentation du volume.

Dans le but de montrer le comportement rhéologique des constituants de nos pastilles au niveau de l'estomac nous avons utilisé : l'eau distillée. Pour réaliser ce test, les pastilles ont été pesées avec précision puis placées dans des béchers contenant 100 ml de solution (eau distillée) ; Après 5, 10, 15,30 minutes d'incubation à température ambiante, chaque pastillé a été retirée du milieu et légèrement époncée avec le papier absorbant pour enlever l'excès du liquide puis repesée.

3.9 Activité antioxydante

3.9.1 Test du DPPH

La capacité antioxydante des extraits de gombo et de la graine de lin a été déterminée selon la méthode de Kim *et al.* (2002). L'extrait de plante (0,1 ml) est ajouté à 2,9 ml de DPPH à 0,004% (P/V) dans du méthanol- eau (8 : 2).

La lecture de l'absorbance est faite à 517 nm après 30 mn d'incubation dans l'obscurité. Un blanc constitué de 50 % de méthanol et la solution de DPPH accompagné la lecture de chaque série. La vitamine C (acide ascorbique) est utilisée comme composé étalon et le résultat est exprimé en mg de vitamine C équivalent (mg VCE) par g de matière sèche. La solution radicalaire de DPPH est préparée fraîchement et les essais sont repris au moins trois fois (Kim *et al.* 2002)

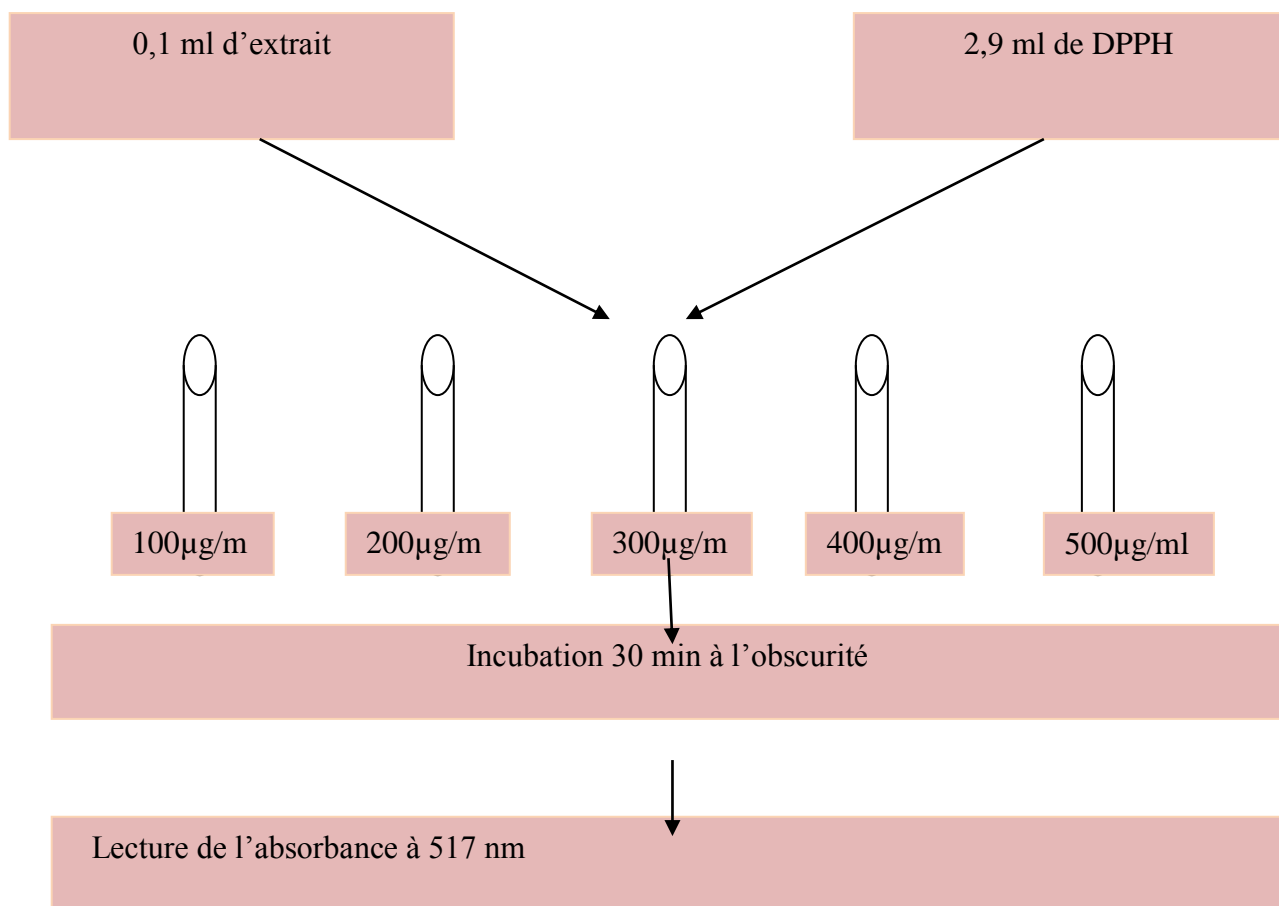


Figure 9 : Protocole de test du DPPH (Kim *et al.* 2002).

3.10 Mesure de la viscosité des gels élaborés

La caractérisation rhéologique des gels des formulations élaborées F1, F2, F3 et F4 a été effectuée par un rhéomètre HAAKE VT550 au niveau de l'Unité de recherche de l'Université de Boumerdès.

3.10.1 Mode opératoire

-Mettre une goutte de gel sur le plateau de Viscosimètre (Figure 10) de type (HAAKE VT550) puis allumer ce dernier. La programmation et la mesure se font avec le logiciel (HAAKE Rheowin 4.63.0004), puis les résultats sont présentés sous forme des courbes traduisant la viscosité des gels.



(a)

(b)

Figure 10: Préparation de l'échantillon dans le Viscosimètre (a) Viscosimètre en marche (b)

3.11 Analyse par microscope électronique à balayage (MEB)

Le microscope électronique à balayage permet d'obtenir des images à informations topographiques. Il fournit en particulier des informations sur la taille des grains.

L'analyse par microscopie électronique à balayage en utilisant un appareil de modèle MEB de type Philips ESEM XL 30 à filament de tungstène couplé à un système complet de la microanalyse X.



Figure 11 : Appareil de microscope électronique à balayage.

3.12 Activité antimicrobienne des extraits éthanolique préparés à base de la poudre de fruit de gombo et la poudre de la graine de lin et les quatre formulations élaborées

3.12.1 Principe

La méthode de diffusion sur des disques dont le principe est la détermination de la sensibilité des souches bactériennes (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* MU 50, *Enterococcus faecalis* et *Bacillus creus*) vis-à-vis les extraits à tester à été utilisée.

3.12.2 Préparation des milieux de culture

Dans notre travail nous avons utilisé les milieux de culture suivants:
La gélose Muller Hinton (MH) a été utilisée pour les souches bactériennes.

3.12.3 Préparation des disques

Des disques stérilisés du papier Wattman de 6mm de diamètre ont été utilisés, ces disques sont mis dans un tube à essai, à stériliser dans un autoclave et les garder le jusqu'à l'utilisation.

3.12.4 Préparation des prés cultures

Dans des boîtes Pétri les souches bactériennes à tester ont été cultivées contenant de la gélose nutritive et incubées pendant 18 à 20 h à 37°C. À la fin de l'incubation, on obtient des cultures jeunes de colonies isolées.

3.12.5 Standardisation des suspensions bactériennes

A l'aide d'une pipette Pasteur, nous avons prélevé quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques et ont été mises dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9% de sel (NaCl). La suspension bactérienne est bien homogénéisée.

L'absorbance (densité optique) de chaque suspension a été mesurée à une longueur d'onde de 620 nm et doit être comprise entre 0,08 et 0,1.

3.12.6 Mise en évidence de l'activité antibactérienne par la méthode des disques

La méthode de diffusion à partir d'un disque a été utilisée pour mettre en évidence l'activité antimicrobienne

Les disques préparés sont imbibés de 10 µl de chaque extrait. Par ailleurs, la gélose de Mueller-Hinton stérile a été coulée dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre jusqu'à une épaisseur de 4 mm puis laisser refroidir.

Des boîtes de Pétri stériles préalablement coulées, les souches ont étéensemencées par écouvillonnage à l'aide d'un écouvillon stérile, en tournant chaque fois la boîte environ 60° de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries.

A l'aide d'une pince stérile, les disques contenant les produits à tester ont été déposés à la surface de la gélose.

L'activité antimicrobienne est déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition qui apparait après incubation (24/37°C).

3.12.7 Lecture

La lecture se fait par la mesure des diamètres des zones d'inhibition et peut être symbolisée par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis de l'extrait

- Souche non sensible (-) ou résistante: diamètre < à 0,8 cm ;
- Souche sensible (+): diamètre compris entre 0,9 et 1,4 cm ;
- Souche très sensible (++) : diamètre compris entre 1,5 et 1,9 cm ;

· Souche extrêmement sensible (+++): diamètre > à 2,0 cm.

Chapitre VI: Résultats et discussion

1 Résultats de la caractérisation morphologique du fruit de gombo et des graines de lin

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau ci-dessous ;

Tableau VIII: Résultats des poids moyens de fruit de gombo (n=35) et les graines de lin (n=100)

	Gombo séché à 60°C	Gombo séché à 50°C	Gombo séché à l'air libre	Graines de lin (en poudre)
Pm ± l'écart type (g)	45 ± 6	39 ± 6	38,66 ± 0,94	1,93 ± 0,0203

D'après le tableau (VIII), les poids moyens des fruits gombo séché à des températures inférieures ou égales à 50°C sont presque similaires. Par contre les fruits de gombo séchés à 60°C possèdent un poids moyen un peu élevé.

Nous expliquons la différence de poids de trois types de fruits de gombo soumis aux différentes conditions de séchage par la taille de fruit séché initialement qui n'est pas homogène et aussi au phénomène de sorption de l'humidité suite à un séchage à la température de 60°C.

2 Résultats d'analyse phytochimique du fruit de gombo et des graines de lin

Les résultats des tests phytochimiques du fruit de gombo et des graines de lin sont regroupés dans le tableau IX.

Tableau IX : Résultats d'analyse phytochimique de fruit de gombo et des graines de lin

Composés phytochimiques	Observation et disponibilité	Résultats
	Fruit de gombo	Graine de lin
Anthocyanes	Absence de couleur rouge (-)	Absence de couleur rouge (-)
Tanins galliques	Coloration bleu noire (+)	Absence de coloration bleu noire (-)
Tanins	Absence de couleur bleu foncée (-)	Absence de coloration bleu foncée (-)
Flavonoïdes	Coloration rouge orange (+)	Coloration rouge orangée (++)
Saponosides	Présence de mousse (++)	Formation de mousse (+)
Quinones libres	Absence de couleur rouge violette (-)	Absence de couleur rouge violette (-)
Quinones combinées	Absence de couleur rouge (-)	Absence de couleur rouge (-)
Alcaloïdes	Absence de précipité rouge (-)	Absence de précipité rouge (-)
Glucosides	Coloration rouge brique mais pas de coloration violette (+++)	Coloration rouge brique ensuite violette (+++)
Coumarines	Apparition d'un trouble (+++)	Apparition d'un trouble (+ + +)
Sennosides	Absence de couleur jaune ou orange(-)	Absence de couleur violette rouge (-)

(+) : présence en faible quantité.

(++) : Présence en quantité moyenne.

(+ + +) : présence en forte quantité

(-) : absence des composés

Le tableau IX montre l'absence des anthocyanes, tannins, tannins galliques, quinones libres et combinées, alcaloïdes et sennosides au niveau de fruit de gombo. Ces résultats coïncident avec ceux de Yora et Syukur. (2018) lesquels ont démontré l'absence de quinones analysant divers génotypes du gombo (*Abelmoschus esculentus*)

Par contre, les coumarines, saponosides, flavonoïdes, tanins galliques sont présents dans ce génotype de gombo.

Nous constatons d'après ce tableau que la graine de lin est riche en flavonoïdes. Cependant, les tannins galliques, les quinones libres et combinées, les alcaloïdes et les sennosides sont absents.

Notamment, les coumarines sont présentes dans les deux matières végétales analysées ; ces composés phénoliques exercent une activité anti-inflammatoire et aussi une activité antimicrobienne (Tiwari et al. 2016).

En effet, les flavonoïdes sont des substances solubles dans l'eau, ont un rôle antioxydant, capables de piéger de radicaux libres, et peuvent prévenir les dommages cellulaires oxydatifs. Elles ont également une forte activité anticancéreuse.

3 Résultats de la caractérisation physico-chimique du fruit de gombo et des graines de lin

Les résultats de la caractérisation de certains paramètres physico-chimiques (acidité titrable (%), pH, teneur en eau (%)) du fruit de gombo, des graines de lin sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau X : Résultats de la caractérisation physico-chimique de fruit de gombo et les graines de lin

Paramètres physico-chimiques	Gombo séché à 50°C	Gombo séché à 60°C	Gombo séché à l'air libre	Graines de lin
pH	5,21±0,0003	5,16±0,00006	4,88±0,0023	5,56±0,0002
Teneur en eau (%)	10 ±0	10 ±0	10 ±0	1 ±0
Acidité titrable (%)	2,62	4,7	3,9	1,1

Les résultats du tableau X démontrent que les fruits de gombo et des graines de lin présentent un pH acide.

Les fruits de gombo séchés à différentes températures possèdent des humidités similaires élevées de (10%), cette teneur d'humidité favorise le développement des microorganismes.

Il est constaté que que l'augmentation de la température de séchage influence l'acidité du fruit de gombo. En effet, les fruits de gombo séchés à 50°C et à 60°C présentent des valeurs élevées en acidité qui sont de 2,62% et 4,7% respectivement. Ces valeurs sont supérieures à celles rapportées par Dos Santos et *al.* (2019) séchant les fruits de gombo aux mêmes températures l'acidité des fruits de gombo séchés à 50°C est de 0,83% et celle des fruits de gombo séchés à 60°C est de 0,61%.

Les résultats de la caractérisation physico-chimique des fruit de gombo et les graines de lin sont présentés dans le tableau ci-dessous

Tableau XI: Résultats du dosage des sucres contenus dans les extrait des fruit de gombo et des graines de lin

		Gombo séché à l'air libre	Graines de lin
Sucres (g/ml)	Sucres totaux	4,66	0
	Taux de saccharose	4,39	0
	Sucres réducteurs	0,03	0









D'après le tableau XI nous constatons aussi que le fruit de gombo est riche en **sucres** totaux contrairement aux graines de lin ou ils sont complètement absents .

Nous constatons aussi l'absence de la vitamine C chez la poudre de gombo et des graines de lin ceci peut s'expliquer d'une part, l'effet de la température de séchage qui influence négativement la conservation de la vitamine C et du stade de la récolte d'autre part.

3.1 Résultats des formulations élaborées F1, F2, F3, F4

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau ci-dessous ;

Tableau XII : Aspect des formulations élaborées

Formulations	Formulations sous forme Coagulée	Formulations sous forme de poudre
F1		
F2		
F3		
F4		

Les résultats de la caractérisation physico-chimique des formulations élaborées F1, F2, F3, F4 sont présentés dans le tableau ci-dessous

Tableau XIII : Résultats du dosage des sucres des quatre formulations élaborées

Paramètres physico-chimiques		Formulation 1	Formulation 2	Formulation 3	Formulation 4
Sucres (g/l)	Sucres totaux	0	0	1,95	0
	Taux de saccharose	0	0	1,77	0
	Sucres réducteurs	0	0,10	0,08	0

Les résultats du tableau XIII révèlent que la formulation F3 est plus riche en sucres totaux, mais la teneur est moins importante que celle du fruit de gombo. Cependant, les autres formulations F1 et F4 sont dépourvues des sucres.

Nous constatons aussi l'absence de la vitamine C l'ensemble des formulations élaborées ceci peut s'expliquer d'une part l'effet de la température de séchage qui influence négativement la conservation de la vitamine C et du stade de la récolte d'autre part.

4 Résultat des extraction et dosage des substances bioactives

4.1 Résultats d'extraction de la matière grasse des graines de lin

La matière grasse extraite des graines de lin est présentée dans la figure suivante :



Figure 12 : Résultat d'extraction de matière grasse des graines de lin.

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau ci-dessous ;

Tableau XIV : Profil en acides gras d'huile des graines de lin obtenu par chromatographie en phase gazeuse (% m/m d'esters méthyliques)

Composition et teneur en acides gras d'huile des graines de lin en (%)			
Acides gras	Denomination	Huile des graines de lin commercialisée	Huile extraite des graines de lin par Soxhlet
C14:0	Acide Myristique	0,05	0,05
C16:0	Acide palmitique	6,55	5,31
C16 :1 ω 7	Acide palmitoléique	0,05	0,05
C18:0	Acide stéarique	5,06	4,84
C18 : 1 ω 9	Acide oléique	19,82	20,21
C18 : 2 ω 6	Acide linoléique	22,92	15,96
C18 : 3ω3	Acide linoléique	44,75	52,69
C20 ; 0	Acide Arachidonique	0,21	0,13
C20 :1	Acide gondoïque	0,14	0,28
C22 :0	Acide Béhenique	0,21	0,10

Dix acides gras sont identifiés dans les deux huiles analysées (Figure 13) à savoir l'acide gondoïque , Béhenique, Arachidonique, linoléique, oléique, stéarique, linoléique, et l'acide palmitique à différents pourcentages. Cependant, l'acide palmitoléique et l'acide Myristique sont présents sous forme de traces dans les deux types d'huiles analysées.

L'huile des graines de lin est très riche en ω 3 (acide linoléique), en ω 6 (Acide linoléique) et en ω 9 (Acide oléique) ; des teneurs presque similaires caractérisent les deux huiles analysées.

Les acides gras ω 6 et surtout ω 3 sont bénéfiques pour la santé humaine, notamment ils préviendraient l'apparition de certains cancers, de l'athérosclérose et de l'obésité (Kaleem, 2013). En outre, ces acides peuvent réduire le risque des maladies cardiovasculaires en diminuant le taux de triglycérides dans le sang.

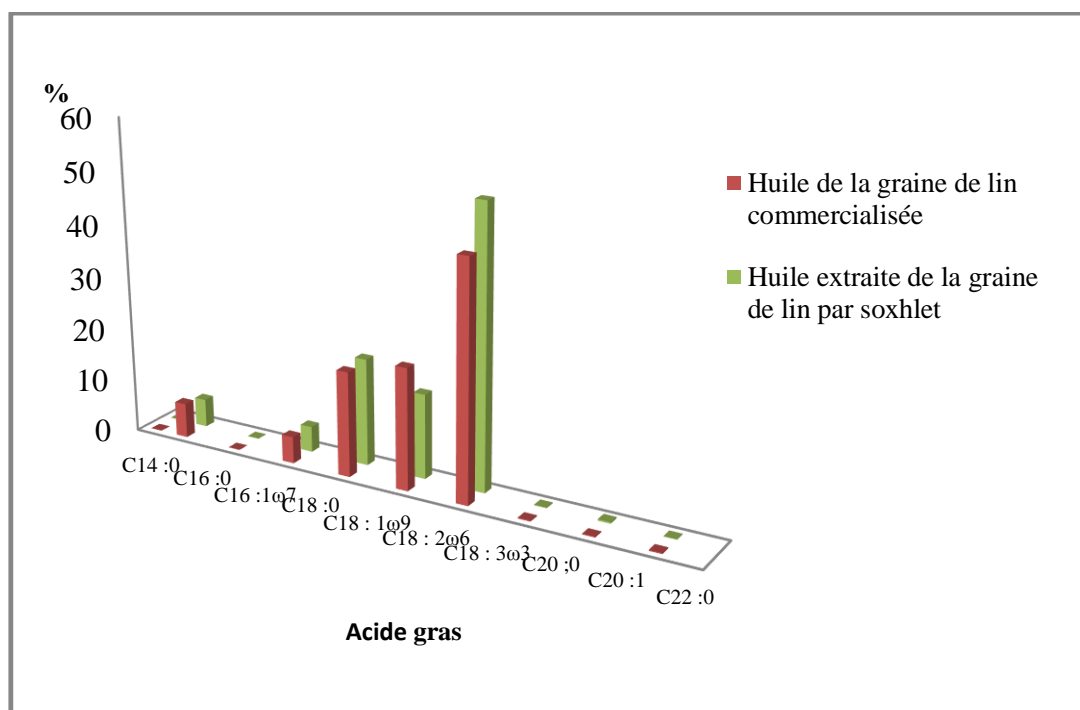


Figure 13: Comparaison entre les acides gras des deux huiles des graines de lin en %.

4.2 Résultats du dosage des polyphénols totaux du fruit de gombo, les graines de lin et les formulations élaborées

Les taux de polyphénols totaux de nos extraits sont présentés dans le tableau XV.

Tableau XV : Résultats du dosage des polyphénols totaux des extraits aqueux et éthanoliques des différentes formulations, des fruits de gombo séchés à l'air libre et des graines de lin.

Echantillons	Teneur en polyphénols de l'extrait aqueux (mg EAG/g MS)	Teneur en polyphénols de l'extrait éthanolique (mg EAG/g MS)
F1	0,308	0,271
F2	0,451	0,894
F3	0,310	0,282
F4	0,563	0,178
Fruits de gombo séchés à l'air libre	0,487	0,242
Graines de lin	0,298	0,284

Nous remarquons d'après le tableau XV que les extraits aqueux des formulations F4 et F2 et le fruit de gombo présentent des teneurs élevées en polyphénols respectivement (0,563mg EAG/g MS ; 0,451 mg EAG/g MS et 0,487 mg EAG/g MS).

L'extrait éthanolique de la formulation F2 présente la meilleure valeur en polyphénols totaux. Cette déférence dans les teneurs peut être attribuée aux divers facteurs notamment le type de solvants, les facteurs intrinsèques (génétique) et extrinsèques (origine géographique, conditions climatiques, les pratiques culturelles, la maturité à la récolte et les conditions de stockage).

4.3 Résultats d'analyse des flavonoïdes

La concentration des flavonoïdes est calculée selon l'équation de la courbe d'étalonnage suivante $DO = C \times 0,0942$

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau XVI : Résultats du dosage des flavonoïdes des extraits aqueux et éthanoliques des différentes formulations, des fruits de gombo séchés à l'air libre et des graines de lin.

Extrait éthanolique	Concentration des flavonoïdes (mg EQ/g d'extrait éthanolique)	Extrait aqueux	Concentration des flavonoïdes (mg EQ/g d'extrait aqueux)
F1	7,85	F1	5,83
F2	6,38	F3	4,03
F3	8,05	F3	5,83
F4	7,21	F4	4,45
Poudre des fruits de gombo	7,32	Poudre des fruits de gombo	4,67
Poudre des graines de lin	7,60	Poudre des graines de lin	1,67

Nous remarquons d'après le tableau XVI que les extraits éthanoliques de l'ensemble des formulations, la poudre des fruits de gombo et les graines de lin présentent des teneurs élevées en flavonoïdes en comparaison avec leurs extraits aqueux. Nous constatons aussi que, l'extrait éthanolique de la formulation F3 est le plus riche en flavonoïdes dont la valeur est de 8,05 mg EQ/g d'extrait.

Nous pouvons conclure que l'éthanol est le meilleur solvant d'extraction de ces substances bioactives.

4.4 Résultats du dosage des caroténoïdes

Les résultats obtenus sont présentés dans la figure ci-dessous ;

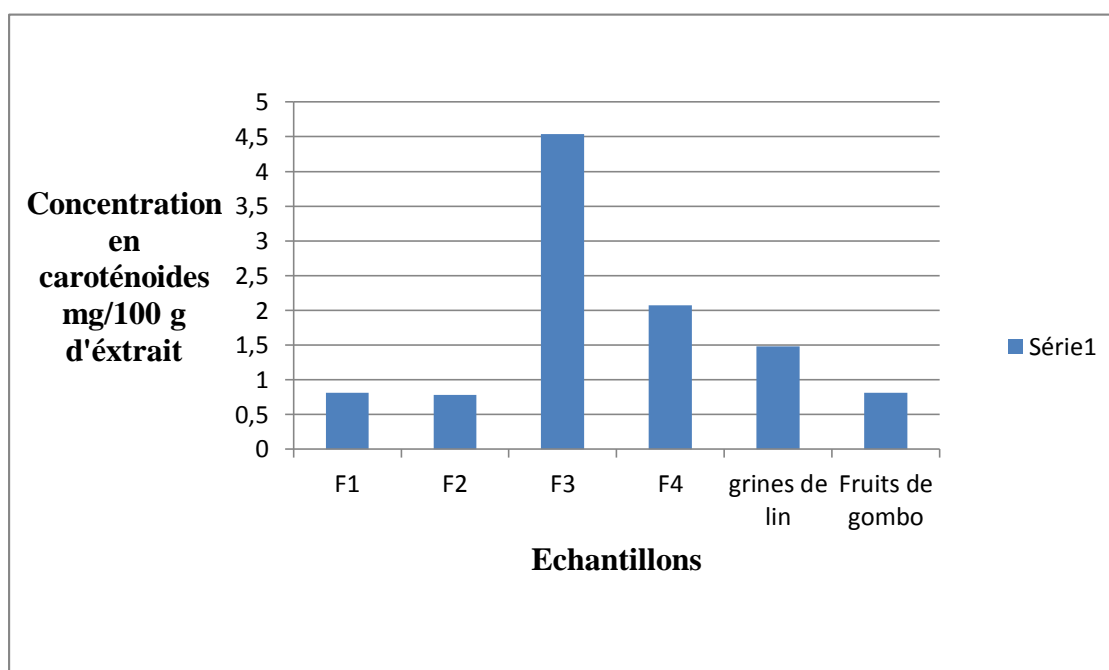


Figure 14: Histogrammes représentant les concentrations en caroténoïdes des différents échantillons .

Les résultats de la figure 14 démontrent que la formulation F3 est très riche en caroténoïdes par rapport aux autres formulations dont la valeur est de 4,5 mg/100g d'extrait. Cependant, les graines de lin et le fruit de gombo présentent des concentrations faibles en caroténoïdes (1,48 mg/100g d'extrait ; 0,81 mg/100g d'extrait) respectivement.

4.5 Résultats d'extraction du mucilage des graines de lin et le fruit de gombo

Les graines de lin et le fruit de gombo possèdent de mucilage (Figure 15). Cette substance a plusieurs applications alimentaires (additif, comme agents de fouettage, de texturation, d'émulsifiant, épaississant et gélifiant). Les mucilages possèdent plusieurs activités anticancéreuse, antimicrobienne, hypoglycémique et antiulcéreuse (Gemedé et *al.* 2018). L'efficacité des mucilages des graines de lin à prévenir l'inflammation intestinale, diminuer la glycémie et le cholestérol sanguin, et comme lubrifiant pour la peau et même sous forme de mucus artificiel a été prouvée (Fabre et *al.*2014).

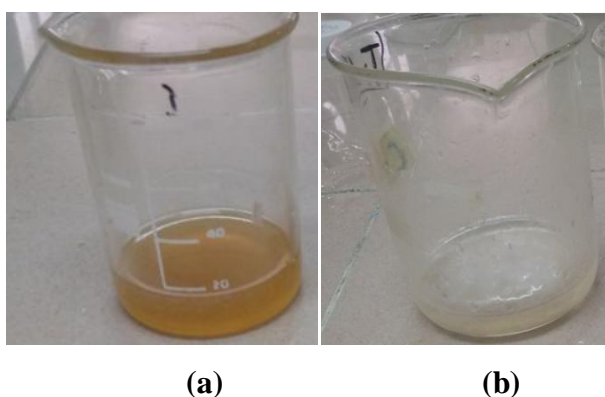


Figure 15 : Aspect du mucilage extrait de fruit de gombo (a) et des graines de lin (b)
A la lumière de ces résultats nous pouvons conclure que les graines de lin et le fruit de gombo constituent une source de substances bioactives de haute valeur biologique.

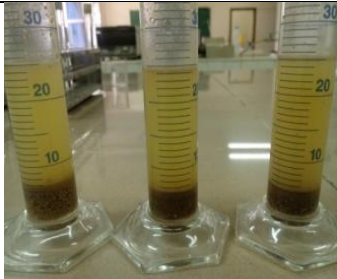
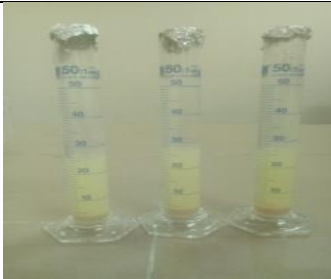
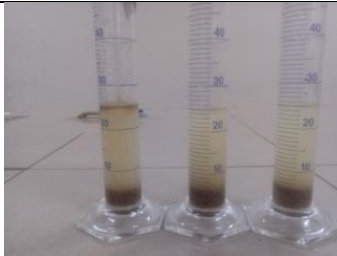

5 Résultats d'indice de gonflement de différentes formulations en poudre

Les résultats d'indice de gonflement sont illustrés dans le tableau XVII .

Après 3 heures de repos, deux phases sont observées pour l'ensemble des formulations, une phase présente les particules gonflées et l'autre présente le surnageant, donc les graines de lin possèdent des mucilages.

Nous remarquons aussi l'apparition d'une fine couche d'huile sur la surface de surnageant pour les formulations F1 et F2 celles-ci présentent les plus grandes valeurs d'indice de gonflement (6.33ml : 5,7ml) respectivement, en comparaison aux autres formulations.

Tableau XVII : Indice de gonflement des différentes formulations

Formulations	Indice de gonflement après 3 heures	Formulations	Indice de gonflement après 3 heures
F 1	 IG = 6,33±0,76	F3	 IG=4,76±0,10
F 2	 IG=5,7±0,18	F4	 IG=2,66±0.22

6 Résultats de caractéristiques physiques des pastilles

Selon la caractérisation mécanique préliminaire, la valeur de 160 kPa s'est avérée la force optimale pour avoir des pastilles avec une friabilité acceptable. Les pastilles sont très fragiles et friables au-dessous de cette valeur.

Il est connu que la force de compression, est le facteur principal qui détermine le taux d'érosion.

Les résultats de quelques propriétés physiques de cinq types de pastilles des formulations (F1, F2, F3, F4) et celles de la poudre des graines de lin sont récapitulés dans le tableau suivant :

Tableau XVIII: Quelques propriétés physiques des pastilles élaborées

Formulations	F1	F2	F3	F4	Poudre des graines de lin
Poids (g)	3,45	3,34	4,01	3,99	3,35
Force exercée (KPa)	160				
Epaisseur (mm)	3,65				
Diamètre (mm)	40±0 ,05				

Afin d'obtenir des pastilles de même poids, une masse de 4 g a été pesée pour chaque formulation. Lors de la compression, le poids des pastilles à base de la poudre de graine de lin a diminué à cause de la libération de l'huile par les graines de lin.

L'aspect des pastilles diffère selon la composition des formulations (Figure 16).



Figure 16 : Aspect des pastilles des formulations élaborées.

6.1 Taux de gonflement des pastilles

La figure suivante présente la cinétique des taux de gonflement des pastilles des formulations élaborées dans l'eau distillée.

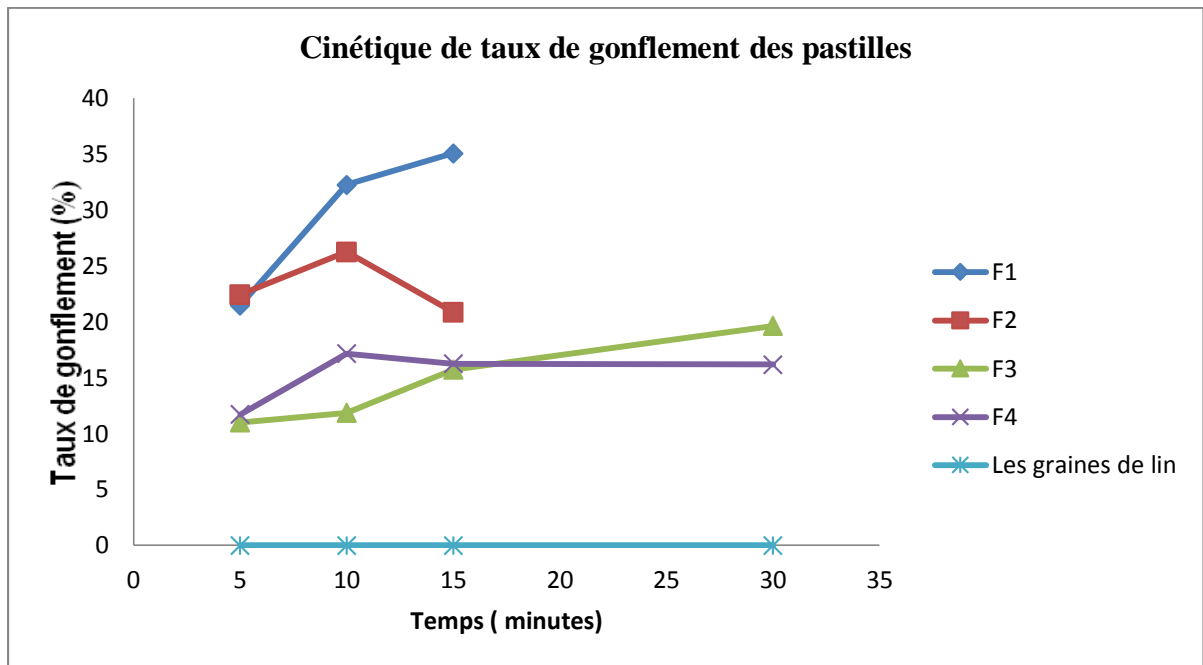


Figure 17: Cinétique de taux de gonflement des pastilles.



Figure 18: Photographie d'évolution des taux de gonflement des pastilles des formulations F1, F2, F3, F4 et celle de la poudre des graines de lin dans un milieu de dissolution (eau distillée).

Les pastilles des formulations F1, F2, F3 et F4 et celle de la poudre des graines de lin ce différencient dans les temps de gonflement. Le temps de désintégration de l'ensemble des pastilles élaborées est moins de 15 minutes donc conforme aux exigences de la pharmacopée européenne qui préconise un seuil maximal de 15 minutes (Benahmed Djillali et *al* , 2010). Le temps réduit de désintégration est dû à la composition chimique de chaque formulation.

En particulier, les pastilles à base de la poudre des graines de lin seules se décomposent complètement pendant l'essai de gonflement en quelques secondes, ceci confirme la non possibilité d'élaborer des pastilles à base de poudre des graines de lin sans substances liantes. Contrairement les pastilles contenant de l'infusé de fruit de gombo qui est responsable de la rigidité des pastilles puisqu'il est riche en mucilage responsable de la cohésion.

La prise d'eau des pastilles de toutes les formulations est due à la présence des fibres et mucilage qui absorbent de l'eau.

Les résultats trouvés coïncident avec ceux de Benahmed Djillali (2012) qui a signalé un taux de gonflement élevé pour des comprimés à base de la poudre de dattes sèche *Mech-Degla* par contre un taux très faible a été constaté pour les comprimés à base du mélange spiruline et de la poudre de dattes.

Nous pouvons conclure que les formulations possèdent des propriétés très intéressantes de point de vue aptitudes technologiques (séchage, bon écoulement, compactage) et des propriétés galéniques (dissolution totale rapide avec libération des principes actifs). On préconise d'utiliser ces formulations soit comme principe actif à effet thérapeutique (propriété anti-inflammatoire) soit comme excipient (agent liant) en utilisant ses composés de mucilages par exemple.

6.2 Résultats du test de libération des flavonoïdes des pastilles des formulations F1, F2, F3, F4, et celles de la graine de lin dans l'eau distillée

Les résultats obtenus sont présentés dans la figure ci-dessous ;

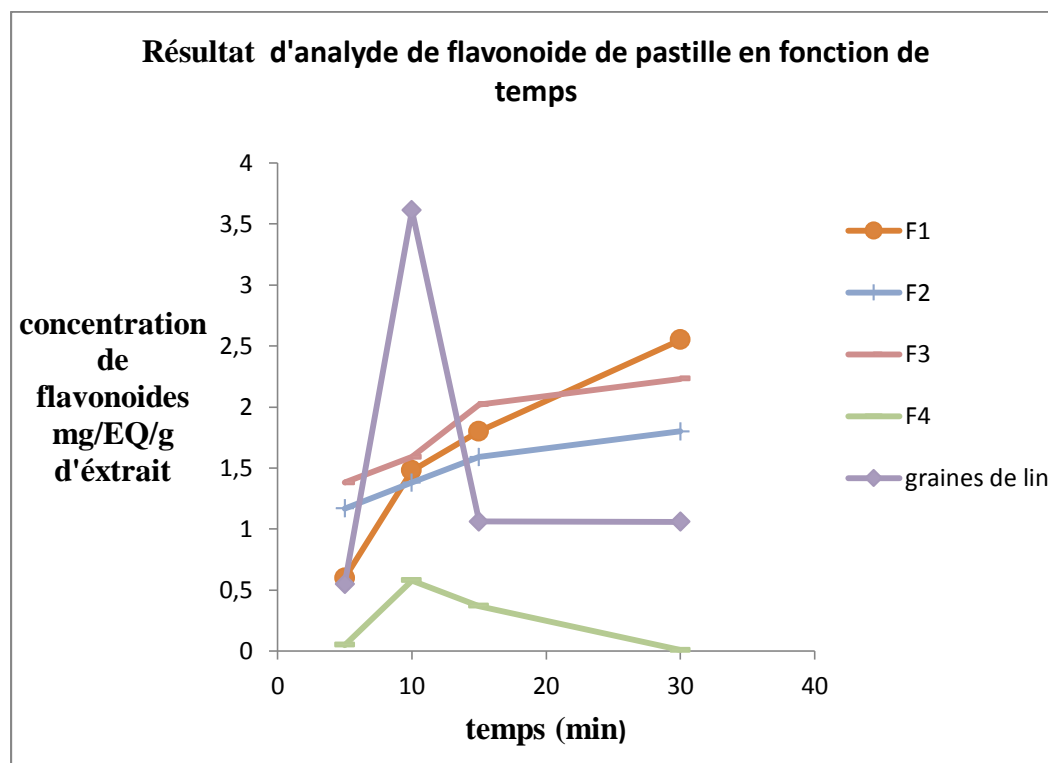


Figure 19: Concentrations des flavonoïdes libérés des différentes pastilles en fonction de temps d'immersion dans l'eau distillée.

D'après les résultats de la figure 19 nous remarquons que la libération des flavonoïdes des pastilles des formulations élaborées dans l'eau augmente avec le temps d'immersion dans l'eau distillée. Nous constatons aussi que la formulation F1 libère une teneur importante en flavonoïdes qui est de 2,55 mg EQ/g d'extrait durant 30 min. Cette teneur moindre par rapport à celle libérée de la pastille de la poudre des graines de lin au bout de 10min 3,61 mg EQ/g d'extrait.

L'ensemble des pastilles des différentes formulations élaborées et celles préparées à base de la poudre des graines de lin présentent un temps de libération des flavonoïdes conforme à la PE, (2010).

7 Résultats de l'activité anti-oxydante

Les résultats de l'activité antioxydante de nos échantillons (Tableau XVII) sont exprimés en tant qu'activité antiradicalaire où l'inhibition des radicaux libres en pourcentages (I %) en utilisant la formule suivante :

$$\% = [(Abs \text{ Échantillon} - Abs \text{ de blanc})/Abs \text{ de blanc}] \times 100$$

% : pourcentage d'inhibition

Tableau XIX : Activité antioxydante des extraits éthanoliques et aqueux de fruit de gombo, des graines de lin et les formulations élaborées.

Échantillons	(%) d'inhibition	
	Extraits aqueux	Extraits éthanolique
F1	4,5±1,5	77,263±13.77
F2	31,8±13,7	39,3±12,73
F3	6,06±3,59	30,3±4,5
F4	3,03±1,5	40,09±14,19
Poudre des graines de lin	60,6±6,5	71,2±4,54
Poudre de fruit de gombo	10,6±4,5	43,39±4,8

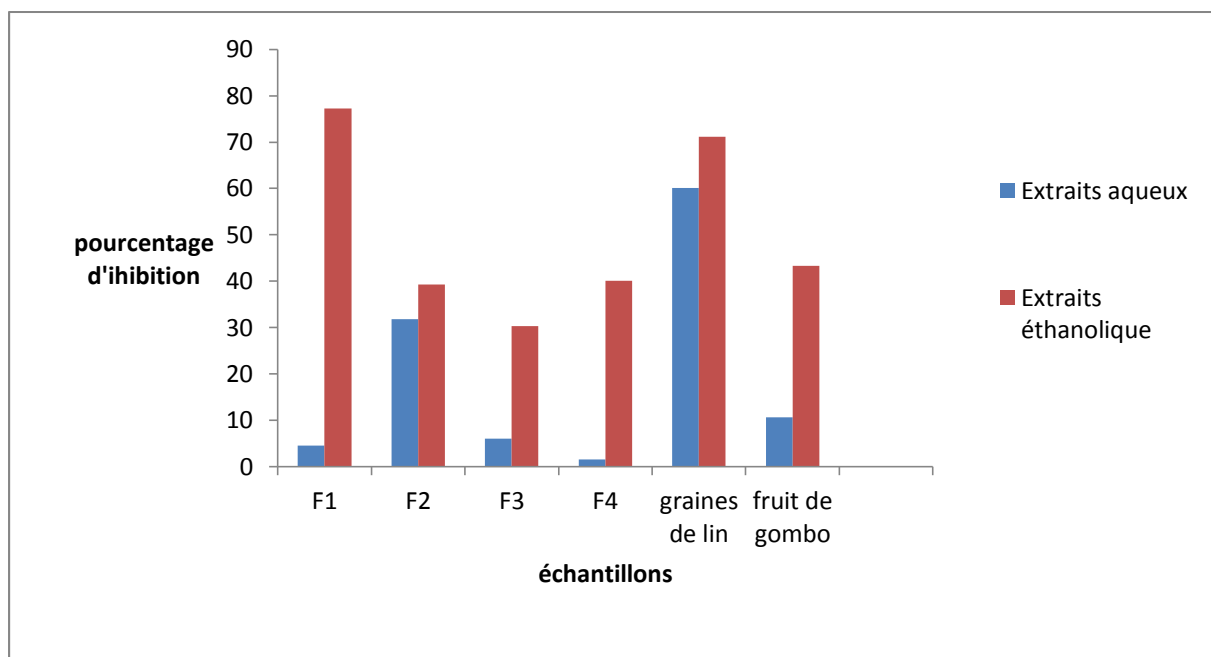


Figure 20 : % d'inhibition des extraits éthanoliques et aqueux de fruit de gombo et des graines de lin et les formulations élaborées.

D'après les résultats de la figure 20 nous remarquons que, l'extrait éthanolique de la formulation F1 et celui des graines de lin ont plus d'activité antioxydante dont les pourcentages d'inhibition sont présentés respectivement (77,26%, 71,2%).

Nous constatons aussi que l'extrait de fruit de gombo a un pourcentage d'inhibition de valeur (43,39%), cette valeur est inférieure à la valeur déclarée par Yasin et *al.* (2020) qui est de valeur (52,72%).

Le gombo a une capacité de traiter les ulcères gastriques qui sont causés par le stress oxydatif (Yasin et *al.*, 2020), et peut être utilisé en agroalimentaire, en cosmétique et en industrie pharmaceutique (Kanfon et *al.* 2018).

Nous constatons aussi que, les extraits aqueux présentent des % d'inhibition (activité antioxydante) moins importants que les extraits éthanoliques.

Alors, on déduit que les extraits éthanoliques ont la capacité plus importante d'inhiber les radicaux libres que les extraits aqueux. Cette inhibition s'explique par la disponibilité des flavonoïdes dans les extraits éthanoliques que les extraits aqueux possédant des teneurs faibles en flavonoïdes.

8 Résultats d'analyse de la viscosité des gels des formulations (F1, F2, F3 et F4)

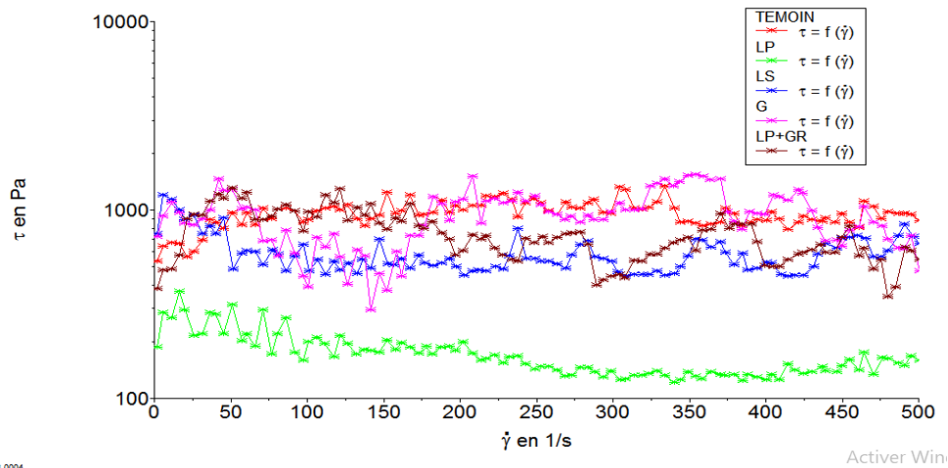


Figure 21: Evolution de la contrainte de cisaillement des différentes formulations en fonction de la vitesse de cisaillement.

La figure 21 démontre que la contrainte de cisaillement (τ) augmente avec la vitesse de cisaillement ($\dot{\gamma}$).

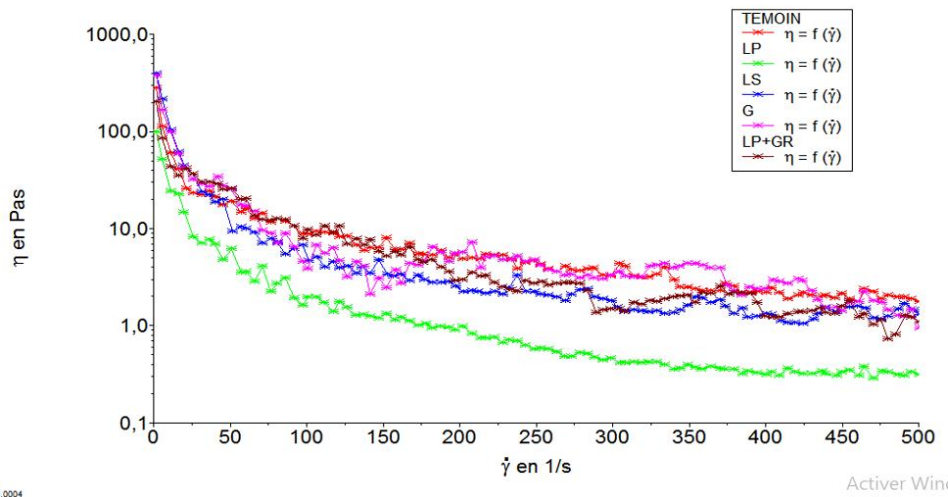


Figure 22: Évolution de la viscosité en fonction de la contrainte de cisaillement des différentes formulations.

Selon la figure 22 nous observons qu'une faible vitesse de cisaillement induit une diminution rapide de la viscosité pendant les 50 premières secondes.

Alors on distingue que les 4 gels sont des fluides non-newtonien dans lequel la viscosité varie en fonction de la vitesse de cisaillement rhéofluidifiant .Nguyen. (2010) déclare que les

fluides rhéofluidifiants ont une viscosité qui diminue avec l'augmentation de la vitesse de cisaillement (vitesse de déformation).

D'après les figures 21 et 22 nous observons aussi que les gels des formulations F1 et F4 présentent des viscosités plus élevées que les deux autres gels.

En comparant avec le témoin (gel gastrique pharmaceutique *gatimox*), les 4 gels ont presque le même comportement que le gel pharmaceutique, celui-ci est moins visqueux que les deux gels F4 et F1.

La diminution de la viscosité s'explique par l'augmentation du gradient de vitesse ou les particules en suspension s'orientent dans le sens de l'écoulement, permettant un meilleur glissement des particules (Nguyen, 2018).

9 Résultats d'analyse par Microscope Electronique à Balayage (MEB)

Les structures microscopiques des échantillons analysés par le MEB au grossissement 100 μ m sont présentées par les figures suivantes :

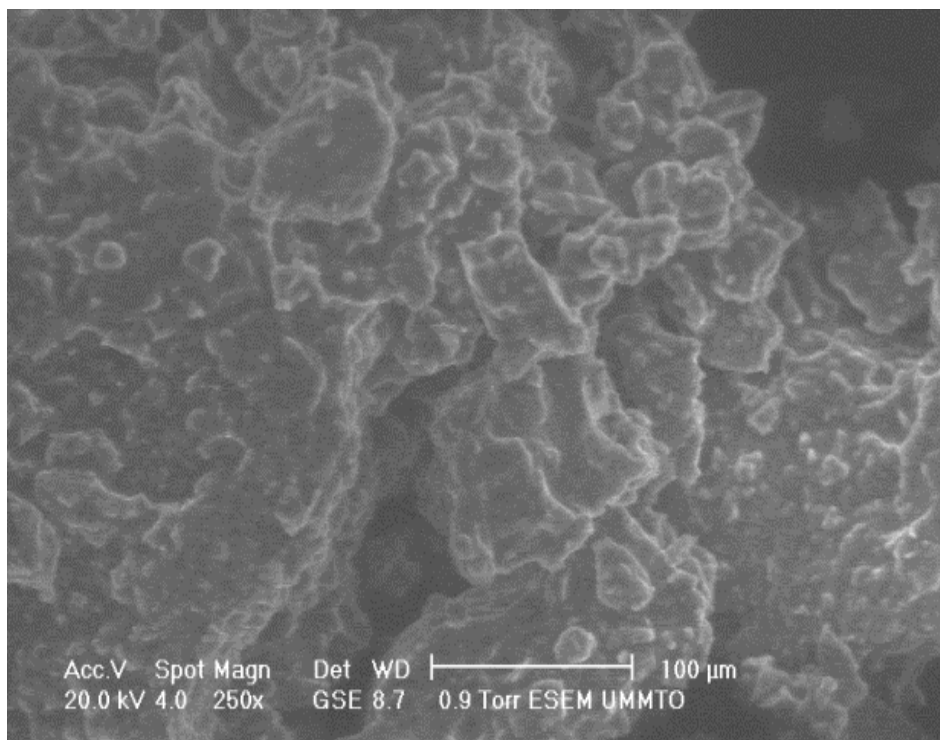


Figure 23: Structure microscopique de la formulation F1.

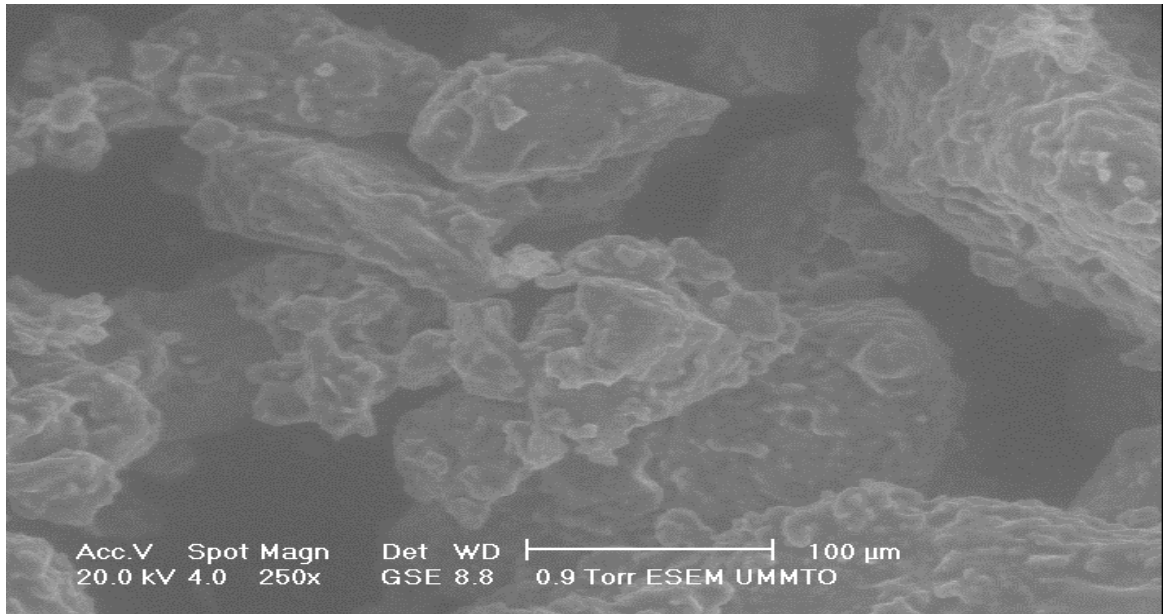


Figure 24 : Structure microscopique de la formulation F2.

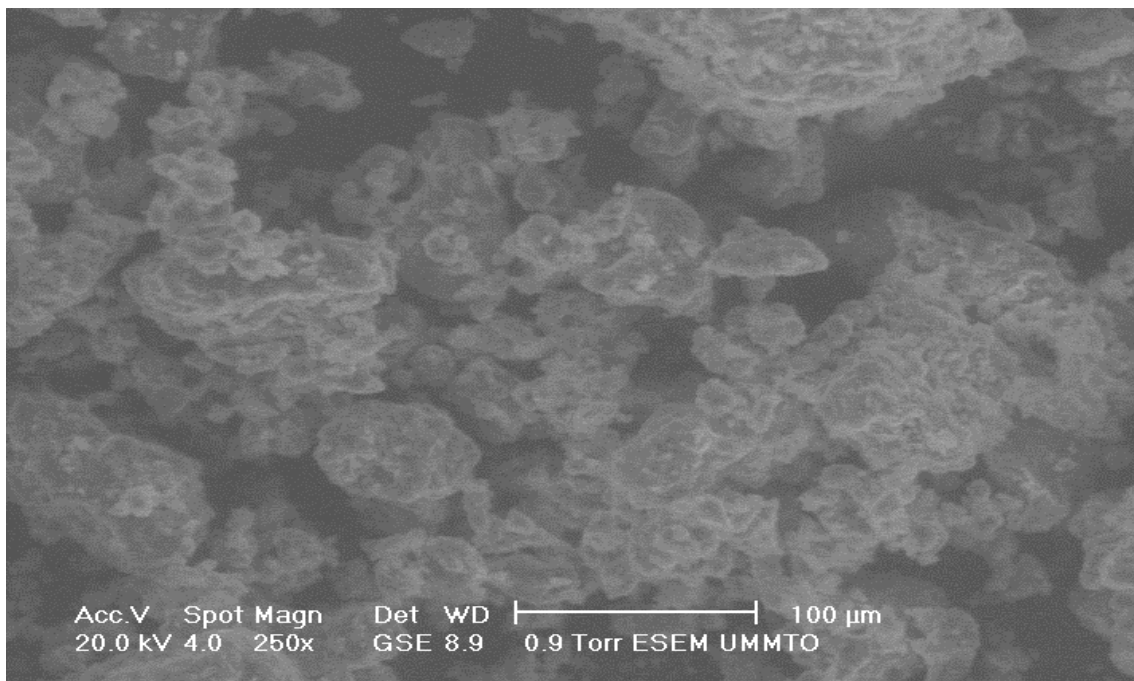


Figure 25 : Structure microscopique de la formulation F3.

Grâce au microscope électronique à balayage (MEB), les structures microscopiques de différentes formulations F1, F2 et F3 mettent en évidence une masse de particules qui sont de type complexe avec la forme agglomérée. En tant que matériaux biologiques, les trois poudres étudiées sont constituées de diverses particules de forme relativement irrégulières non poreuses de même nature que les polymères.

10 Activité antimicrobienne des extraits éthanoliques des quatre formulations (F1, F2, F3 et F4), fruits de gombo et les graines de lin

Photographie des zones d'inhibition sont présentés dans l'annexe 9 et 10.

Les résultats d'activité antimicrobienne sont présentés dans le tableau ci-dessous ;

Tableau XX: Diamètre des zones d'inhibition des extraits des échantillons contre les souches testées (*Enterococcus faecalis* et *Bacillus creus*, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Staphylococcus aureus* MU50).

Souches étudiées / Extrait éthanolique testé	Diamètres des zones d'inhibition (mm)			
	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Bacillus creus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	<i>Staphylococcus aureus</i> MU50
F1	10,66±0,02	0	0	7
F2	0	0	0	11.6±0,086
F3	0	0	13±0,083	9±0,013
F4	0	0	9±0,043	9±0,09
Graines de lin	10±0,66	0	9,3±0,005	11
Fruit de gombo	0	0	9	13±0,013

Nous remarquons d'après le tableau XX que les deux souches testées (*Enterococcus faecalis* et *Bacillus creus*) sont résistantes aux extraits éthanolique des différents échantillons.

Nos résultats sont similaires à ceux rapportés par Solomon et *al.* (2016) ont démontré que *Bacillus creus* et *Enterococcus faecalis* sont résistantes aux extraits des fleurs de gombo, mais

elles deviennent plus sensibles en augmentant la concentration de l'extrait de la fleur de gombo.

Nous remarquons d'après le tableau (XX) que presque tous les extraits et l'infusé testés se sont révélés actifs avec des zones d'inhibition différentes vis-à-vis toutes les souches (*Staphylococcus aureus* MU50 et *Staphylococcus aureus* ATCC25923). Cette inhibition est due à la présence de molécules bioactives (flavonoïdes, coumarines, mucilage) .

L'infusé de fruit de gombo a exercé un effet inhibiteur le plus puissant, la plus grande zone d'inhibition a été observée avec un diamètre d'inhibition ($\emptyset = 13$ mm) contre *Staphylococcus aureus* MU50. Cependant, *Staphylococcus aureus* ATCC25923 a montré une faible zone d'inhibition (moins sensible) en comparaison aux autres souches bactériennes testées ($\emptyset = 9$ mm).

Nos résultats montrent aussi l'absence de l'activité antimicrobienne de F1 vis-à-vis les souches testées (*Staphylococcus aureus* ATCC25923 et *Staphylococcus aureus* MU50) en comparant aux extraits éthanoliques.

Nous pouvons conclure que l'étude de l'effet dose de ces extraits semble être intéressant afin de déterminer la concentration minimale inhibitrice CMI des substances présentes dans ces extraits.

Conclusion générale

Au vu des résultats obtenus, l'élaboration des formes nutraceutiques nouvelles à base de graines de lin, l'infusé de gombo et du lait et les bactéries lactiques s'avère possible.

Cette étude de recherche a permis la caractérisation physico-chimique et phytochimique et microbiologique des graines de lin et des fruits de gombo séchés à différentes températures ainsi que la quantification de leurs substances bioactives (polyphénols totaux, tannins, flavonoïdes, caroténoïdes, mucilages).

Les principaux résultats démontrent que le fruit de gombo et la poudre des graines de lin ont une importance particulière comme source de molécules bioactives ayant des propriétés thérapeutiques. Parmi ces principes actifs les flavonoïdes, les polyphénols, caroténoïdes et les polysaccharides. En outre, l'huile des graines de lin est riche en acides gras saturés en w_3 (44.75%) et surtout en w_6 avec une valeur (52.69%).

L'ensemble des formulations (F1, F2, F3 et F4), et les extraits éthanoliques de fruit de gombo et des graines de lin présentent des activités anti-oxydantes très intéressantes.

Les pastilles des formulations élaborées présentent des propriétés pharmacodynamiques intéressantes (bon écoulement, temps de désintégration très intéressant (15min))

Les extraits de fruit de gombo et des graines de lin présentent des substances bioactives responsables de l'inhibition de *Staphylococcus aureus* MU50, *Staphylococcus aureus* ATCC25923 avec des diamètres d'inhibition respectivement (11mm ; 9,3mm) pour les graines de lin et (13mm ; 9mm) pour le fruit de gombo.

Comme perspectives il serait intéressant de développer les tests suivants :

- ✓ Test de dissolution des principes actifs des pastilles dans d'autres milieux similaires au milieu gastrique ;
- ✓ Tester quelques activités biologiques (anti-tumorale, anti-inflammatoire, anti-hypertensive...)
- ✓ Analyse granulométrique de nos poudres ;
- ✓ L'analyse sensorielle concernant l'acceptabilité générale des pastilles.

Le présent travail n'est que le commencement d'une longue investigation de l'étude des plantes médicinales de sud d'Algérie. En l'occurrence ; ces études, qui sont faites devront se poursuivre à fin d'approfondir les connaissances scientifiques et technologiques pour tirer plus d'informations et de renseignements mettant au clair le rôle alimentaire et sanitaire de ces plantes et aussi pour identifier et caractériser de nouveaux médicaments traditionnels améliorés.

Références bibliographiques

1. Abidi A, B., Singha, P., Chauhana, V., Kumar Tiwaria, B., Singh Chauhan, S., Simonb, S., Bila, S .,(2014). an overiview on okra (*Ablmoshus esculentus*) and il's importance as a nutritive vegetable in the world , International Journal of Pharmacy and Biological Sciences, 4(2),227-233.
2. Adolphe JL, Whiting SJ, Juurlink BH, Thorpe LU, Alcorn J., (2010). Health effectswith consumption of the flax lignin secoisolariciresinoldiglucoside. Br J Nutr; 103:929–38.
3. Ait Chaouche F,S., (2018). Composition chimique et activité antioxydante, antimicrobienne et insecticide des huiles essentielles et des extraits de deux Lamiaceae.Thèse de Doctorat, Ecole Nationale Supérieur Agronomique (ENSA) El - Haraach–, Alger.
4. Aline P., (2019). Le pathosystème Lin (*Linum usitatissimum*) - *Fusarium oxysporum* : Impact du champignon et d'un agent de biocontrôle sur des réponses moléculaires de la plante et le développement de la fusariose. Université de Rouen Normandie.
5. Ali-Rachedi, F . , Merachni , S.,Touaibia, N., Mesbah ,S.,(2018). Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne *Scabiosa Atropurpurea* sub. *Maritima* L, Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, 87, 13 -21.
6. Ammara,M ., Dilmi,H.,(2017).Effet de la pasteurisation domestique sur le potentiel antioxydant et la qualité sensorielle du jus d'orange. Université Mohamed El Bachir El Ibrahim B.B.A.
7. Belyagoubi, N., (2011). Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien.Thèse de Doctorat, Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen.
8. Benahmed Djilali, A., (2012). Analyse des aptitudes technologiques de poudre de dates (*Phoenix-dactylifera*L.) améliorées par la spiruline. Etude des propriétés rhéologiques, nutritionnelles et antibactériennes. Thèse de Doctorat, Université de Boumerdes.
9. Benahmed Djilali, A., Benamara, S., Saidi, N., Meksoud, A., (2010.)Preliminary characterization of food tablets from date (*Phoenix dactylifera* L.) and spirulina (*Spirulina* sp.) powders.Powder Technology, vol. 208.

10. Berglund, D.R., (2002). Flax: New uses and demands. In Janick, J. and Whipkey, A. (Eds.). Trends in new crops and new uses, p. 358-360. Alexandria: ASHS Press.
11. Bernard, B., (2001). Plantes médicinales du monde. 2^{ème} Edition.
12. Bloedon, L.T., Szapary, P.O., (2004). Flaxseed and cardiovascular risk. Nutrition Review, 62(1), 18-27.
13. Borges, F., Roleira, F., Milhazes, N., Santana, L., Uriarte, E., Curr, E., (2005). Med. Chem., 12, 887.
14. Bourlioux, P., (2014). Actualité du microbiote intestinal, annales pharmaceutique francaises, 72(1), 15-21.
15. Brillouet, J.M., Romieu, C., Schoefs, B., Solymosi, K., Cheynier, V., Fulcrand, H., Verdeil, J.L., Conejero, G., (2013). Annals of botany, 112 (6) : 1003-101.
16. Camille, S., (2018). Helicobacter pylori, la bactérie responsable des ulcères et des cancers de l'estomac. Gastrite chronique. Publié le 28.01.2018 à 00h30 . Mise à jour le 28.01.2018 à 19h30. Consulté Le 03.09.2021.
17. Carvalho, C.C.R., Cruz, P.A.M., Manuela R., Fonseca, M.R., Filho, L.X., (2011). Antibacterial Properties of the Extract of Abelmoschus esculentus, Biotechnology and Bioprocess Engineering, 16(5), 971-977.
18. Carter, J.F., (1996). Sensory evaluation of flaxseed of different varieties. In Proceedings of the 56th Flax Institute of the United States, p. 201-203. Fargo North Dakota: Flax Institute of United States.
19. Charpin, J., Aubert, J., (1992). Allergènes végétaux non polliniques. In: Charpin J, Vervloet D, editors. Allergologie. 3^e ed Médecine-Sciences Flammarion; . p. 320–5.
20. Chatain, C., Jacquier, J.-P., Pralong, P., Leccia, M.-T., (2016). Allergie à la graine de lin : revue générale à propos d'une observation. Revue Française d'Allergologie, 56(7-8), 562–566
21. Chevalier, A., (1944). Histoire de deux plantes cultivées d'importance primordiale. Le Lin et le Chanvre. Rev Botani Appl Agricult Colon; 24(269):51–71
22. Cora Assmann, C., Johanna Kirchhoff, C.J., Beleites, C., Hey, J., Kostudis, S., Pfister, W., Schlattmann, P., Popp, J., Neugebauer, U., (2015). Identification of vancomycin interaction with Enterococcus faecalis within 30 min of interaction time using Raman spectroscopy, Anal Bioanal Chem, 407, 8343–8352.

23. Corblin,M., Fagnere , C., Marre-Fournier,F.,(2021). Déséquilibre du microbiote intestinal et troubles dépressifs, *Actualités pharmaceutique*, 60(604), 36-40.
24. Dayon, L.,Macron,C., Lahrichi ,S., Galindo ,A,N., Affolter ,M.,(2021). Proteomics of Human Milk: Definition of a Discovery Workflow for Clinical Research Studies, *journal of proteome*, 20(5), 2283–2290.
25. Debré, P., Le Gall , J. y ., (2014). Le microbiote intestinal, *Académie nationale de médecine*, 198(9) , 1667-1684.
26. Deng,Y., Li,S., Wang,M., Chen, X., Tian,L., Wang, L., Yang,W., Chen,L., He,F ., Yin,W.(2020). Flavonoid-rich extracts from okra flowers exert antitumor activity in colorectal cancer through induction of mitochondrial dysfunction-associated apoptosis, senescence and autophagy, *The Royal Society of Chemistry*,11, 10448-10466.
27. Descoins, L., (2017). Microbiote et cerveau : corrélation avec les pathologies neurologiques et psychiatriques.Thèse de Doctorat.Université Toulouse III Paul Sabatie
28. Desmir, T.,(2016). Les antioxydants de nos jours : définition et application, thèse de diplôme de doctorat, Université de Limoges.
29. Djemmal, S ., Temime, B.,(2020). Etude comparative de la qualité de lait de vache livré aux trois laiteries : Ramdy, La vallée et DBK.Mémoire fin d'étude, Université Akli Mohand Oulhadj, Bouira.
30. Dhali, KH., (2019). Action combinée d'un herbicide et de la salinité sur la germination du gombo *L'Abelmoschus esculentus L*, Thèse de Doctorat , Université d'Oran .
31. Diederichsen, A., Richards ,K .,(2003).Cultivated flax and the genus *Linum L*. Flax: the genus *Linum*, p32- 38.
32. Dolié, E .,(2018). Rôle de la flore intestinale dans l'immunité : usage actuel des probiotiques et futures indications.Thèse de Doctorat, Université Toulouse III Paul Sabatier, France.

33. Dos Santos ,F.S .,Figueirêdo ,R, M. F., Alexandre J., M., Queiroz , A,J.M., Lima ,TH,L.B., Moreira ,I.S. ,(2019). Effect of Dehydration Methods on Okra Chemical and Physical Composition, *Journal of Agricultural Science*,11, (5),236-249.
34. Doymaz, I.,(2004).Drying characteristics and kinetics of okra, *Journal of Food Engineering* 69 (3), 275–279.
35. Dubreucq, G., Domon, B., Fournet ,B .,(1996). Structure determination of a novel uronic acid residue isolated from the exopolysaccharide produced by a bacterium originating from deep-sea hydrothermal vents. *Carbohydr. Res.*, 290, 175-81.
36. Dubos, F., Pelissier, J.P .Andrieux, C ., Ducluzeau, R ., Raibaud, P., (1985).Inhibitory effect of acopper-dipeptide complex on the stabilishment of a *Clostridium perenne* strain in the intestinal tract of gnotobioticmice. . *Appl. environm. Microbiol.*, 5 0 (5), 1258-1261.
37. Ducluzeau, R ., Raibaud, P., (1989). Les interactions bactériennes dans le tube digestif. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 1989, 8 (2), 2 9 1 - 3 1 1 .
38. Dupont, I. , (1998). Identification moléculaire de souches de lactobacilles productrices d'exopolysaccharides et comparaison de la production d'exopolysaccharides par trois de ces souches. Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures de l'Université Laval.
39. Elkhalfifa, A.O., Alshammari ,E., Adnan , M ., Alcantara ,J .C. ,Awadelkareem ,A.M., Eltoun, N.E., Mehmood, KH ., Panda, B.P., Ashraf ,S.A. ,(2021). Okra *Abelmoschus Esculentus* as a Potential Dietary Medicine with Nutraceutical Importance for Sustainable Health Applications,
40. Engongal, L.C.,(2009). Etude Phytochimique, Activités Antimicrobiennes et Antioxydantes de Quelques Plantes Aromatiques et Médicinales Africaines, Thèse de Doctorat, Université d'Ouagadougou.

41. Fabre, J.F., Lacrouxa, E., Valentina ,R ., Mouloungu ,Z. , (2014).Ultrasonication as a highly efficient method of flaxseed mucilage extraction,65, 354-360.
42. Farez, T ., (2016). Etude théorique de la relation structure active dans des séries des flavonoïdes .Université Mouloud Mammeri de Tizi ousou.
43. Françoise, L., Nathalie, L., Dominique, W., Eva, S.,(2011). La filière lin oléagineux française : panorama et perspectives, 18(3),113-122.
44. Fondio, L., (2005). Contribution à la connaissance du développement du gombo Tomi : *Abelmoschus caillei* (A. Chev.) Stevels (*Malvaceae*), dans le Centre de la Côte d’Ivoire. Influence de l’apport d’eau et d’engrais en fonction des périodes de semis, thèse de doctorat, Université de Cocody –Abidjan.
45. Ganorkar, P., M., Jain, R. K .,(2013). Flaxseed – a nutritional punch .Department of Food Processing Technology, A.D. Patel Institute of Technology, New Vallabh Vidya Nagar, Anand, Gujarat 388121, India.International Food Research Journal 20(2): 519-525.
46. Goyal, A., Sharma, V., Upadhyay, N., Gill, S., Sihag, M., (2014).Flax and flaxseed oil: an ancient medicine & modern functional food, Journal of Food Science and Technology, 51(9), 1633–1653.
47. Gemede ,H.F., Beyene,F., Haki,G.H., Woldegiorgis,A,Z.S.,Rakshit K.,(2018). Indigenous Ethiopian okra (*Abelmoschus esculentus*) mucilage: A novel ingredient with functional and antioxidant properties, Food Science Nutrition, 6,563–571.
48. Gemede, H.F. ,Retta, N., Haki,G.D., Woldegiorgis,A.Z .,(2015).Nutritional Quality and Health Benefits of “Okra” (*Abelmoschus esculentus*) International Journal of Nutrition and Food Sciences , 4(2), 208-215.

49. Geves., (2012). Centre d'Etudes et de Contrôle des Variétés et des Semences. Site consulté le 13 mars 2012, <http://cat.geves.info/page/ListeNationale>
50. Ginis,O. (2012).Identification de facteurs de transcription régulateurs de la voie de biosynthèse des alcaloïdes indoliques monoterpéniques chez *Catharanthus roseus* ,thèse de doctorat, Université Francois- Rablais de Tours.
51. Guillouty, A., (2016). Plantes médicinales et antioxydants, Thèse pour diplôme de Doctorat, Université Toulouse III Paul Sabatier, France.
52. Guerra, M., Amorati, R ., Pedulli, G. F., (2004). Water Effect on the O–H Dissociation Enthalpy of Para-Substituted Phenols: a DFT Study. *The Journal of Organic Chemistry*, 69(16), 5460-5467. <https://doi.org/10.1021/jo0495236>.
53. Kosalec, I., Bakmaz, M., Pepeljnjak, S. Vladimir, K. S.,(2004). Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolis from northern Croatia. *Acta. Pharm*, (54), 65-72.
54. Hayaza, S., Wahyuningsih , S,p.A ., Susilo , R,J.k ., Permanasari , A.A., Husen ,S,A., Winarni ,D . , Hunsu Punnapayak , H., Darmanto ,W.,(2019) Anticancer activity of okra raw polysaccharides extracts against human liver cancer cells, *Tropical Journal of Pharmaceutical*, 18 (8),1667-1672.
55. Harkati,B., (2011) .Valorisation et identification structurale des principes actifs de la plante de la famille asteraceae: *ScorzoneraUndulata*,Thèse de Doctorat: Chimie Organique Option Phytochimie. Constantine: Universite Mentouri ,145p.
56. Heim, K. E., Tagliaferro, A. R., Bobilya, D. J. ,(2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13(10), 572-584. [https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(02\)00208-5](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(02)00208-5).

57. Heli Jroy, R.D., Shanna Lundy M.S, Chad Eriksen B.A, Beth K., (2007). Flaxseed: A Review of Health Benefits. Pennington Nutrition N°5, P 4.
58. Jain, R. K., Thompson, R . G., Taylor, D. C., MacKenzie, S. L., McHughen, A., Rowland, G. G., Tenaschuk, D., Coffey, M.,(1999).. Isolation and characterization of two promoters from linseed for genetic engineering. *Crop Science*, 39(6), 1696-1701
59. Jesus,C.,(2017).Lelin.LarédactiondeDoctissimo.https://www.doctissimo.fr/html/sante/p_hyotherapie/plante-medicinale/lin.htm.Consulter les 06.08.2021 à 8:18 am.
60. Jhala A,J., Hall L.M.,(2010). Flax (*Linum usitatissimum L.*): Current Uses and Future Applications. *Australian Journal of basic and Applied Sciences*. 4(9): 4304-4312.
61. Kanfon ,R ,E ., Ganawe ,M .,Agbangnan Dossa ,C,P.,Yedomonhan ,H., Wotto,V, D., Sohounhlou ,C,k ,D.,(2018). Caractérisation physico-chimique et évaluation de l'activité antiradicalaire des extraits de sept morphotypes de gombo (*Abelmoschus spp.*) cultivés au Bénin, *International Jorurnal Biologie Chimique Science* , 12(3),1447-1458.
62. Kaleem, M., (2013), Effets des produits d'oxydation de l'acide linoléique sur sa biohydrogénation ruminale, thèse de doctorat, Université de Toulouse, France.
63. Karg, S.,(2009). Flax (*Linum usitatissimum L.*)—a natural resource for food and textiles for 8,000 years. Cross-disciplinary investigations on the evolution and cultural history of flax and linen. In: Workshop Info 1, Communicating Culture, Programme and abstracts.

64. Karg, S., (2010). Flax (*Linum usitatissimum* L.)—a natural resource for food and textiles for 8,000 years. Cross-disciplinary investigations on the evolution and cultural history of flax and linen. In: Workshop Info 2, Communicating Culture, Programme and abstracts.
65. Kumar, S., Tony, E., Kumar, P., Kumar, A., Rao, B.S., Nadendla, R., (2013). *Abelmoschus Esculentus* (OKRA), International Research Journal of Pharmaceutical and Applied Sciences (IRJPAS), 3(4):129-132.
66. Kumar, S.H. R., Das Loveleena, D., Godwin, S., (2018). Medicinal Property of *Murraya Koenigii*- A Review, International Research Journal of Biological Sciences, 2(9), 80-83.
67. Le Lay, C., 2015. « *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis* UL719 et la nisine : une nouvelle approche dans le traitement des infections à *Clostridium difficile* ». ».
68. Luthfi, M., Yulianti, Oki, A. S., Sosiawan, A., Cida, B.P., (2020). Efficacité de l'extrait de fruit de gombo (*Abelmoschus esculentus*) contre *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) en tant que bactérie causant une parodontite agressive, Journal International Oral Health, 12(6), 556-560
69. Madhusudhan, B., (2009). Potential Benefits of Flaxseed in Health and Disease - A Perspective, *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 74 (2), 67-72.
70. Mahmoudi, F., (2014). Les substances antimicrobiennes produites par les *bifidobactérium* et leurs effets sur les bactéries entéropathogènes. Thèse de Doctorat, Université d'Oran.
71. Melcion, J., Ilari, J., (2003). Technologie des pulvérulents dans les IAA. Edition Tec & Doc. Lavoisier. Paris.

72. Menouar, M., (2015). Effet de l'action combinée et la salinité sur les bilans hydrique et minérale du gombo *L'Abelmoschus esculentus L*, Mémoire de magister . Université d'Oran
73. Masclef, A .,(1891). Atlas des plantes de France.
74. Millam, S., O. Bohus and P. Anna., (2005). Plant cell and biotechnology studies in *Linum usitatissimum* - A review. *Plant Cell Tissue Organ Cult.*, 82: 93-103
75. Muriel, B., Véronique Z M., (2012). Témoins archéologiques et archéobotaniques de chanvre (*Cannabis sativa L.*) dans les sites de France septentrionale : l'ambiguïté des sources. *De cordes et de toiles. Le chanvre et le lin à la mer. Cultures, usages et innovations des origines à demain*, , Lorient - Douarnenez, France.
76. Natacha, R.,(2013). Etude comparative de trois procédés d'extraction d'huile : aspects qualitatifs et quantitatifs : application aux graines de lin et aux pépins de raisin. Université de technologie compiegne
Statistiques : Production mondiale de fibre de lin.
77. Noweir, MH., El-Sadik ,Y.M., El-Dakhakhny ,A.A., Osman, HA., (1975). Dust exposure in manual flax processing in Egypt. *Br J Ind Med*;32:147–54.
78. Nguyen, P.U.,(2010). Surgélation par le vide de purées de légumes. Thèse de Doctorat, Université technologie Compiègne.
79. Oomah, B.D .,(2001). Flaxseed as a functional food source
Food Research Program, Agriculture and Agri-Food Canada, Pacific Agri-Food Research Centre, Summerland, British Columbia V0H 1Z0, Canada.
80. Ouedraogo, Z.A.,(2009). Caractérisation agromorphologique comparée de cinq variétés de Gombo (*Abelmoschus esculentus L. Moench*), Mémoire de fin cycle, Université Polytechnique de Babo-Dioulasso.

81. Pandey, K.B., Rizv,S.I.,(2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(5), 270-278.
82. Prasad, K., (2009). Flaxseed and cardiovascular health. *J Cardiovas Pharmacol*;54:36977.
83. Pierre ,B .,(2021). Composition et rôles de la flore intestinale .Institut danone France. Département de Microbiologie -Immunologie Faculté de Pharmacie - Université Paris-Sud. <https://institutdanone.org/objectif-nutrition/composition-et-roles-de-la-flore-intestinale-mieux-connaître-son-importance/dossier-composition-et-roles-de-la-flore-intestinale/>.Consulté le 08-2021.
84. Pinzongo, I,N.W., (2014). Réponse de variétés de gombo (*Abelmoschus esculentus* L) aux engrais chimiques et à la fumure organique,mémoire fin de cycle, Université Polytechnique, de Bobo-Dioulasso.
85. Potočnik, D., Nečemer, M., Mazej, D., Jačimović, R., Ogrinc, N.,(2016). Multi-elemental composition of Slovenian milk: analytical approach and geographical origin determination, *ACTA IMEKO*, 5(1), 15-21
86. Possemiers, S., C., Grootaert, J., Vermeiren, G., Gross, M., Marzorati, W. ,Verstraete , T., Wiele, V., (2009). "The intestinal environment in health and disease - recent insights on the potential of intestinal bacteria to influence human health." *Curr Pharm Des* 15(18): 2051-65.
87. Rajka, E.,(1950). Occupational dermatitis caused by sunflower seeds and linseeds. *Int Arch Allergy Appl Immunol*;1:161–70.
88. Rezaire,A.,(2012). Activité anti-oxydante, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien *Oenocarpus bataua* (patawa), Thèse pour le Doctorat en Phytochimie, Université des Antilles et de la Guyane.

89. Roberto, C.,(1982). Les plantes médicinales. Guide vert. Solar, Paris, 500p.
90. Rougeaux, H., Guezennec ,J., Carlson R.W., Kervarec ,N., Pichon ,R., Talaga P. ,(1999). Structural determination of the exopolysaccharide of *Pseudoalteromonas* strain HYD 721 isolated from a deep-sea hydrothermal vent. *Carbohydr. Res.*, 315, 273-285.
91. Sabita , V., Ramachandran , S., Naveen , k . R . ; Panneerselvam ,K. ,(2011). Potentiel antidiabétique et antihyperlipidémique d'*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench. chez les rats diabétiques induits par la streptozotocine, *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, 3(3) , 397-402
92. Saidi, I.,(2019). Caractérisation et valorisation d'une plante de la famille des fabaceae : *Gleditsia triacanthos* de la région de Sidi Bel Abbès : Extraction des substances bioactives,thèse de doctorat, Université Djillali liabdés , Sidi Bel Abbés,Algerie.
93. Solomon,S., Muruganantham ,N., Senthamilselvi ,M.M.,(2016).Antimicrobial activity of *Abelmoschus esculentus* (flowers), *International Journal of Herbal Medicine* ,4(6),46-49.
94. Silue, y., (2017).Effet du séchage solaire et de la cuisson a l'eau sur la digestibilité (in vitro) et les composes nutritifs du Gombo(*Abelmoschus sp*) au cours de la croissance , diplôme master, Université Nangy Abrougoua, Côte d'Ivoire.
95. Sutherland, I.W., (1972). Bacterial exopolysaccharides dans A.H. Rose, ed. *Advances in Microbial Physiology*. Academic Press, New York, NY, USA Homopolysaccharides
96. Thi Hanh, P. , (2014). Utilisation des caroteboïdes naturels de momordice cochinchinensis (GAC) comme composes sante.Extraction et bioactivite en fonction de l'origine et du procede. Université de Bourgogne.
97. Tiwari, A., Dubey, P., Gupta, S.K .,Watal, G.,(2016). Screened Phytochemicals of *A. esculentus* Leaves and their Therapeutic Role as an Antioxidant, *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical*, 8(9), 1509-1515.

98. Van Zeiste, W., (1972). Palaeobotanical results in the 1970 seasons at Cayonu, Turkey. *Helinium*, 12(1),3-19.
99. Van Zeist W, Bakker-Heeres JA .,(1975). Evidence for linseed cultivation before 6000 B.C. *J Arch Sci* 2:215—219.
100. Wahyuningsih ,Pramudya, M.,Intan Permata Putri ,I.P., Winarni ,D., Savira , N,I.I. , Darmanto,W,. (2018). Les polysaccharides bruts des gousses de gombo (*Abelmoschus esculentus*) cultivés en Indonésie améliorent la réponse immunitaire due à une infection bactérienne, *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*, 8505383 , 7.
101. Yasin, H., Tariq ,F., Sameen ,A., Tariq,F., Ahmad,N., Manzoor ,M .F., Yasin,M., Tariq,T., Iqbal,M.W., Ishfaq,B., Mahmood1 ,S., Siddeeg,A. ,(2020). Ethanolic extract of okra has a potential gastroprotective effect on acute gastric lesions in Sprague Dawley rats. *Food Sci Nutr*. 2020;8:6691–6698
102. Yora ,M ., Syukur ,M.,(2018). Characterization of phytochemicals and yield components in various okra (*Abelmoschus esculentus*) genotypes, *Biodiversitas* ,19 (6), 2323-2328
103. Youness, M.,(2018). actualité du microbiote intestinal, thèse de doctorat, Université Mohammed V –Rabat, Maroc.
104. Youn,Y. S., Bo, G., Paul, G, A .,Yong ,W ., Martin ,R ., (2014).Flaxseed (*Linum usitatissimum L.*) bioactive compounds and peptide nomenclature. *Trends in Food Science & Technology* 38(1).

Annexes

Annexe 1

Tableau I- Appareillage, solvants, réactifs chimiques et milieux de culture, matériels

Appareillage, verrerie de laboratoire	Produits chimiques	Milieux de culture
- Cuves - Rotavapeur - Spectrophotomètre visible (EV 9200) -Agitateurs magnétiques -Bain-marie -Balance de précision 0,001g (KERN 770) -Balance analytique - Broyeur type (moulin à café) -Viscosimètre -Etuve(MEMMERT) -pH –mètre (INOLAB), -Plaque chauffante (RYPA) -Spectrophotomètre UV-visible (EV 9200) -Verrerie : Bêchers, , cuves Réfrigérateur, burettes, cristallisoirs, ballon fond rond en verre, éprouvettes, fioles, pipettes gradées, Pipettes Pasteur, ampoules à décanter, flacons, entonnoirs, creusets en porcelaine, cristallisoirs, spatules, pilon Mortier, passoire, verre de	-Acétate de plomb -Acide chlorhydrique -Acide gallique -Acétone -Ammoniaque -Carbonate de sodium -Chloroforme -Chlorure ferrique -Hydroxyde de potassium -Eau distillée -Ethanol -Ether d'éthylique -Heptane -Hydroxyde de potassium -Hydroxyde de sodium -Isobutanol -Méthanol -Propanol -Réactif de Dragendroff -Réactif de Folin-ciocalteu -Sulfate de sodium anhydre -Lait de sachet pasteurisé -Lait en poudre instantanée	-Gélose nutritive(GN) -Muller Hinton(MH)

montre, papiers filtres, spatules, tubes à essai...ect)		
---	--	--





Annexe 2







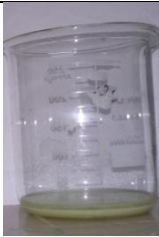
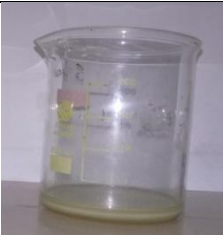






Tableau II : Appareillage utilisé pour l'activité antimicrobienne.





Appareillage	Matériel	Solutions
-Étuve bactériologique (MEMMERT) : (Étuve 37°C étuve 28°C). -Spectrophotomètre visible (MEDLINE) -Réfrigérateur -Autoclave de paillasse (WEBECO)	Anse de platine, bec bunsen, boîtes Pétri, cuves, disques stériles (papier Wattman), écouvillons, embouts en plastiques stériles, micropipettes, pince, pipettes Pasteur, portoir pour tubes, tube à essai.	-Eau distillée -Eau physiologique Stérile -Eau de javel

Annexe 03

Tableau III : Résultats de screening phytochimiques.

Métabolites secondaires	Fruit de gombo	Graines de lin
Anthocyanes (-)		 (-)
Tanins galliques (++)		 (-)

<p>Tanins (-)</p>		 (-)
<p>Flavonoïdes (+)</p>		 (++)
<p>Saponosides (+++)</p>		 (+)
<p>Quinones libres (-)</p>		 (-)
<p>Quinones combinées (-)</p>		 (-)
<p>Alcaloïde (-)</p>		 (-)
<p>Glucosides (+++)</p>		 (+++)

Coumarines (++)		 (+++)
Sennosides (-)		 (-)

Annexe 4

Chromatographie phase gazeuse (CPG)

Avant d'injecter notre échantillon dans l'appareil de CPG (Figure au dessous), nous avons réalisé une méthylation de notre matière grasse selon la méthode éthero-chlorhydrique.



Chromatographe CHROMPACHK CP9002

Intégrateur Shimadzu



Figure 6 : Appareil de la Chromatographie phase gazeuse (CHROMPACK CP 9002)

Mode opératoire

Mettre 0,2 g de matière grasse extraite précédemment dans des tubes à sceller, ajouter 0,5 ml de méthanol et 0,5 ml d'acide sulfurique, sceller les tubes, les porter à 140°C dans une étuve à sec pendant 2 heures.

L'injection dans l'appareil de CPG a été réalisée en respectant les conditions citées dans tableau ci-dessous.

Tableau V : Conditions opératoires pour les esters méthyliques d'huile des graines de lin.

Chromatographe	Chrompack CP 9002
Détecteur	FID (250°C)
Injecteur	SPILT 1/100(250°C)
Gaz vecteur	Azote
Colonne Capillaire	DB23 (50% Cyanopropyl)
Longueur	30m
Diamètre intérieur	0,32mm*0,25 UM
Epaisseur	0,25µm
Températures	
Injecteur	250°C
Détecte	260°C
Four	150°C-----4°C /mn 230C° (10mn)
Quantité injectée	01 UL
Vitesse du papier	0,5 cm/mn

Annexe 5

Méthodes pour la préparation des esters méthyliques d'acide gras

1.. Principe

Les esters méthyliques se forment par transestérification dans une solution méthanolique D'hydroxyde de potassium comme phase intermédiaire avant la saponification (point 5 de la méthode ISO 5509:2000, point 5 de la méthode IUPAC 2.301).

2 Réactifs

Méthanol ne contenant pas plus de 0,5% (m/m) d'eau

Heptane pour chromatographie

Hydroxyde de potassium, solution méthanolique d'environ 2 N : dissoudre 11,2 g

D'hydroxyde de potassium dans 100 ml de méthanol

3.Matériel

Tubes à bouchon vissant (de 5 ml de capacité) avec un bouchon muni d'un joint de PTFE.

Pipettes graduées ou automatiques de 2 ml et 0,2 ml.

4. Mode opératoires

Dans un Tube à bouchon vissant de 5 ml, peser environ 0,1 g de la matière grasse du lait.

Ajouter 2 ml d'heptane ou Hexane et agiter.

Ajouter 0,2 ml de la solution méthanolique 2 N d'hydroxyde de potassium, boucher à l'aide du bouchon muni d'un joint en PTFE, bien Fermer et agiter énergiquement pendant 01 mn.

Laisser reposer jusqu'à ce que la Partie supérieure de la solution devienne claire.

Décanner la couche supérieure, qui est celle Qui contient les esters méthyliques.

La solution d'heptane est prête pour l'injection dans le Chromatographe.

Il est conseillé de maintenir la solution au réfrigérateur jusqu'au moment de l'analyse chromatographique.

Il n'est pas recommandé de stocker la solution pendant Plus de 12 heures.

Annexe 6 : Préparation de la gamme d'étalonnage des polyphénols

On fait dissoudre 200mg d'acide gallique dans 100ml d'éthanol, soit une solution mère (S1) ensuite, on réalise une série de dilution de cette solution comme suit :

1. On prélève 5ml de la solution mère puis on additionne 5ml de l'eau distillée et on obtient la dilution S1/2
2. On prélève 5ml de la solution précédente S1/2 puis on ajoute 5ml de l'eau distillée et on obtient la solution S1/4
3. On procède la même manière pour les autres dilutions
4. Ajouter à tous les tubes 0.5ml du réactif de Folin-Ciocalteu, et ce à l'abri de la lumière
5. Laisser agir 5min
6. Ajouter 0.5ml de carbonate de sodium Na₂CO₃ (20%)
7. Incuber à l'abri de la lumière et à la température ambiante pendant 1heure. L'absorbance est mesurée à 760 nm contre un blanc (sans acide gallique).

Tableau IV : Représente les valeurs de la concentration de différents échantillons

Tubes	blanc	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Concentration	0.5	1	1.5	2	3	4	6	8	10	12	14
DO	0.001	0.004 8	0.009 6	0.15	0.24	0.33 6	0.52 8	0.6 7	0.91 4	1.106	1.29

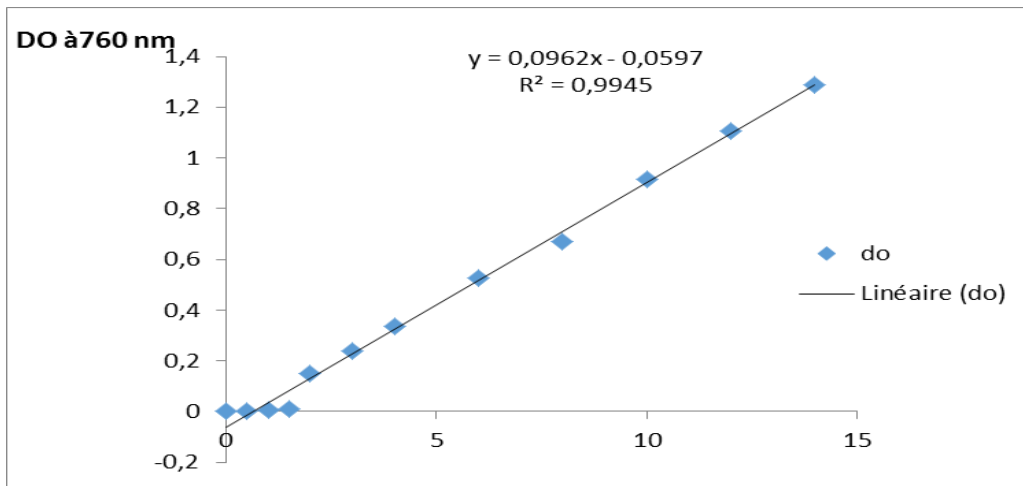


Figure 1 : courbe d'étalonnage de polyphénols

Annexe 7: préparation de la gamme étalonnage des flavonoïdes.

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode d'AlCl₃ en utilisant comme standard la quercitrine, les teneurs en flavonoïdes sont exprimées en mg EQ/g d'extrais

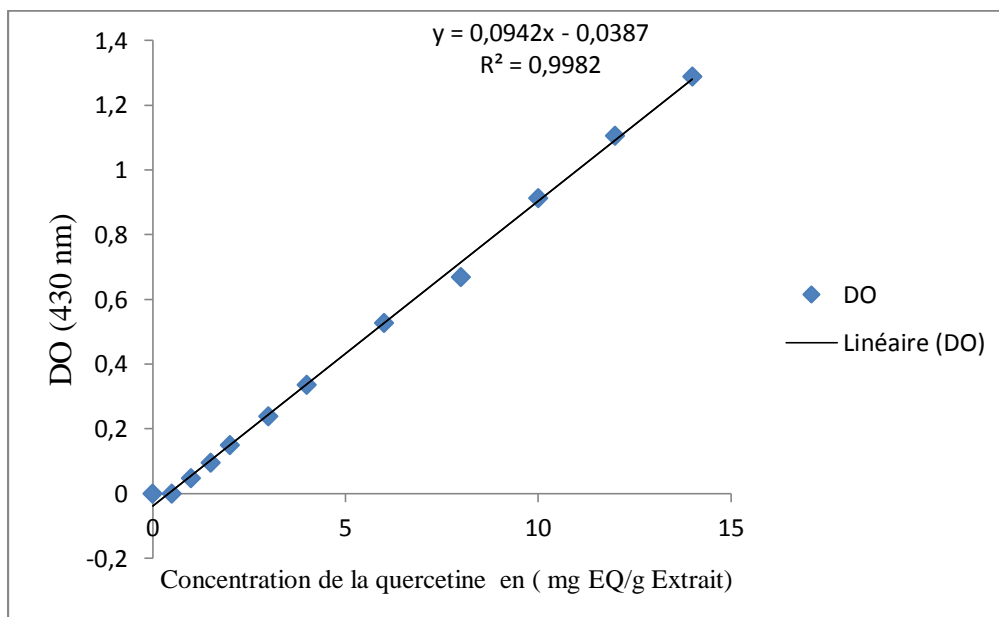


Figure 2 : Courbe d'étalonnage de flavonoïde (Quercitrine)

Annexe 8 : courbe d'étalonnage de caroténoïde

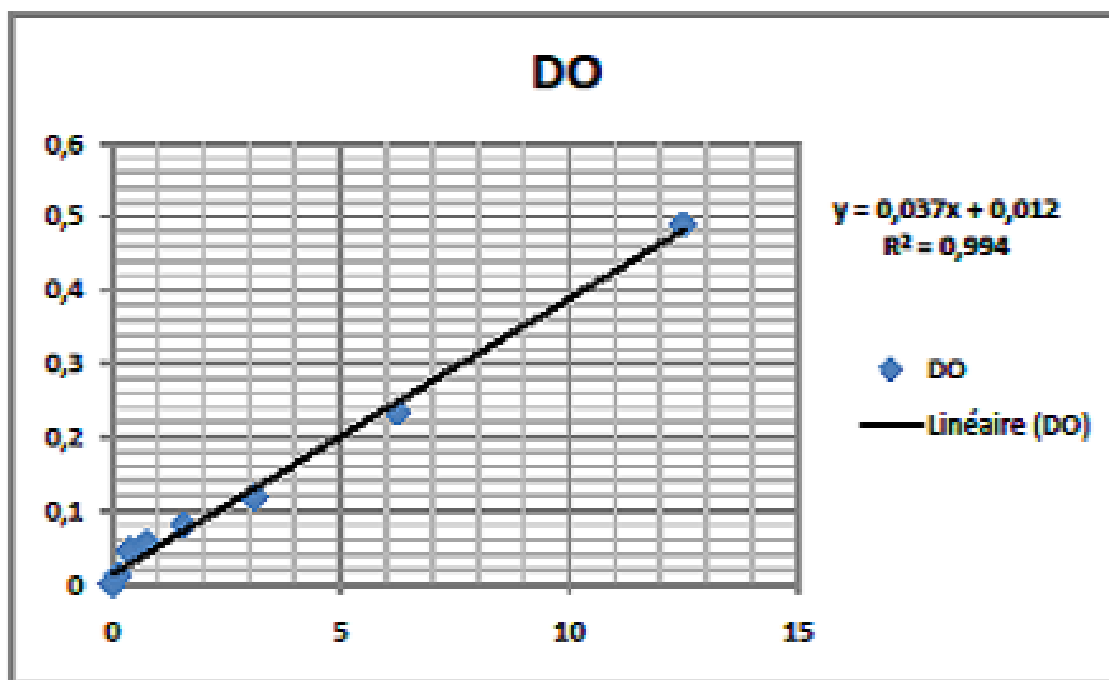


Figure 3 : Courbe d'étalonnage de caroténoïde

Annexe 9

Resultats des analyses microbiologiques

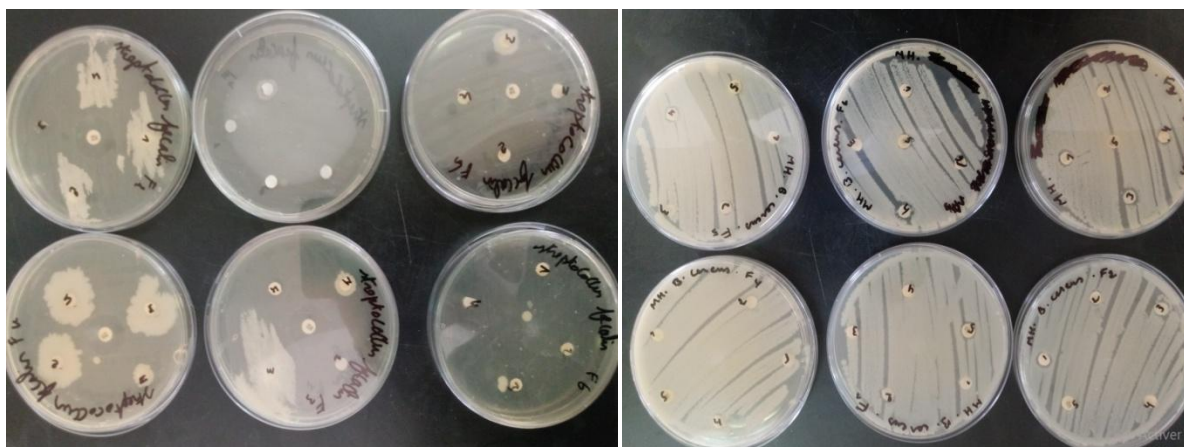


Figure4: Diamètre des zones d'inhibition des extraits des échantillons contre les souches testées (*Enterococcus faecalis*, *Bacillus creus*)

Annexe 10

Resultats des analyses microbiologiques

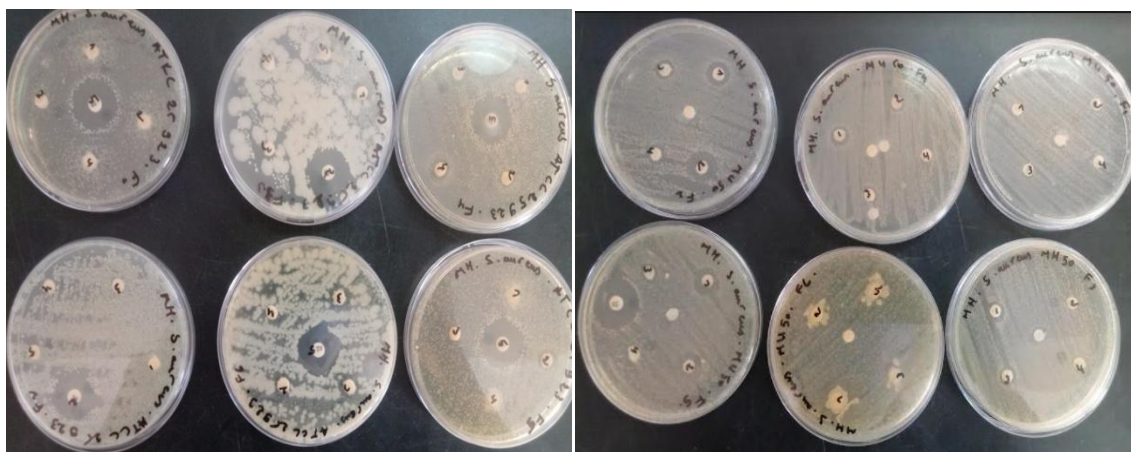


Figure 5 : Diamètre des zones d'inhibition des extraits des échantillons contre les souches testées (*Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Staphylococcus aureus* MU50)

