

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie  
Département des Sciences Alimentaires  
Filière : Sciences Biologiques  
Spécialité : Sciences Alimentaires  
Option : Bioprocédés et Biotechnologies Alimentaires



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle  
En vue de l'obtention du diplôme

## MASTER

### *Thème*

**Etude des activités biologiques des extraits  
méthanoliques et des huiles fixes des  
graines des espèces du genre *Nigella*.**

Présenté par :

**KHELFAOUI Katia et IKHLEF Fayrouz**

Devant le jury composé de :

Mme Adrar S.	MAA	Présidente
Mme Smail L.	MAA	Encadreur
Melle Achat S.	MCB	Examinatrice

**Année universitaire : 2015 / 2016**

## *Remerciements*

*Au terme de cette étude, nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant qui nous a donné la force, la patience, le courage, le pouvoir et la volonté d'aller jusqu'au bout.*

*En second lieu, nous tenons à remercier notre promotrice **Mme SMAIL** née **BENAZZOZ** de nous avoir encadré et de nous avoir fait confiance en acceptant de nous guider dans la réalisation de ce travail.*

*Il est agréable d'exprimer nos sincères reconnaissances à **Mme YALAOUI** Ingénieur labo Analyses Instrumentales au niveau du bloc 9 qui nous a aidé, orienté et avoir la patience de nous suivre durant notre expérimentation. Nous avons beaucoup appris de ses qualités pédagogiques et humaines.*

*Nos vifs remerciements vont également aux membres de jury **Melle ACHAT** et **Melle MEKHOUKHE** pour l'intérêt qu'elles ont porté à notre recherche, en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.*

*Nos remerciements vont également à Monsieur Djemaoune L. de nous avoir aidé pour effectuer les analyses par CPG des huiles.*

*Merci à tous ceux et celles qui nous ont soutenu d'une manière ou d'une autre, de près ou de loin.*

♠ **Fayrouz**

& **Katia** ♠

# *Dédicace*

*Je remercie tout d'abord mon dieu le tout puissant qui m'a donné la volonté, la force et le courage pour réaliser ce modeste travail.*

*Je dédie ce travail à mes parents, surtout ma mère, ma source de tendresse, de volonté, de patience, de force et de courage malgré son incapacité sanitaire, **JE T'AIME MA PRECIEUSE MAMAN**, sans toi ma vie n'aurait pas de gout.*

*A mes très chères sœurs **Assia et Anissa** qui m'ont donné de leur volonté et force pour continuer mes études, chose qui n'était pas à leur portée suite l'ignorance et l'injustice appliquées sur les femmes à l'époque, je vous adore mes précieuses.*

*A mes adorables frères, les quatre **HOMMES** de ma vie : **A.Ouahab, Slimane, Hamza et Sid-Ali**, qui m'ont soutenu durant tout mon cursus éducatif, vous dire merci c'est peu, donc je dis je vous adore mes chers.*

*A mes belles sœurs **Rabia et Latifa**, je vous adore.*

*A mes beaux frères **Said et Houcine**.*

*A mes neveux et nièces : **Réda, Rayan, Sami, Danis, Adam, Amina, Aya, Hanane, Doua, Lina et Délia**, je vous aime.*

*A la mémoire de mon adorable frère **A. Elghani** et ma nièce **Lyly**, vous avez laissé un grand vide dans ma vie mais rien à faire face à la volonté de Dieu, Dieu vous accueille dans son paradis, vous restez toujours dans nos cœurs, je vous adore...*

*A ma binôme ma chère **Katia** qui sans elle ce travail n'aurait pas fini, on a passé des moments agréables et des autres aussi incroyables mais dieu merci, notre amitié et notre amour était et sera au dessus de tout les obstacles, je T'aime **Katou**.*

*A **A.K.**, une personne qui occupe une grande valeur dans ma vie, je lui souhaite toute la réussite ainsi que le bonheur et la santé.*

*A tous mes cousins et cousines, voisins et voisines, amis et amies.*

*A toute ma promotion de l'année **2015/2016**.*

*Je vous adore...*

***Fayrouz***



# *Dédicace*

*Je remercie tout d'abord mon dieu le tout puissant qui m'a donné la volonté, la force et le courage pour réaliser ce modeste travail.*

*C'est avec profonde gratitude et sincères mots, que je dédie ce modeste travail à mes chers parents ; qui ont sacrifié leur vie pour ma réussite et qui m'ont éclairé le chemin par leurs conseils judicieux  
Nchallah je serai à la hauteur de vos sacrifices*

*A ma très chère sœur **Rima** qui m'a toujours soutenu et aider à surmonter toutes les difficultés, qui a attendu ce jour avec impatience tu es ma source d'inspiration et sans toi je ne serais pas là je t'aime ma poupée adorée.*

*A mon frère **Walid**,*

*A **Billal Achouri**, que je remercie infiniment pour son aide et sa patience, ainsi que son soutien moral merci beaucoup, et que dieu t'aide et te protège.*

*A **Nabil laidi** au tant que frère et beaux frère.*

*A mes grands parents **Zizi Akli** et **Nana Ourida** à qui je souhaite une longue vie profitant de leur bénédiction*

*A mon oncle A.Aziz*

*A ma binôme ma chère **Fayrouz** qui sans elle ce travail n'aurait pas fini, on a passé des moments agréables et des autres aussi incroyables mais dieu merci, notre amitié et notre amour était et sera au dessus de tout les obstacles, je*

*T'aime **Fifi**.*

*A tous mes cousins et cousines, voisins et voisines, amis et amies.*

*A toute ma promotion de l'année **2015/2016**.*

*Je vous adore...*

***Katia***



# SOMMAIRE

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction

## Synthèse bibliographique

I. Généralités de nigelle.....	01
I.1. Historique.....	01
I.2. Classification.....	01
I.3. Description botanique de la Nigelle.....	01
I.4. Aspect botanique des différentes espèces.....	02
1) <i>Nigella sativa</i> L.....	02
2) <i>Nigella damascena</i> L.....	04
3) <i>Nigella orientalis</i> L.....	05
4) <i>Nigella arvensis</i> L.....	06
5) <i>Nigella hispanica</i> L.....	07
I.5. Composition chimique de nigelle.....	08
I.6. Les effets thérapeutiques de Nigelle.....	09

## Partie pratique

I. Matériel et méthodes.....	11
I.1. Matériel végétal.....	11
I.2. Séchage.....	12
I.3. Broyage et tamisage.....	13
I.4. Extraction des composés phénoliques.....	13
I.5. Dosage des composés phénoliques .....	14
1) Dosage des polyphénoles totaux pour (NS, ND, NO, NA et NH).....	14
2) Dosage des flavonoïdes pour (ND, NS, NO, NA, NH).....	15
3) Dosage des tannins pour (NS, ND et NO).....	15

I. 6. Caractérisation des huiles de Nigelle (NS et ND).....	17
1. Extraction des huiles.....	17
2. Analyses physicochimiques des huiles fixes.....	17
2.1. Indice de saponification.....	17
2.2. Indice de peroxyde.....	19
2.3 Indice d'acide .....	20
I.7. Activité antioxydante des extraits et huiles de Nigelle.....	21
1. Test de DPPH .....	21
2. Test de l'ABTS <sup>o+</sup> .....	22
3. Pouvoir réducteur .....	23
I.8. Activité antimicrobienne des extraits et huiles de Nigelle.....	24
I.9. Analyse des huiles fixes de NS et ND par chromatographie en phase gazeuse.....	26

## **Résultats et discussion**

II. Résultats et discussion.....	27
II.1. Séchage et test d'humidité.....	27
II.2. Rendements d'extraction.....	27
II.3. Dosage des composées phénoliques.....	28
1. Teneurs en polyphénols totaux .....	28
2. Teneurs en flavonoïdes.....	29
3. Teneurs en tannins.....	29
II.4. Analyses physico-chimiques des huiles fixes.....	30
1. Indice de saponification.....	30
2. Indice de peroxyde.....	30
3. Indice d'acide.....	30



II.5. Activité antioxydante des extraits et huiles de Nigelle.....	31
1. Test de DPPH.....	31
2. Test d'ABTS.....	33
3. Pouvoir réducteur.....	34
II.6. Activité antimicrobienne.....	34
II.7. Analyse par chromatographie phase gazeuse des huiles de NS et ND.....	37
Conclusion et perspectives.....	39

## **Références bibliographique**

## **Annexes**



## Liste des abréviations

**ABTS** : 2,2-Azinobis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique).

**BSA**: Bovin sérum albumin.

**DMSO** : diméthylsulfoxyde.

**DPPH**: 2,2-Diphényl-1-Picrylhydrazyl.

**ED**: Eau Distillée.

**MH** : Muller Hinton.

**NA**: *Nigella arvensis*.

**ND**: *Nigella damascena*.

**NH**: *Nigella hispanica*

**NO**: *Nigella orientalis*.

**NS**: *Nigella sativa*.

**SDS**: Sodium Dodesyl Sulfate.

**TCA** : Acide trichloroacétique.

**TEA**: Acide triéthanolamine.

**UFC/ml** : unité formant colonie/ millilitre.

## Liste des figures

1. Classification botanique de nigelle.....	03
2. Graines de Nigelle étudiées (A : ND, B : NS, C : NA, D : NO, E : NH).....	11
3. Séchage des graines de Nigelle.....	12
4. Extraction des composées phénolique.....	13
5. Filtration des extraits.....	13
6. Dosage des polyphénols totaux des différents extraits.....	14
7. Dosage des flavonoïdes.....	15
8. Dosage des tannins.....	16
9. Appareil d'extraction de l'huile de Nigelle.....	17
10. Chauffage à reflux pour la détermination de l'indice de saponification.....	18
11. Protocole d'indice de saponification pour NS et ND.....	18
12. Mode opératoire d'indice de peroxyde.....	20
13. Mode opératoire de l'indice d'acide.....	20
14. Test du DPPH.....	21
15. Test d'ABTS.....	22
16. Pouvoir réducteur.....	24
17. Teneur en polyphénols de NS, ND, NO, NA et NH.....	27
18. Teneur en flavonoïdes de NS, ND, NO, NA et NH.....	28
19. Teneur en tannins de NS, ND et NO.....	29
20. Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.....	30
21. Pourcentage d'inhibition du DPPH <sup>o</sup> + en présence de l'extrait ND.....	31
22. Inhibition du radical DPPH par les extraits de NS, ND, NO, NA, NH et les huiles de NS et ND.....	31
23. Pourcentage d'inhibition de l'ABTS en présence de l'extrait de ND.....	32
24. Inhibition du radical ABTS <sup>·+</sup> par les extraits de NS, ND, NO et les huiles de NS et ND.....	32
25. Pouvoir réducteur des extraits NS, ND, NO et huiles de NS et ND.....	33
26. Chromatogramme de l'huile de <i>Nigella sativa</i> L.....	36

## Liste des tableaux

<b>I.</b> Noms communs de <i>Nigella sativa</i> L.....	<b>02</b>
<b>II.</b> Description botanique de <i>Nigella sativa</i> L.....	<b>04</b>
<b>III.</b> Description botanique de <i>Nigella damascena</i> L.....	<b>05</b>
<b>IV.</b> Description botanique de <i>Nigella orientalis</i> L.....	<b>06</b>
<b>V.</b> Description botanique de <i>Nigella arvensis</i> L.....	<b>07</b>
<b>VI.</b> Description botanique de <i>Nigella hispanica</i> L.....	<b>08</b>
<b>VII.</b> Composition chimique des graines de <i>Nigella sativa</i> L.....	<b>09</b>
<b>VIII.</b> Résultats des taux d'humidité.....	<b>26</b>
<b>IX.</b> Pourcentage du rendement d'extraction des cinq espèces.....	<b>26</b>
<b>X.</b> Diamètres des zones d'inhibition des extraits et huiles de nigelle (bactéries).....	<b>34</b>
<b>XI.</b> Diamètre des zones d'inhibition des extraits et huiles de nigelle (moisissures).....	<b>35</b>
<b>XII.</b> Diamètre de la zone d'inhibition des extraits et huiles de nigelle (levure).....	<b>35</b>
<b>XIII.</b> Composition en acides gras des huiles de <i>Nigella sativa</i> L. et <i>Nigella damascena</i> L....	<b>36</b>

# *Introduction*

### Introduction

L'homme est toujours émerveillé par la beauté de la couleur des plantes et la forme de leurs fruits. Il les considère comme des compagnes fidèles vers les quelles il se retourne en raison des bienfaits qu'elles procurent et pour leurs grande utilité. Ce sont de vraies panacées et de véritables pharmacies naturelles.

Des remèdes traditionnels à base de plantes ont été longtemps employés, sans savoir à quoi étaient dues leurs actions bénéfiques ni connaître les molécules responsables de l'action pharmacologique (**Hambaba et al, 2012**).

En effet, l'organisation mondiale de la santé (OMS) estime en 2002 que, pour se soigner, 80% de la population recourt toujours à la médecine traditionnelle pour laquelle la majeure partie des thérapies implique l'exploitation des principes actifs des plantes. Ces espèces végétales de grande utilité pour la santé des populations méritent d'être étudiées afin de justifier et valider scientifiquement leur usage pour une meilleure utilisation (**Ennadir et al 2014**).

Les propriétés anti microbiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20<sup>ème</sup> siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser.

L'utilisation des molécules antioxydantes de synthèse est actuellement remise en cause en raison des risques toxicologiques potentiels. Désormais, de nouvelles sources végétales d'antioxydants naturels sont recherchées (**Suhaj, 2006**).

Récemment, l'attention s'est portée sur les herbes et les épices comme source d'antioxydants, qui peuvent être employés pour se protéger contre les effets du stress oxydant (**Athamena et al, 2010**).

Les composés phénoliques sont des composés très intéressants, présents spécifiquement chez les végétaux et jouent un rôle d'antioxydant puissant. Il existe trois grandes classes : les acides phénoliques, les flavonoïdes et les anthocyanes ainsi que les tannins (**Bessas, 2008**).

Vue les vertus nutritionnelles et thérapeutiques de ces composés nous nous sommes intéressés à étudier ces composés dans les graines de différentes espèces de nigelle.

Depuis quelques années de nombreuses publications scientifiques paraissent régulièrement que ce soit pour étudier la composition des graines de *Nigella sativa* L., de son huile fixe et huile essentielle ainsi que de ses extraits ; ou bien pour étudier les effets

thérapeutiques de cette espèce. Mais très peu d'études sont effectuées sur les autres espèces de nigelle.

C'est dans cette optique, que nous nous sommes intéressés à étudier les plantes du genre *Nigella* et comparer entre ses différentes espèces, de point de vue : richesse en composés phénoliques, composition de leurs huiles fixes ainsi que leurs activités antioxydantes et antimicrobiennes.

Dans ce présent travail nous avons effectué notre étude sur 5 plantes appartenant au genre *Nigella* : *Nigella sativa* L., *Nigella damascena* L., *Nigella orientalis* L., *Nigella hispanica* L. et *Nigella arvensis* L.

Nous avons procédé d'une part, à l'extraction des composés phénoliques et des huiles fixes de ces plantes, au dosage des composés phénoliques dans les extraits et à la caractérisation des huiles fixes obtenus.

D'une autre part, nous avons étudié les activités antioxydantes, antibactériennes et antifongiques des extraits et des huiles obtenues.





*Synthèse*  
*bibliographique*

## I. Généralités sur la nigelle

### I.1. Historique

La nigelle a été trouvée sur la tombe de Toutankhamon, elle était considérée par les Egyptiens de l'antiquité comme une panacée. Chez les Grecs anciens, la nigelle était considérée comme un remède précieux dans le traitement des affections hépatiques et digestives. Pour Dioscoride (médecin Grec du premier siècle et auteur de *De Materia Medica*), les graines de nigelle étaient utilisées pour traiter les maux de tête, les algies dentaires, la congestion nasale et comme diurétique. Ces graines ont été aussi utilisées pour favoriser les menstruations, combattre les vers intestinaux et comme galactagogues (**Ghedira et Le Jeune, 2010**).

La nigelle fait partie aussi de la médecine traditionnelle prophétique, le prophète Mohamed satisfaction et salut de Dieu sur lui, avait dit : « Soignez- vous en utilisant la graine noire c'est un remède contre tous les maux à l'exception de la mort ». Pour cette raison, plusieurs savants musulmans s'intéressèrent à cette graine (**Meziti, 2009**).

C'est une herbe originaire du moyen orient, de l'Europe centrale et de l'ouest de l'Asie, elle est maintenant cultivée dans plusieurs régions du monde surtout dans le bassin méditerranéen et en Inde (**Meziti, 2009**).

*Nigella* dérive du mot latin *Nigellus* qui signifie noirâtre, car les graines sont d'un noir intense, caractéristique des graines de nigelle. Elles sont communément connues sous le nom de cumin noire, black seed en Anglais, *Habbat el baraka* ou encore *El habba sauda* dans les pays arabes, *Sinouj* en Algérie (**Ghedira, 2006**).

### I.2. Classification

La nigelle ou *Nigella* L. est un petit genre de plantes herbacées dans la famille des Renonculacées, comprend environ 14 espèces Voir (figure 01). Certaines d'entre elles étant d'une importance économique, elles sont utilisées comme épices, plantes médicinales et plantes ornementales.

*Nigella arvensis* L., *Nigella damascena* L., *Nigella hispanica* L., *Nigella sativa* L. et *Nigella orientalis* L. sont les espèces les plus répandues du genre *Nigella* (**Kokoska, 2011**).

### I.3. Description botanique de la nigelle

Les différentes espèces de nigelle ont des caractéristiques communes :

- Elles sont des plantes annuelles avec des feuilles très découpées, plumeuses, leurs segments plus ou moins linéaires.

- Les fleurs hermaphrodites sont pentamères et tétra cycliques avec ostentatoire blanche à sépale bleuâtre et jaunâtre persistant pendant un temps sur la maturation des fruits. Les pétales nectarifères (feuilles de miel) sont de taille réduite, et une lèvre d'échelle comme supérieure agissant comme un «couvercle» de protection (Hegi, 1975 ; Zohary, 1983).

- Ces plantes possèdent également des caractéristiques spécifiques pour chaque espèce.

Ce présent travail, s'est basé sur l'étude de cinq (05) espèces de nigelle, les plus répandues du genre *Nigella* : *Nigella arvensis*, *Nigella damascena*, *Nigella hispanica*, *Nigella sativa* et *Nigella orientalis*. Ci-dessous leurs descriptions botaniques :

### 1) *Nigella sativa* L.

*Nigella sativa* L. est appelée aussi *N.cretica* ou *N.indica* (Anonyme, 2004), elle possède plusieurs appellations vernaculaires, dont celles indiquées dans le tableau ci-dessous :

**Tableau I:** Noms communs de *Nigella sativa* L. (Kokoska, 2011).

Région	Nom commun
Anglaise	Black cumin, small fennel, fennel flower.
Française	Cumin noir, nigelle cultivée, toute-épice.
Arabe	Habbet-el baraka, habba-tu sawda, Kamun-aswad, Shunez, gesheh.
Marocaine	Sanuj.
Egyptienne	Habatul barakah.
Iranienne	Siah daneh.
Turquoise	Corekotu
Indonésienne	Jinten hitam
Indienne	Mangral, kala dana, kalaunji.

#### a-Localisation


Cette plante est rare en France, elle est trouvée accidentellement dans les champs du midi; en Europe c'est une espèce rare également, elle y a été introduite. On la trouve surtout hors de l'Europe (Orsi-Llinares, 2005).

#### b-Description

Plante annuelle à tige dressé ramifiée ; à feuilles dentées ; à fleure bleu-gris assez petite de 2 à 2,5 cm de diamètre, manquante d'involucre sous la fleure et a gousse dentelées (Bonnier; Douin, 1993 ; Iserin, 2001).



**Tableau II:** Description botanique de *Nigella sativa* L. (Bonnier,1990 ; Ghedira, 2006 ; Kokoska, 2011).

Partie de la plante	Photos
<p><b>Tige :</b> La tige est fortement ramifiée, subcylindrique, nervuré et creuse quand elle est sèche. De couleur vert clair à vert foncé.</p> <p><b>Feuille :</b> La feuille est plumeuse, divisée en lobes étroits, elle est lancéolée à linéaires et présente des onglets nectarifères. Les feuilles inférieures sont petites et pétaloïdes et les supérieures sont longues.</p> <p><b>Fleur :</b> Les fleurs sont solitaires, axillaires et terminales. Elles sont bisexuées, radiales, très riches en nectar. Elles sont petites à pétales blanchâtres et sépales pétaloïdes de couleur bleu clair et présentent de nombreuses étamines insérées sur le réceptacle.</p> <p><b>Fruit :</b> Le fruit est une capsule formée de follicules soudés, s'ouvrant au sommet par une fente interne.</p>	 
<p><b>Graine :</b> La graine est de couleur noirâtre, avec un tégument assez dure ornementé de stries. La graine faisant en moyenne 2-3 mm dans le sens de la longueur, elle a une base large puis se rétrécit en forme triangulaire anguleuse. En l'écrasant entre les doigts, elle dégage une odeur de camphre.</p>	

## 2) *Nigella damascena* L.

*Nigella damascena* L. est appelée aussi *N. coerulea*, *N. multifida*, elle possède d'autres noms communs tels : Barbiche, cheveux de vénus, nigelle de damas (Français), Love-in-a-mist, jack-in-the-green (Anglais). (Anonyme, 2004 ; Kokoska, 2011).

### a-Localisation



- En France : dans le midi, dans l'ouest et dans le sud-ouest.
- En Europe : en Suisse, en Belgique et en région méditerranéenne.

-Hors Europe : dans le nord de l'Afrique, dans les îles de Madère et des canaries (**Orsi-Llinares, 2005**).

**b-Description :**

*Nigella damascena* L. est une plante herbacée annuelle, jusqu'à 60 cm de hauteur. Cette très jolie fleur se distingue des 4 autres espèces par son involucre à longues lanières enchevêtrées disposé immédiatement sous la fleur (**Orsi-Llinares, 2005; Jansen, 1999**).

**Tableau III:** Description botanique de *Nigella damascena* L. (**Jansen, 1999**).

Partie de la plante	Photos
<p><b>Tige :</b> La tige est simple ou ramifiée</p> <p><b>Feuille :</b> Feuilles alternes, bi-Tri-pennées, avec des segments très étroits.</p> <p><b>Fleur :</b> Les fleurs sont terminales, solitaires, 3,5-4,5 cm de diamètre, bisexuelles, entouré d'environ 5 bractées qui sont disséqués en plusieurs segments linéaires. Les sépales sont griffues, pétaloïdes, bleu ou blanchâtre, voir même rose, au nombre de cinq ou plus. Les pétales sont environ de 8, plus petites que les sépales,</p> <p><b>Fruit :</b> Son fruit est une capsule renflée très ornementale, rentrant souvent dans la composition de bouquets secs.</p>	
<p><b>Graine :</b> Les graines sont nombreuses ovoïdes, à 3 angles, transversalement côtelées. Elles sont noires et rugueuses.</p>	

**3) *Nigella orientalis* L.**

*Nigella orientalis* L. est appelée aussi *Nigellastrum flavum*, *Nigellastrum orientale*. Elle possède une autre appellation telle : Yellow fennel flower (Anglais) (**Anonyme, 2004 ; Kokoska, 2011**).



**a-Localisation**

- Sud-ouest de l'Asie.
- En Europe (Orsi-Llinares, 2005).

**b-Description**

*Nigella orientalis* L. est une plante herbacée annuelle, peut aller jusqu'à 45 cm de haut ou aussi bas que 10 cm, simple ou peu ramifiée (Sorvig, 1981; Zohary, 1983)

**Tableau IV:** Description botanique de *Nigella orientalis* L. (Amarck, 1816).

Partie de la plante	Photos
<p><b>Tige :</b> La tige droite et bien moins rameuse que la précédente dont elle diffère par ses pistils beaucoup plus longs que la corolle.</p> <p><b>Feuille :</b> Les feuilles sont finement laciniées, relativement large, les supérieures non involucrantes.</p> <p><b>Fleur :</b> La fleur est plus plus petite, de couleur jaunâtre. Le calice est divisé en 5 folioles onguiculées, terminées par une lame ovale, aigue aux deux extrémités. Les pétales sont tubulés, de pourpre en dessous, très courtes, au nombre de 8-10.</p> <p><b>Fruit :</b> Les carpelles généralement un peu plus longues que les becs. 12 à 14 follicules des fruits sont comprimés et plat, et reliés environ la moitié de leur longueur, ce qui est à peu près égale à celle des modèles ci-joints.</p>	
<p><b>Graine :</b> Les graines sont aplaties et environnées d'une aile membraneuse.</p>	

**4) *Nigella arvensis* L.**

*Nigella arvensis* L. est appelée aussi *N.aristata*, *N. cretensis*, *N. latifolia*, *N. tenuiflora*, *N. tuberculata*. Elle possède une autre appellation telle : Wild fennel, field nigella (Anglais) (Anonyme, 2004 ; Kokoska, 2011).



**a-Localisation**

-En France : plante assez commune, présente principalement sur les sols calcaires elle est cependant rare dans l'ouest et le centre. Elle ne s'élève pas en montagne.



-En Europe : Europe centrale et méridionale.

-Hors Europe : Asie occidentale, Nord de l'Afrique (Orsi-Llinares, 2005).

**b-Description :**

*Nigella arvensis* L. est une plante herbacée annuelle jusqu'à 45 cm, très légèrement ramifiée; à grande fleur isolée sans involucre (Coste L'abbé, 1985 ; Orsi-Llinares, 2005).

**Tableau V:** Description botanique de *Nigella arvensis*.L (Hess *et al*, 1976-1980).

Parties de la plante	Photo
<p><b><u>Tige :</u></b> C'est une plante à rameaux écartés.</p> <p><b><u>Feuille :</u></b> Les feuilles caulinaires abondamment pennée en segments très étroits, feuilles sont deux à trois fois pennées, les feuilles terminales sont plus petites.</p> <p><b><u>Fleur :</u></b> Les fleurs sont solitaires à l'extrémité de la tige, avec 5 sépales pétaloïdes de 10-15 mm, bleu clair, spatulés. Nectaires plus courts, en forme de gobelets, pointus, avec la lèvre inférieure bilobée.</p> <p><b><u>Fruit :</u></b> Le fruit est une capsule lisse, assez grand et étroite, non gonflé, avec des styles dressées raisonnablement 5 à 8 follicules unis jusqu'à la moitié.</p>	
<p><b><u>Graine :</u></b> Les graines sont finement granuleuses.</p>	

**5) *Nigella hispanica* L.**

*Nigella hispanica* L. est appelée aussi *N. amoena*, *N. gallica*, *N. confusa*. Elle possède une autre appellation telle : Spanish fennel (Anglais) (Anonyme, 2004 ; Kokoska, 2011).

**a-Localisation :**

-En France : midi et sud-ouest.



-En Europe : Espagne et Portugal.

-Hors Europe : Afrique du Nord (Maroc, Algérie) (Orsi-Llinares, 2005).

**b-Description :**

*Nigella hispanica* L. est une plante annuelle, jusqu'à 35 cm de haut, dressée, peu ramifiée et non involuquée (Fournier, 2001).

**Tableau VI:** Description botanique de *Nigella hispanica* L. (Kokoska, 2011).

Parties de la plante	Photos
<p><b>Fleur :</b> La fleur est solitaire, 3,5-7 cm de large, bleu ciel, entourée d'une couronne de bractées filiformes, périanthe simple, à 5 tépales étroits-elliptiques, nettement onguiculés, nectaires bilabiées, foncées. Les étamines sont toujours visibles rouge violet foncé.</p> <p><b>Tige :</b> La tige est dressée, peu ramifiée.</p> <p><b>Feuille :</b> les feuilles sont très divisées, alternes, bi à tripennatiséquées, segments étroits-linéaires.</p> <p><b>Fruit :</b> le fruit est moins gonflé, plus nervuré que <i>N. damascena</i> L., folliculaire; carpelles unis aux deux tiers de leur longueur. Style de cornes généralement horizontal.</p>	
<p><b>Graine :</b> Les graines sont brunâtres différentes en taille et en couleur comparées aux graines noires des autres espèces des nigelles.</p>	

**I.5. Composition chimique de *Nigella sativa* L.**

Les recherches sur la composition chimique de *Nigella sativa* L. ont débuté en 1880 avec Greenish, qui publia le premier rapport mentionnant la présence de 37% d'huiles et 4,5% d'éléments minéraux.

La composition générale de ces graines montre une teneur relativement importante en glucides (33-34%), en lipides (30-37%) et en protéines (16-21%).

Les graines de *Nigella sativa L.* étant très utilisées dans l'alimentation, ces données permettent déjà de les qualifier comme ayant une bonne valeur nutritive (Nergiz, 1991).

Une approximation de la composition chimique est donnée dans le tableau VII.

**Tableau VII:** Composition chimique des graines de *Nigella sativa L.* d'après (Nergiz et Otles 1993 ;Takruri et Dameh, 1998 ; Atta, 2003).

Constituants	Quantité dans 1 Kg
Eau	38 -78g
Protéines	202-216g
Lipides	320-406g
Glucides	248-374g
Fibres	66-84g
Sels minéraux	37-45g

## I.6. Les effets thérapeutiques de Nigelle

Durant les 20 dernières années, plusieurs travaux ont porté sur l'étude de *Nigella sativa L.*, notamment sur les effets dus aux extraits de la graine de cette espèce ainsi qu'aux principaux constituants (notamment la thymoquinone) sur divers systèmes in vivo et in vitro.

L'huile des graines de cette espèce a été décrite comme ayant une activité antitumorale, antioxydante, antibactérienne et un effet stimulant du système immunitaire (Ghedira, 2010).

Cette plante est connue pour avoir de nombreuses propriétés médicamenteuses dans la médecine traditionnelle. Cette plante a été largement étudiée et de nombreuses propriétés biologiques favorables ont été signalées comme antioxydant, antimutagène, hépato protecteurs, anticorrosion et les effets anti-inflammatoires (Talbi *et al.*, 2015).



*Matériel*  
*et*  
*méthodes*

## I. Matériel et méthodes

Les graines de Nigelle qui ont été semées au mois de Décembre 2015, elles ont poussé et donner des plantes herbacées. Ces plantes ont commencé à fleurir au mois d'Avril puis former des capsules au mois de Mai. Au Début du mois de Juin les graines qui se trouvent à l'intérieur des capsules ne sont pas encore mures (de couleur verte). A la fin du mois de Juin, ces plantes vont commencer à sécher et nous donner à leurs tours des graines mures.

Après avoir examiné les différentes parties de ces plantes : tige, feuilles ; fleurs, capsules, graines et racines, au niveau du laboratoire de biologie végétales (Université de Bejaïa) ; nous avons confirmé les espèces des plantes étudiées.

Nous avons pris des photographies des différentes parties de ces plantes, nous les avons inséré dans la description botanique des nigelles (partie théorique) voir tableaux (II, III, IV, V et VI).

Nous avons aussi confectionné un herbier contenant les différentes parties de ces plantes afin de conserver ces espèces.

### I.1. Matériel végétal

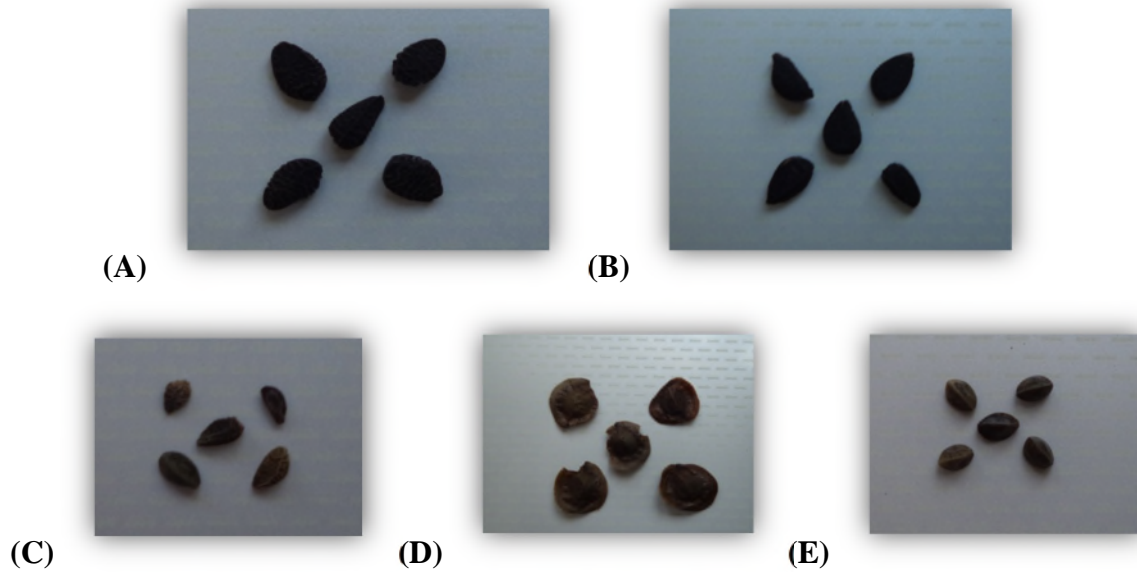
Le matériel végétal utilisé dans cette étude est les graines de 5 espèces de nigelle : *Nigella sativa* L. (NS), *Nigella damascena* L. (ND), *Nigella orientalis* L. (NO), *Nigella arvensis* L. (NA) et *Nigella hispanica* L. (NH).

- 1 kg de graines de *Nigella sativa* L. (NS) est acheté chez un arboriste à Bejaïa, elles sont importées de Syrie (date de récolte décembre 2015).

-Les autres espèces : *N. damascena* L. (9g), *N.orientalis* L. (1g),*N.hispanica* L.(1g) et *N.arvensis* L.(1g), les graines ont été achetées en France (date de récolte 2015).

-Des graines de chaque espèce ont été semées (date de semi décembre 2015) dans des pots afin de les identifier et confirmer qu'il s'agit bien de ces espèces.

-Ces graines sont nettoyées pesées puis séchées.



**Figure 02:** Graines de Nigelle étudiées (A : ND, B : NS, C : NA, D : NO, E : NH)

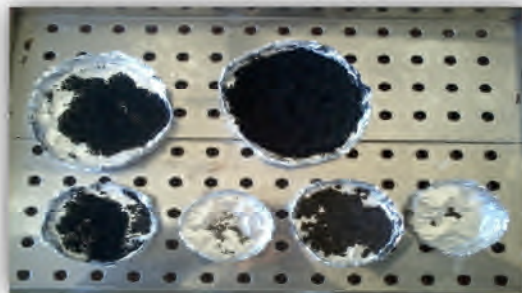
## I.2. Séchage

Avant de sécher les graines, un test d'humidité a été effectué à 105°C pendant 3 heures, afin de déterminer le taux d'humidité. Ensuite le séchage a été réalisé pour les 5 échantillons qui ont été pesés avant et après séchage dans une étuve à 40°C pendant une semaine (Figure 03). Le taux d'humidité a été calculé selon la relation suivante :

$$\text{Taux d'humidité(\%)} = \frac{(100 - M) \times 100}{100}$$

**M** : masse de l'échantillon après séchage

**100** : masse de l'échantillon avant séchage



**Figure 03:** Séchage des graines de Nigelle

### I.3. Broyage et tamisage

Les graines séchées ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique, puis tamiser à travers deux tamis de différentes granulométries (1 mm, 500 µm) afin de pouvoir récupérer la poudre la plus fine.

Les poudres sont ensuite conservées dans des récipients en verre fermés hermétiquement et stockées à l'abri de la lumière pour des prochaines utilisations.

### I.4. Extraction des composées phénoliques

Pour l'extraction des polyphénols, nous avons suivi la méthode de **Djahra** (2014) avec quelques modifications. Pour *Nigella sativa* L., 100g de poudre sont introduites dans 1000 ml d'un mélange méthanol/eau (80 :20, v/v). Le processus d'extraction est poursuivi pendant une semaine à température ambiante dans un endroit sombre, en utilisant un mélangeur magnétique l'extrait a été filtré à travers un papier filtre Whatman (Figure 4 et 5).

Le mélange méthanol/eau est éliminé du filtrat par évaporation dans une étuve ventilée à 40°C permettant ainsi d'obtenir un résidu caractérisé par une couleur brune foncée qui est ensuite reconstitué avec du méthanol (**Talbi, 2015**).

Même rapport d'extraction est utilisé pour les autres espèces (1/10 : 1 g du broyat dans 10 ml du solvant méthanol/eau) selon la quantité des graines que nous avons.



**Figure 04:** Extraction des composées phénoliques



**Figure 05:** Filtration des l'extraits

L'extrait brut méthanolique isolé à été quantifié selon la formule suivante :

$$\text{Rendement d'extraction (\%)} = \frac{M}{P} \times 100$$

**M** : C'est la masse de l'échantillon avant le séchage – sa masse après le séchage.



**P** : Poids du broyat utilisé.

## I.5. Dosage des composés phénoliques

Le dosage des composés phénoliques ainsi que la mesure de l'activité antioxydante des graines de NS, ND, NO, NA et NH sont effectuée à partir des extraits secs obtenus puis reconstitués dans du méthanol.

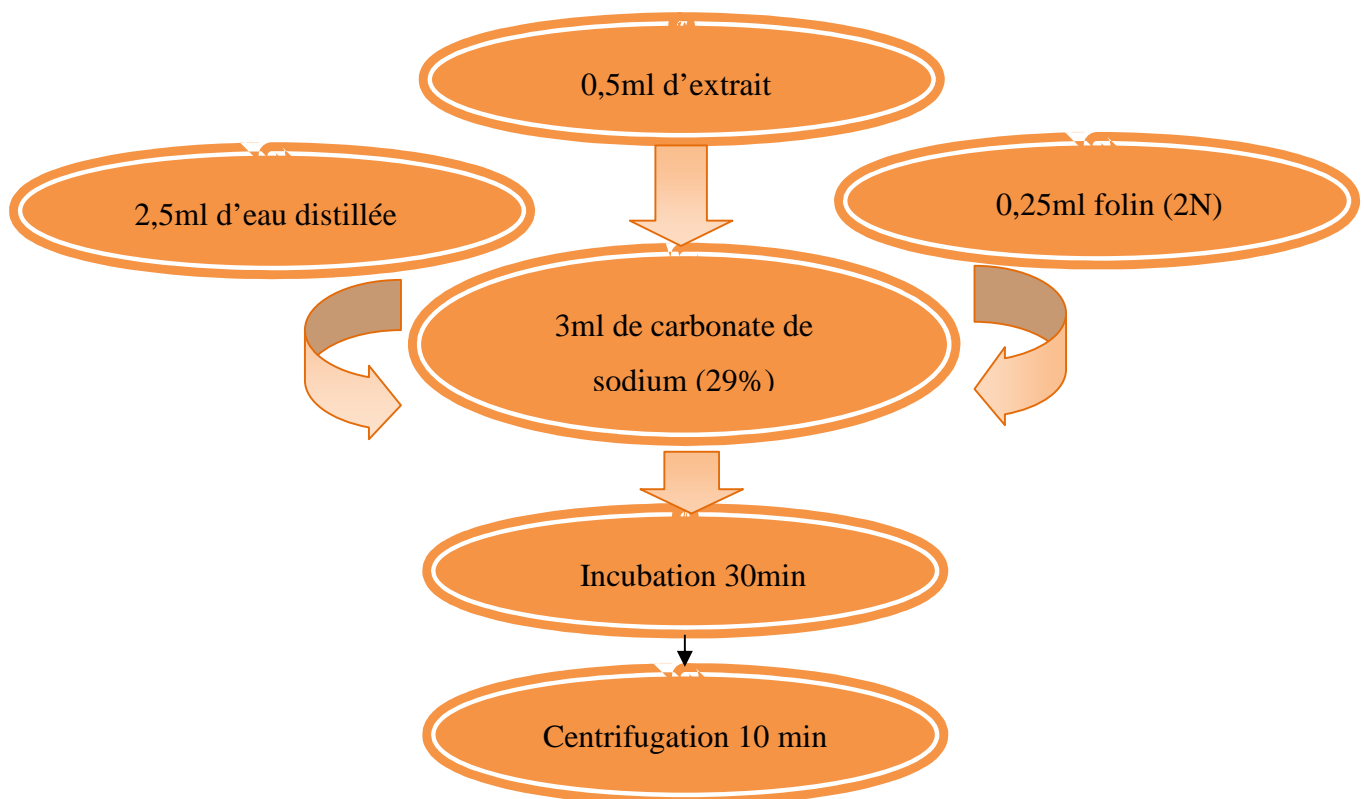
### 1) Dosage des polyphénols totaux (NS, ND, NO, NA et NH)

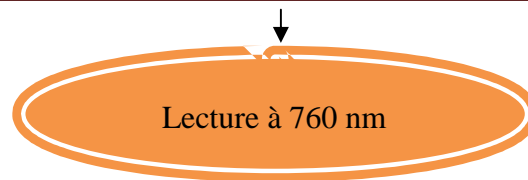
#### Principe

Les composés phénoliques totaux ont été estimés selon la méthode colorimétrique basée sur le réactif de Folin Ciocalteu (**Singleton et al., 1999**). Le réactif est formé d'acide phosphotungestique ( $H_3PW_{12}O_4$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_4$ ) qui sont réduits lors de l'oxydation des composés phénoliques en oxydes bleus de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{23}$ ).

#### Protocole

Le protocole suivi pour le dosage des composés phénoliques est celui de **Singleton et al.** (1999) voir (Figure 06).





**Figure 06:** Dosage des polyphénols totaux des différents extraits (Singleton et al., 1999).

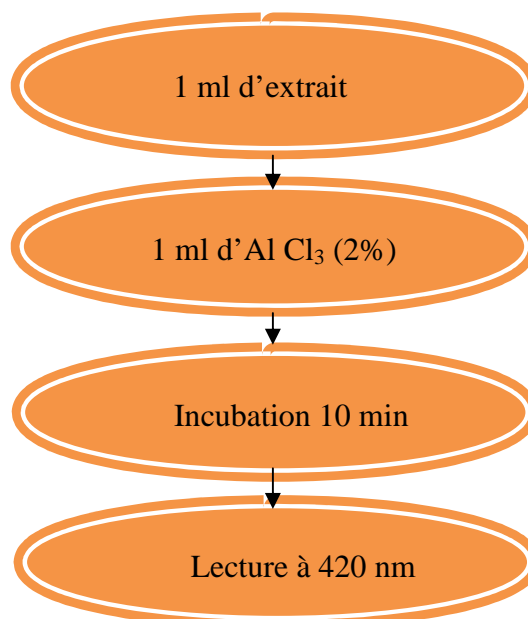
## 2) Dosage des flavonoïdes (ND, NS, NO, NA et NH)

### Principe

La teneur en flavonoïdes est déterminée par la méthode du trichlorure d'aluminium. Elle est basée sur la formation d'un complexe flavonoïde-Aluminium qui donne une coloration jaunâtre mesurable à 420 nm. Ceci est dû au fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux oxygènes de la molécule phénolique agissant comme donneurs d'électrons (Ribéreau-Gayon, 1968).

### Protocole

La méthode du trichlorure d'aluminium est appliquée dans notre travail pour quantifier les flavonoïdes dans les graines des différentes espèces de nigelle, selon le protocole décrit ci-dessous :



**Figure 07:** Dosage des flavonoïdes (Ribéreau-Gayon, 1968).

## 3) Dosage des tannins (NS, ND et NO)

Le dosage des tanins a été effectué seulement pour NS, ND et NO.

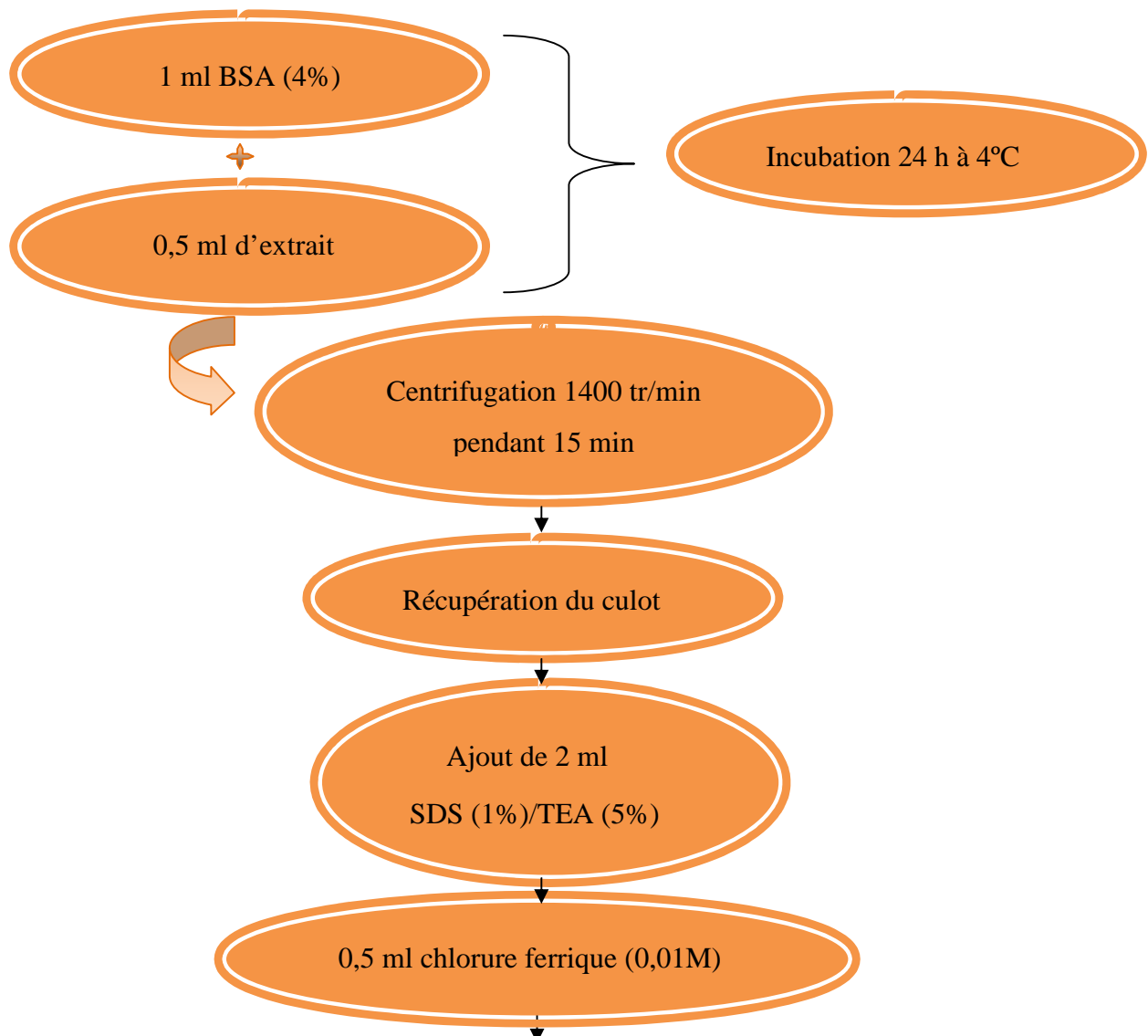
## Principe

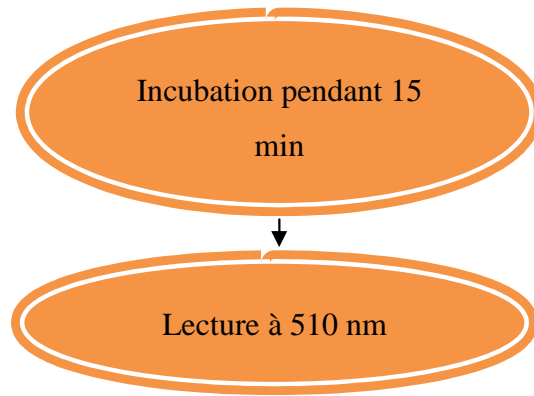
Pour le dosage des tannins, une protéine standard BSA (Bovin Sérum Albumine) a été utilisée comme modèle de protéine dans le but de séparer ces derniers des autres phénols présents dans l'extrait, étant donné que les tannins sont connus par leur propriété principale qui est la précipitation des protéines en fonction des facteurs liés au milieu réactionnel (pH, température et temps) (**Hegerman et Butler,1978**).

Le chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ) réagit avec les tannins (en milieu alcalin : SDS/TEA) pour former des chélates de couleur généralement violette quantifiable par spectrométrie à 510 nm (**Hegerman et Butler, 1989**).

## Protocole

L'estimation quantitative des tannins contenus dans les extraits de nigelle a été réalisée selon la méthode de **Hegerman et Butler (1978)**. Le protocole s'agit de la figure suivante.





**Figure 08:** Dosage des tannins (Hegerman et Butler, 1989).

## I. 6. Caractérisation des huiles de Nigelle (NS et ND)

### 1. Extraction des huiles

Les huiles de Nigelle des deux espèces NS et ND sont obtenues par pression à froid à l'aide d'une presse à vis sans fin représenté dans la figure 09.

Les huiles obtenues sont ensuite centrifugées pour faire précipiter les impuretés et récupérer les huiles pures.



**Figure 09:** Appareil d'extraction de l'huile de Nigelle.

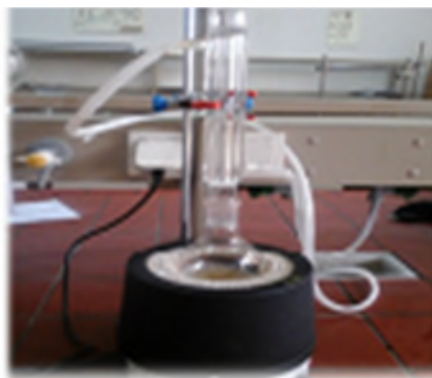
### 2. Analyses physico-chimiques des huiles

#### 2.1. Indice de saponification

C'est le nombre de milligramme d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire pour saponifier 1g de matière grasse.

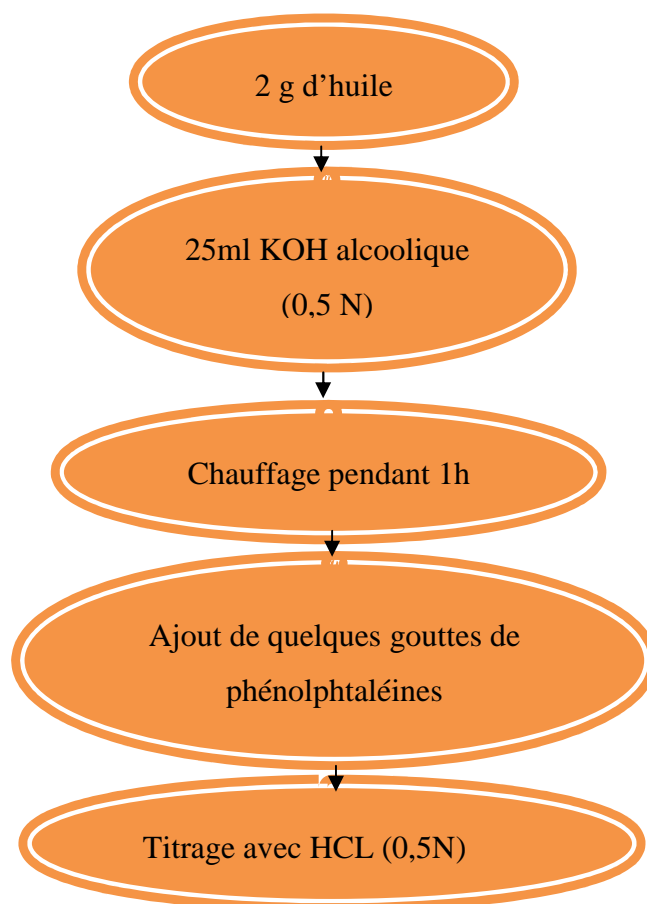
##### Principe

Le principe consiste à l'ébullition à reflux d'échantillon contenant l'huile avec une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium pendant une heure, puis titrage de l'excès d'hydroxyde de potassium par une solution titrée d'acide chlorhydrique. Un essai à blanc (sans matière grasse) est réalisé dans les mêmes conditions. (J.O.R.A.D.P, 2011)



**Figure 10:** Chauffage à reflux pour la détermination de l'indice de saponification.

### Protocole



**Figure 11:** Protocole d'indice de saponification pour NS et ND.

L'expression des résultats pour l'indice de saponification est comme suit :

$$\text{Indice de saponification} = \frac{(V_0 - V_1) \cdot N_{HCl} \cdot Eq}{PE}$$

$V_0$  : Volume de HCl en ml utilisé pour l'essai à blanc.

$V_1$  : Volume de HCl pour l'échantillon.

**PE** : Prise d'essai.

$N_{HCl}$  : Normalité d'HCl (0,5N).

**Eq** : Équivalent gramme de KOH = 56,1g.

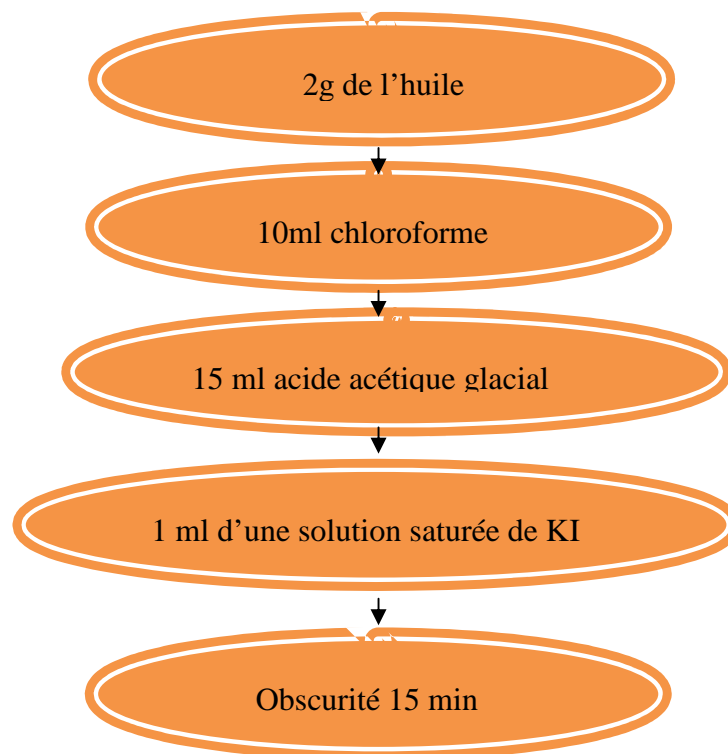
## 2.2. Indice de peroxyde

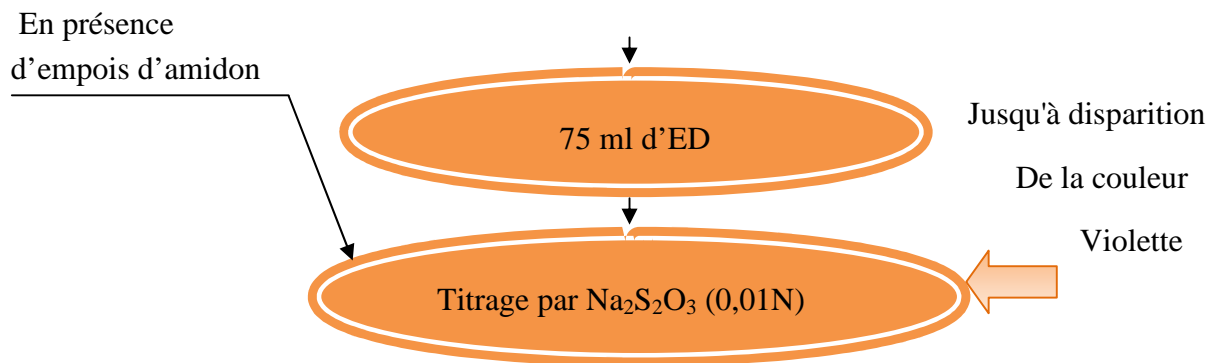
C'est la quantité de substances de l'échantillon, exprimée en termes d'oxygène actif, qui oxydent l'iodure de potassium dans les conditions de la présente méthode (**Journal Officiel Algérien, 2011**).

### Principe

Dissoudre l'échantillon ou prise d'essai dans de l'isooctane et de l'acide acétique glacial, puis ajouter l'iodure de potassium. Déterminer visuellement l'iode libéré par les peroxydes, à l'aide d'un indicateur à l'amidon et d'une solution étalon de thiosulfate de sodium.

### Protocole





**Figure 12:** Mode opératoire d'indice de peroxyde.

Un essai témoin est réalisé dans les mêmes conditions.

### 2.3 Indice d'acide

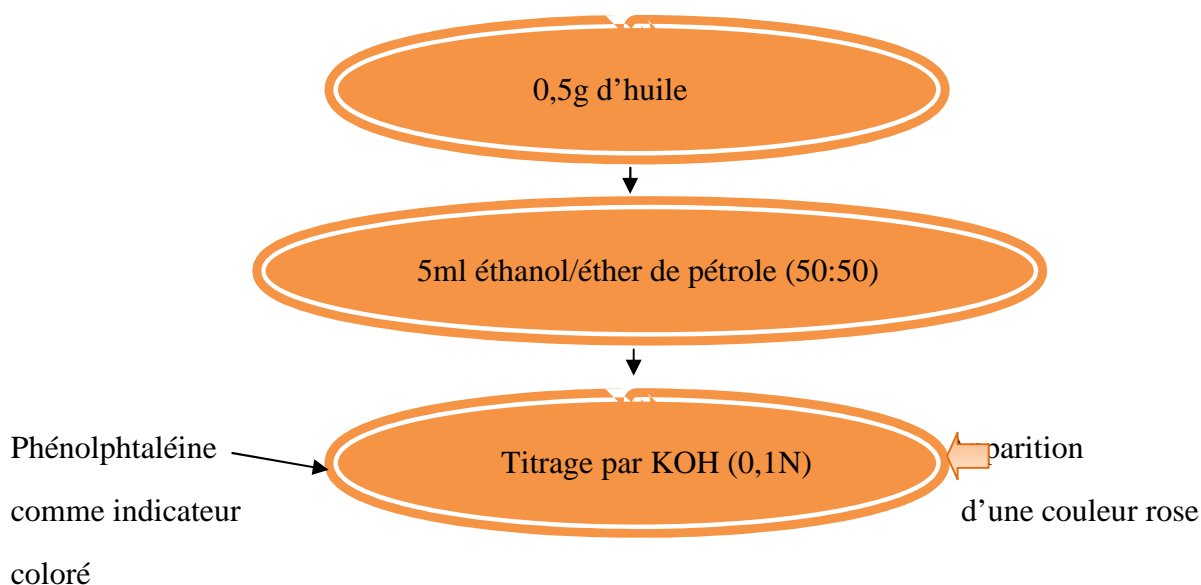
C'est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire pour neutraliser les acides gras libres (AGL) présents dans 1 g de corps gras (**Journal Officiel Algérien, 2011**).

Acidité : expression conventionnelle du pourcentage d'acides gras libres.

#### Principe

Le principe de cette analyse consiste à mettre en solution une quantité connue d'huile dans l'alcool puis à effectuer un titrage des acides gras libres, par une solution de KOH (0,1N) à chaud en présence de phénolphtaléine.

#### Protocole



**Figure 13:** Mode opératoire de l'indice d'acide.

L'expression des résultats pour l'indice d'acide est comme suit :

$$\text{Indice d'acide} = \frac{V \times N_{\text{KOH}} \times M}{PE \times 10}$$

**V** : Volume en ml de KOH utilisé dans le titrage.

**N** : Normalité de KOH (0,1N).

**M** : Masse molaire en g/mol équivalent de l'acide oléique.

## I.7. Activité antioxydante des extraits et huiles de Nigelle

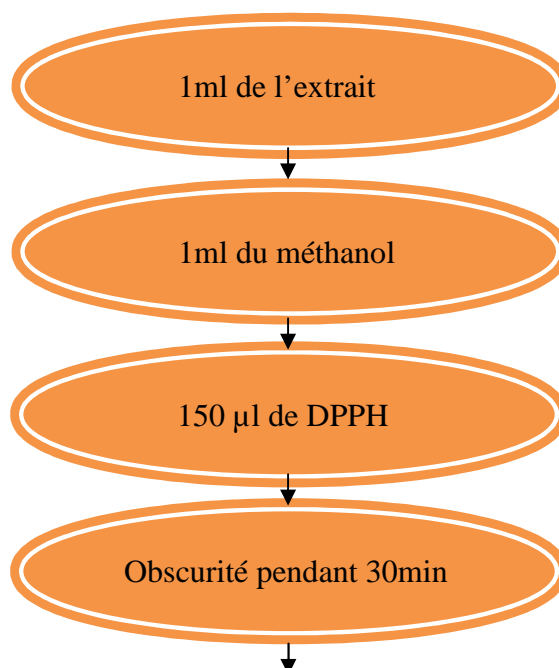
Parmi les différents travaux qui ont été effectués pour évaluer les effets des graines de Nigelle, la majorité d'entre eux sont focalisés sur ses propriétés antioxydantes.

### 1. Test de DPPH (NS, ND, NO, NA, NH, HNS et HND)

#### Principe

Le test de Blois (DPPH) est appliqué pour déterminer la quantité de radical qui peut être piégée par un antioxydant, c'est-à-dire la capacité antioxydante. Dans ce test, les antioxydants réduisent le diphényl picryl-hydrate ayant une couleur violette en un composé jaune, le diphényl picryl-hydrazine, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Sanchez-Moreno, 2002).

#### Protocole







Lecture 517 nm

**Figure 14:** Test du DPPH selon Blois (1958).

L'expression des résultats pour mesurer le pourcentage d'inhibition est comme suit :

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{(\text{Abs t} - \text{Abs E})}{\text{Abs t}} \times 100$$

**Abs t** : Absorbance témoin.

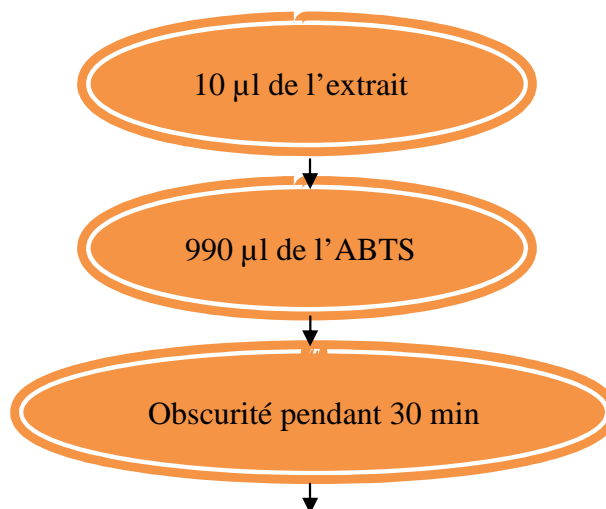
**Abs E** : Absorbance de l'extrait.

## 2. Test de l'ABTS<sup>•+</sup> (NS, ND, NO, NA, NH, HNS et HND)

### Principe

Le test trolox équivalent antioxidant capacity (TEAC) est appliqué pour déterminer la quantité de radicaux qui peuvent être piégés par un antioxydant, c'est à dire la capacité antioxydante. Dans cette méthode, l'ABTS est mis en solution aqueuse avec du potassium persulfate pour générer le radical. Ce radical ABTS<sup>•+</sup> est stable, coloré et présente une absorbance maximale à 734 nm. Une fois que le radical ABTS<sup>•+</sup> est formé, l'antioxydant pur ou l'échantillon est ajouté et la diminution de l'absorbance est suivie par spectrophotométrie. La diminution de la concentration d'ABTS<sup>•+</sup> induit par une certaine concentration d'antioxydant, est reliée à celle du Trolox et donne la valeur TEAC de l'antioxydant.

### Protocole





Lecture à 734 nm

**Figure 15:** Test d'ABTS selon **Re et al** (1999).

L'expression des résultats pour mesurer le pourcentage d'inhibition est comme suit :

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{(\text{Abs t} - \text{Abs E})}{\text{Abs t}} \times 100$$

**Abs t** : Absorbance témoin.

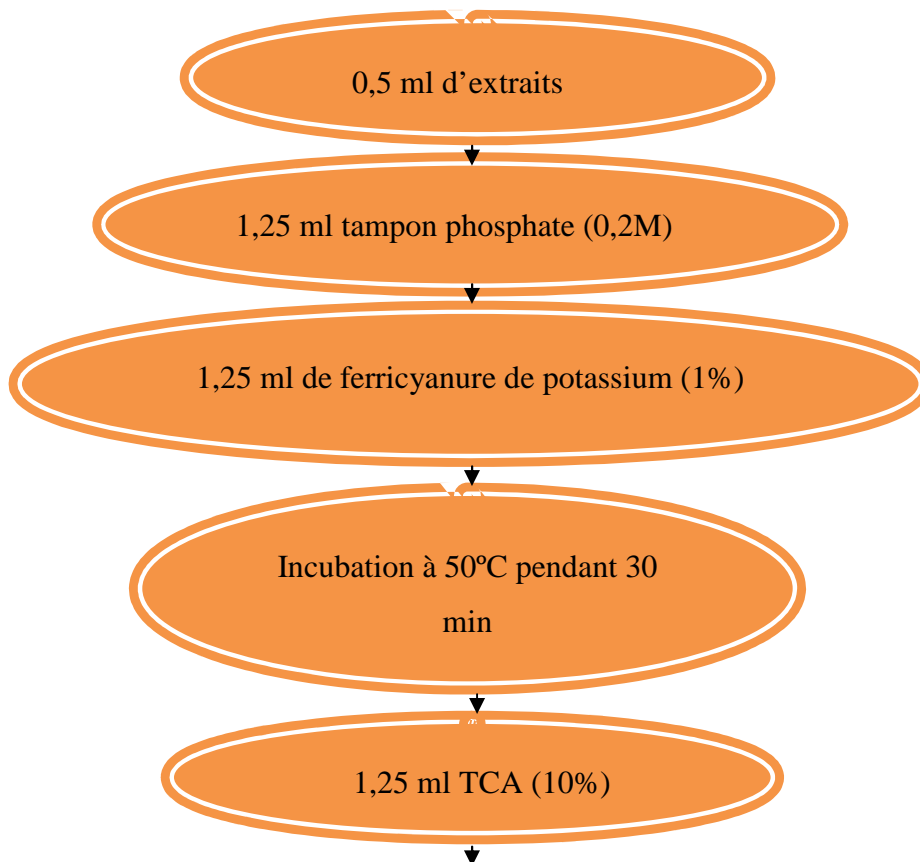
**Abs E** : Absorbance de l'extrait.

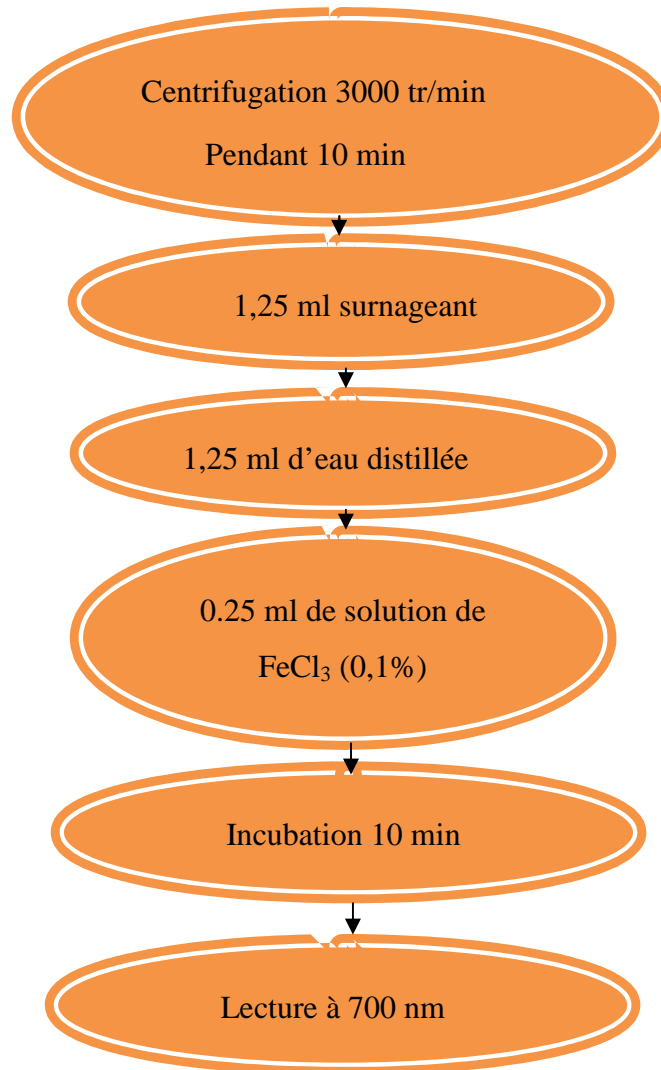
### 3. Pouvoir réducteur (NS, ND, NO, HNS et HND)

#### Principe

Le pouvoir réducteur est l'aptitude des antioxydants présents dans les extraits à réduire le fer ferrique du complexe ferricyanure-Fe<sup>3+</sup> en fer ferreux. La forme réduite de ce complexe donne une couleur verte qui est proportionnelle au pouvoir réducteur de l'extrait.

#### Protocole





**Figure 16:** Pouvoir réducteur selon Oyaizu (1986).

## I.8. Activité antimicrobienne des extraits et huiles Nigelle

### 1. Souches testées et milieux utilisés

Les dix souches microbiennes testées ont été choisies par rapport à leur pouvoir de contaminer les denrées alimentaires. Ces souches sont : *E.coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* (SARM) ATCC 43300 *Staphylococcus aureus* méthicilline sensible ATCC 29213 *Aspergillus niger* 939N, *Aspergillus flavus* NRRL 3251, *Aspergillus parasiticus* (CB5), *Aspergillus ochraceus* NRRL 3174, *Mucor rammanianus* NRRL 1829 et *Candida albicans*.

Les 4 souches bactériennes sont entretenues par repiquage sur Gélose Nutritive (GN) favorable à leur croissance pendant 24 h à l'obscurité à 37°C. Le même milieu a été utilisé pour les 5 types moisissures et pour la levure.

L'ensemencement a été effectué sur milieu Muller Hinton (MH) pour toutes les souches microbiennes testées.

## **2. Procédure microbiologique**

Après la revivification des souches, nous avons standardisé ces dernières dans l'eau physiologique ; dans le but de déterminer le nombre de cellules dans 1ml de la suspension microbienne en mesurant son absorbance à une longueur d'onde de 630 nm qui doit être équivalente à celle du Mc Farland (Abs = 0.250), ce qui indique que la suspension microbienne comporte  $1.5 \times 10^8$  UFC/ml.

La détection bactérienne a été réalisée par des techniques microbiologiques classiques selon **Voidarou et al. (2011)** après dilution de chaque échantillon dans le DMSO (diméthylsulfoxyde) et l'utiliser en tant que contrôle négatif selon **Hambaba et al. (2012)**, sachant que nous avons utilisé deux concentrations, l'une forte et l'autre faible ; pour les extraits et huiles de NS et ND les concentrations sont 195 mg/ml et 5 mg/ml tandis que pour l'extrait de NO les concentrations sont 63 mg/ml et 5 mg/ml.

Après avoir coulé la gélose de Mueller Hinton dans des boîtes de Pétri et laisser refroidir, l'ensemencement a été fait par technique d'écouvillonnage en faisant un ensemencement par stries très serrées, suivi par la réalisation des puits à l'aide des embouts stériles de diamètre de 9 mm et le disque formé est ensuite enlevé afin d'obtenir un puits. Chaque boîte comporte trois puits où deux puits indiquent la forte et faible concentration et le troisième indique le témoin en tant que contrôle négatif (DMSO stérile), sachant que chaque boîte est répétée deux fois.

Une quantité de 100 µl des concentrations préparées à tester ont été introduites dans les puits ainsi que le DMSO stérile suivi par une diffusion à 4°C pendant 2 h 30 ensuite incubation à 37°C pendant 24h pour les bactéries et à 30°C pendant 48h pour les moisissures et levure.

Après l'incubation, l'activité antimicrobienne a été évalué par la mesure du diamètre des zones d'inhibition autour des puits **Voidarou et al. (2011)**.

## **I.9. Analyse des huiles fixes de NS et ND par chromatographie en phase gazeuse**

L'étude analytique des l'huiles fixes de *Nigella sativa* L. et *Nigella damascena* L. a été réalisée, au niveau de l'organisme CEVITAL, par chromatographie à phase gazeuse CPG/AGILEN THECHNOLOGIE 6890, La colonne utilisée est une colonne capillaire de type DB 23 CAPILAIRE, de 60m de longueur et de 0,25mm de diamètre intérieur. Le gaz vecteur est H<sub>2</sub> d'un débit de 1ml/min. L'épaisseur de la phase stationnaire est de 0,25µm; la programmation de la température de la colonne initiale d'injection est de 270°C avec une pression de 14.84 psi; le détecteur utilisé pour cette analyse est de type FID avec une température de 250° C.

L'appareil est piloté par un ordinateur menu d'un logiciel et d'une banque de données NIST qui permet l'identification des composés. Le temps de sortie de chaque pic (temps de rétention), caractérise qualitativement la substance concernée.

*Résultats*  
*et*  
*discussion*

## II. Résultats et discussion

### II.1. Séchage et test d'humidité

Le séchage consiste à extraire l'eau contenue dans la plante, qui se fait par évaporation de l'eau dans l'air et se termine par cette même quantité d'eau (**Bert, 2008**).

La teneur en humidité des graines est un facteur décisif pour leur conservation, car l'humidité est à l'origine de nombreuses réactions chimiques et contaminations microbiologiques.

Les résultats du test d'humidité réalisé sur les cinq espèces de nigelle sont récapitulés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau VIII:** Résultats des taux d'humidité.

Espèce	Taux d'humidité (%)
NS	5,9
ND	6,15
NO	9,44
NA	4,66
NH	11,42

D'après les résultats obtenus, nous avons remarqué que les deux espèces NO et NH présentent un taux d'humidité élevé 9,44% et 11,42% respectivement. En revanche, les autres espèces NS, ND et NA possèdent un taux moins important. Comparant nos résultats à la bibliographie, les valeurs d'humidité que nous avons obtenues pour NS et ND sont inférieures à celles obtenues par **Nergiz et ottles (1993)** et **Tuter et al (2003)** qui sont de 6,4 et 7,3% respectivement.

D'après les travaux précédents, cette différence peut être due aux variations environnementales des régions de culture de ces espèces et aux conditions du stockage.

### II.2. Rendements d'extraction

Les valeurs obtenues sont représentées dans le tableau suivant (Tableau IX).

**Tableau IX:** pourcentage des rendements d'extraction des cinq espèces.

Espèce	Poids des extraits sec (g)	Rendement d'extraction (%)
NS	12,982	12,98
ND	0,89	11,21
NO	0,28	29,94
NA	0,044	44,1
NH	0,034	34,19

D'après les résultats obtenus, les espèces NO, NA et NH ont donné un rendement plus élevé par rapport à celui de NS et ND.

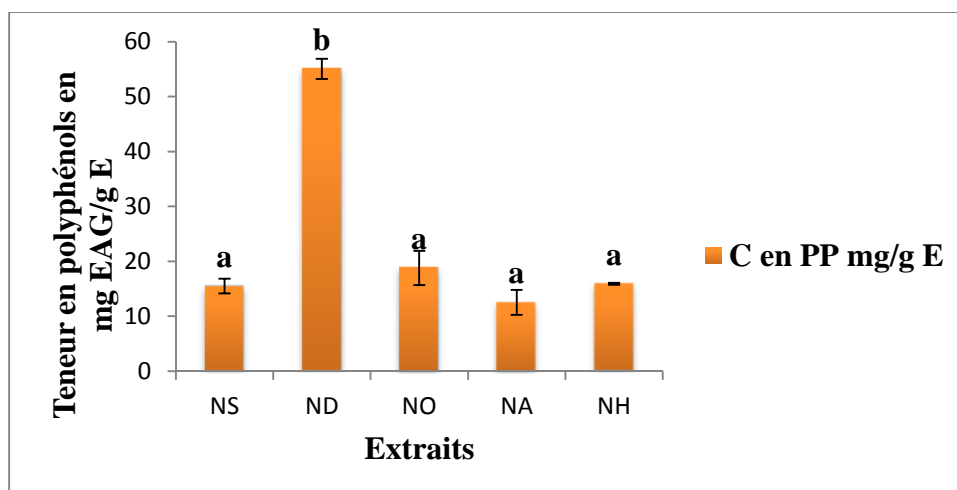
Le méthanol est le solvant le plus recommandé pour l'extraction des polyphénols et possède l'avantage d'être facilement éliminé (Ribéreau-Gayon, 1968 ; Scehovic, 1990 ; Owen et Johns 1999) cependant, il a l'inconvénient d'être toxique.

### II.3. Dosage des composées phénoliques

#### 1. Teneurs en polyphénols totaux

Les teneurs en polyphénols totaux des extraits des graines de NS, ND, NO, NA et NH ont été déterminées à partir de la courbe d'étalonnage voir annexe II. Les résultats obtenus sont exprimés en milligramme équivalent acide gallique par gramme d'extrait (**mg EAG/g d'extrait**).

Ces résultats sont illustrés dans la figure 17.



**Figure 17:** Teneur en polyphénols totaux de NS, ND, NO, NA et NH.

Les valeurs désignées avec les mêmes lettres indiquent que la différence n'est pas significative ( $P < 0,05$ ).

Selon les résultats obtenus, la teneur moyenne en polyphénols totaux des graines ND est la plus élevée qui est de 58,015 mg EAG/g suivie par celle de NO qui est de 20,079 mg EAG/g puis NH avec une teneur de 17,450 mg EAG/g. Les teneurs en polyphénols totaux de NA et NS sont les plus faibles parmi les cinq espèces avec des concentrations de 13,892 et 16,237 mg EAG/g respectivement.

Comparant nos résultats à ceux de Benazzouz (2005), nous avons trouvé que les teneurs en polyphénols totaux de NS sont relativement proches (16,237 mg EAG/g et 15,499 mg EAG/g respectivement).

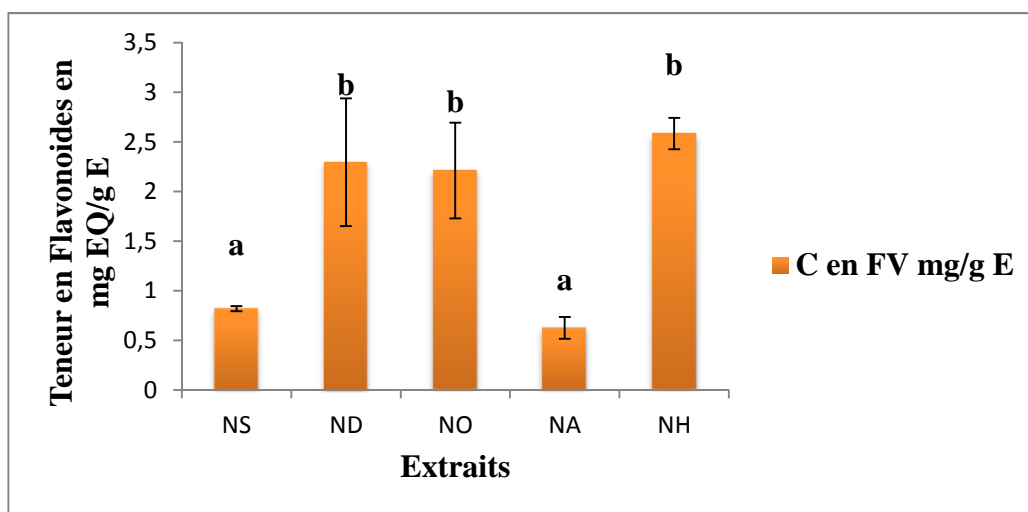


D'après les résultats obtenus, nous avons constaté que les teneurs en polyphénols totaux diffèrent d'une espèce à une autre même si elles appartiennent au même genre.

D'après l'étude statistique (ANOVA/MANOVA), il n'y a pas de différence significative entre les quatre extraits (NA, NS, NH et NO) alors qu'il existe une différence significative entre ces dernières et ND.

## 2. Teneurs en flavonoïdes

Les résultats du dosage des extraits des graines de (NS, ND, NO, NA et NH) sont illustrés dans la figure 18 qui sont exprimés en **mg EQ/g d'extrait**.



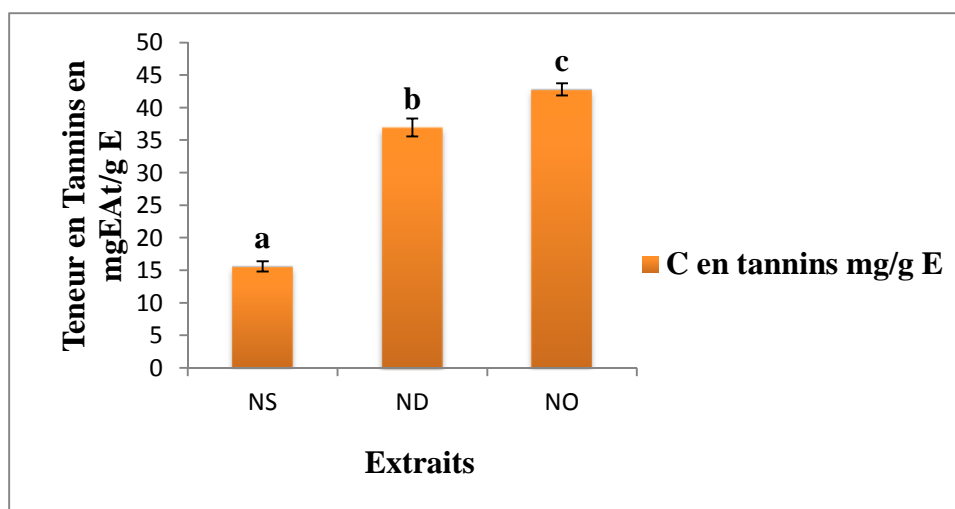
**Figure 18 :** Teneur en flavonoïdes de NS, ND, NO, NA et NH.

Selon les résultats obtenus, la quantité des flavonoïdes la plus élevée correspond à l'extrait de NH avec une teneur de 2,583 mg/g, suivi par celle de ND (2,294 mg/g d'extrait) et NO (2,204 mg/g d'extrait). Les deux extraits NS et NA présentent les teneurs les plus faibles qui sont 0,819 mg/g d'extrait et 0,625 mg/g respectivement.

A la lumière de ces résultats, une étude statistique a été réalisée qui démontre qu'il n'existe pas une différence significative entre les extraits NA et NS, de même pour les extraits de NO, ND et NH; alors qu'une différence significative a été marquée entre les extraits (NA, NS) et les extraits (NO, ND et NH).

## 3. Teneurs en tannins

La teneur en tannins a été estimée à partir de la courbe d'étalonnage voir (Annexe II). Les résultats obtenus sont exprimés en milligramme équivalent acide tannique par gramme d'extrait (mg E At/g d'extrait). Ces résultats sont illustrés dans la figure 19.



**Figure 19 :** Teneur en tannins de NS, ND et NO.

D'après l'histogramme ci-dessus, nous avons constaté que la quantité des tannins la plus importante est enregistrée pour l'extrait de NO avec une teneur de 42,799 mg/g d'extrait suivi par celle de l'extrait ND qui est de 36,941mg/g d'extrait. Une teneur moins importante est marquée pour l'extrait de NS avec une concentration de 15,596 mg/ g d'extrait.

D'après l'étude statistique, nous avons constaté qu'il existe une différence significative entre les trois extraits dosés (NS, ND et NO).

## II.4. Analyses physico-chimiques des huiles fixes

### 1. Indice de saponification

L'indice de saponification de l'huile NS est de 220,89 mg/g, supérieur à la valeur trouvé par **Azag et Makhlof (2014)** qui est de 207,33 mg/g. Par contre, celui de l'huile de ND est de 199,6 mg/g. Nous constatons que l'huile de NS est plus riche en acides gras insaturés que l'huile de ND.

Les indices de saponification nous renseignent sur la richesse et la nature des acides gras contenus dans les huiles.

### 2. Indice de peroxyde

Les valeurs de l'indice de peroxyde de *Nigella sativa* L. et *Nigella damascena* L. sont respectivement 5,65 et 4,35 meq O<sub>2</sub> /Kg d'huile, ces dernières sont inférieures à celles rapportées par **Atta (2003)** (10,7 et 13,5 meq O<sub>2</sub> /Kg d'huile).

### 3. Indice d'acide

D'après les résultats obtenus, l'acidité de l'huile de Nigelle, dépasse le seuil autorisé par les normes **CODEX STAN 210-1999** qui est de 0,6 et 4,0 mg KOH/g d'huile obtenue par

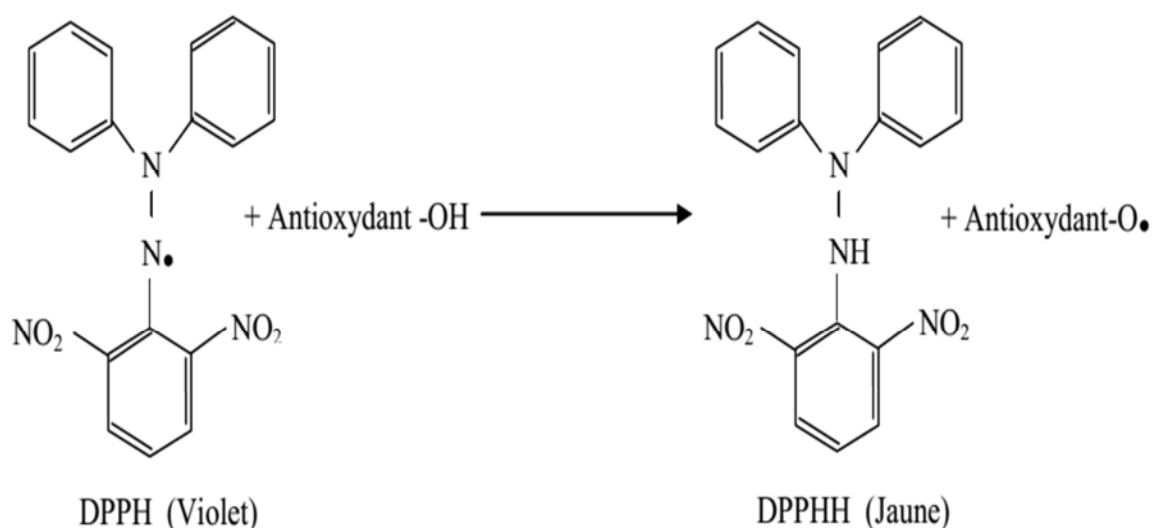
pression a froid. Ces valeurs sont de 4,958 mg/g pour l'huile NS et de 4, 283mg/g pour l'huile de ND, ce qui rend ces huiles impropres à la consommation.

Selon (Cheikh-Rouhou et al., 2007), les valeurs élevées de l'acidité et de l'indice de peroxyde des huiles pourraient être dues à une longue durée de conservation , ceci les rendent non comestibles .

## II.5. Activité antioxydante des l'extraits et huiles de Nigelle

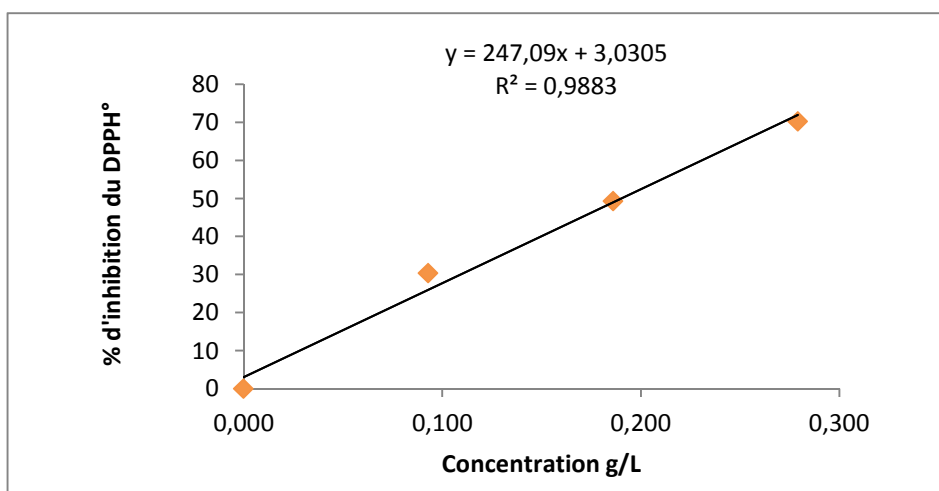
### 1. Test de DPPH°

L'activité antioxydante des extraits méthanoliques et les huiles de Nigelle, vis-à-vis du radical DPPH°, la réduction de ce radical s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH°) à la couleur jaune (DPPH-H) (Figure 20). Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances antiradicalaires (Majhenic L, 2007).



**Figure 20:** Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH°.

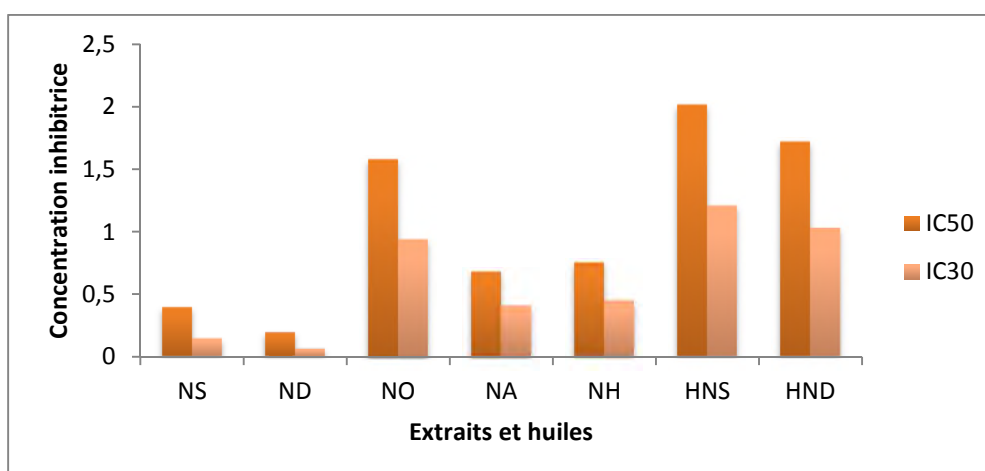
Les valeurs d'IC<sub>50</sub> (concentration inhibitrice à 50%) sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition = f (concentrations)] (figure 21).



**Figure 21:** Pourcentage d'inhibition du DPPH° en présence de l'extrait ND.

Une meilleure activité scavenger au radical DPPH° a été attribuée à l'extrait ND avec une  $IC_{50}$  de 0.190 g/l, suivi par celle de l'extrait NS avec un  $IC_{50}$  de 0.392 g/l après vient celle de l'extrait NA avec une  $IC_{50}$  de 0.683 g/l. Cependant, une faible activité antioxydante a été attribuée à l'extrait de NH avec une  $IC_{50}$  de 0.754 g/l suivi par celle de l'extrait de NO avec une  $IC_{50}$  de 1.178 g/l.

Concernant les huiles, leur activité antioxydante est faible par rapport à celle des extraits puisque elles présentent des  $IC_{50}$  de 1.723 g/l pour l'huile de ND et de 2.020 g/l pour l'huile de NS. Comparant l'activité antiradicalaire des deux huiles, celle de l'huile de ND est la plus importante par rapport à celle de NS (figure 22).



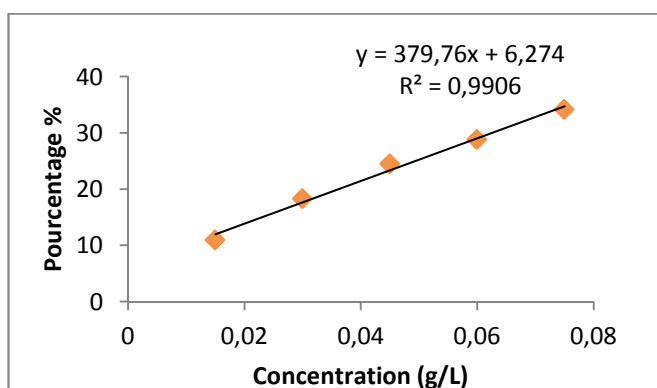
**Figure 22:** Inhibition du radical DPPH° par les extraits de NS, ND, NO, NA, NH et les huiles de NS et ND.

En effet, il a été démontré que les molécules antioxydantes telles que les polyphénols totaux, flavonoïdes et tannins réduisent et décolorent le DPPH° en raison de leur capacité à céder l'hydrogène (Pooter, 1986).

Les polyphénols contenus dans les extraits et huiles des graines de *Nigella* sont probablement responsables de l'activité antioxydante des extraits (Talbi *et al*, 2015).

## 2. Test d'ABTS

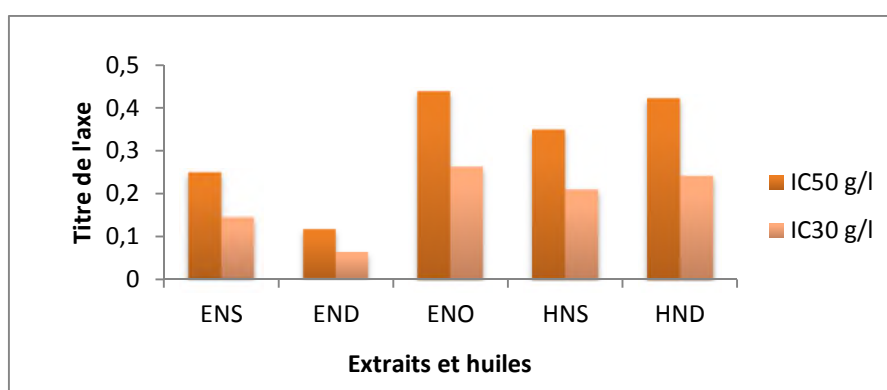
Comme le test de DPPH, les  $IC_{50}$  ont été calculées à partir des courbes représentantes des pourcentages d'inhibition du radical  $ABTS^{\cdot+}$  en fonction des concentrations en extraits et huiles (Figure 23).



**Figure 23:** Pourcentage d'inhibition de l'ABTS $^{\cdot+}$  en présence de l'extrait de ND.

Une meilleure activité antioxydante de l'ABTS $^{\cdot+}$  a été attribuée à l'extrait de ND avec une  $IC_{50}$  de 0,115 g/l suivi par celle de l'extrait de NS avec une  $IC_{50}$  de 0,250 g/l et l'extrait de NO avec une  $IC_{50}$  de 0,439 g/l.

Concernant les huiles, l'activité antioxydante la plus importante est marquée par celle de l'huile de NS avec une  $IC_{50}$  de 0,349 g/l alors que l' $IC_{50}$  de l'huile de ND est de 0,422 g/l. (Figure 24).



**Figure 24:** Inhibition du radical ABTS $^{\cdot+}$  par les extraits de NS, ND, NO et les huiles de NS et ND.

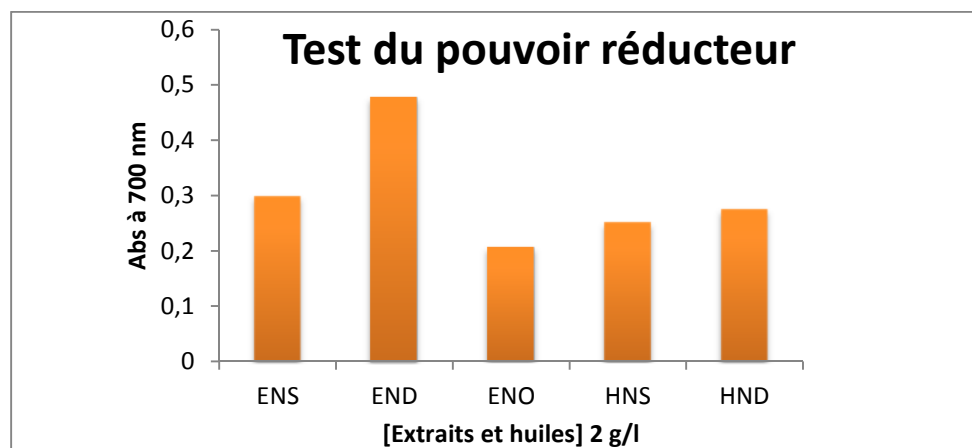
D'après les résultats obtenus, les extraits de ND et NS sont plus actifs que leurs huiles vis-à-vis du radical ABTS $^{\cdot+}$ .

### 3. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur est proportionnel à la couleur verte apparue qui est due au transfert du fer ferrique  $Fe^{+3}$  en fer ferreux  $Fe^{+2}$  en présence des différents extraits et huiles.

Selon (Bourgou *et al.*, 2008), l'augmentation de l'absorbance indique une augmentation du pouvoir réducteur. Le pouvoir réducteur est un aspect très important pour l'estimation de l'activité antioxydante (Ksouri *et al.*, 2008).

Les résultats obtenus sont représentés dans la figure 25.



**Figure 25:** Pouvoir réducteur des extraits NS, ND, NO et huiles de NS et ND.

D'après l'histogramme ci-dessus, l'activité réductrice de l'extrait de ND est plus importante que celle des extraits de NS et NO. Comparant entre les deux huiles étudiées, nous avons constaté que le pouvoir réducteur de l'huile de ND est légèrement supérieur par rapport à celui de NS.

### II.6. Activité antimicrobienne

Pour l'évaluation du potentiel antimicrobien de nos extraits et huiles, nous avons préféré de les tester contre plusieurs cibles, car chacune d'elles possède des structures cellulaires et un métabolisme particulier (Athamina, 2010 ; Djahra, 2014).

Le tableau (X) montre les résultats obtenus pour l'activité anti bactérienne :

**Tableau X:** Diamètre des zones d'inhibition des extraits et huiles de nigelle.

Souches Espèces	<i>E.coli</i>		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		<i>Staphylococcus aureus SARM</i>		<i>Staphylococcus aureus méthicilline sensible</i>	
	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>
<b>Extraits</b>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>
NS	-	-	-	-	15mm	-	14mm	-
ND	-	-	18mm	-	14mm	-	22mm	-
NO	-	-	-	-	10mm	-	12mm	-
<b>Huiles</b>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>
NS	-	-	22mm	-	14mm	-	15mm	-
ND	-	-	-	-	-	-	12mm	-

C<sub>1</sub>= 195 mg/ml et C<sub>2</sub>= 5 mg/ml pour les extraits et huile de NS, NO et ND

D'après les résultats obtenus, le pouvoir antibactérien est plus au moins important selon la nature de la souche (Gram positif et Gram négatif). Et comme nous montre le tableau X, les deux souches *E.coli* et *Pseudomonas aeruginosa* semblent être résistantes aux deux concentrations (C<sub>1</sub> et C<sub>2</sub>). Sauf dans le cas de la deuxième souche où il y a apparition d'une zone d'inhibition en présence de l'extrait de ND (voir annexe III), avec un diamètre de 18 mm contrairement en présence de son huile. Et dans le cas de l'huile de NS, un diamètre de 22 mm est apparu par contre son extrait ne présente aucune activité.

A partir des diamètres d'inhibition obtenus, nous avons constaté que nos extraits et huiles ne présentent pas une grande activité vis-à-vis des souches bactériennes à Gram négatif.

Et pour les souches *Staphylococcus aureus SARM* et *Staphylococcus aureus méthicilline*, semblent être sensibles à la concentration C<sub>1</sub> avec des zones d'inhibition comprises entre 10-22 mm, sauf l'huile de ND qui ne possède pas d'activité. Et résistantes vis-à-vis la deuxième concentration C<sub>2</sub>, où tout les extraits et huiles ne présentent aucune activité. De cela, la variabilité des résultats indique que nos extraits et huiles à une concentration élevée ont une activité par rapport aux souches Gram positif contrairement aux souches Gram négatif.

Concernant l'activité antifongique, le tableau(XI) illustre les résultats obtenus :

**Tableau XI:** Diamètre des zones d'inhibition des extraits et huiles de nigelle

Souches Espèces	<i>Asp. niger</i>		<i>Asp. flavus</i>		<i>Mucor rammanianus</i>		<i>Asp. ochraceus</i>		<i>Asp. Parasiticus</i>		
	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	
<b>Extraits</b>											
NS	-	-	16mm	-	17mm	-	-	-	-	17mm	-
ND	-	-	20mm	-	12mm	14mm	12mm	-	22mm	19mm	
NO	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<b>Huiles</b>											
NS	-	-	-	-	-	21mm	-	-	-	-	
ND	-	-	-	-	14mm	-	-	-	-	-	

L'activité antifongique a été évaluée à travers cinq souches fongiques, elles sont activées par repiquage sur gélose Muller-Hinton favorable à la croissance, pendant 24 heures à l'obscurité à 30°C.

Les résultats obtenus démontrent que les extraits et huiles n'ont aucune activité vis-à-vis *Aspergillus niger*. Contrairement aux autres souches où il y a des résultats variables compris entre 12 et 22 mm par rapport aux extraits (voir annexe III). Les huiles ne présentent aucune activité à l'exception du cas de *Mucor rammanianus*, qui lors de la mesure des zones d'inhibition, nous avons constaté que le DMSO possède une activité inhibitrice vis-à-vis cette souche, ce qui nous a poussé à conclure que cette souche est DMSO-sensible.

Concernant *Candida albicans*, nos résultats confirment l'inactivité de nos extraits et huiles vis-à-vis cette levure à l'exception de l'extrait de NS qui possède une activité avec un diamètre d'inhibition de 13 mm (voir annexe III). Le tableau suivant récapitule les résultats obtenus :

**Tableau XII:** Diamètre des zones d'inhibition des extraits et huiles de nigelle.

Extrait Et huile souche	<i>Extrait NS</i>		<i>Extrait ND</i>		<i>Extrait NO</i>		<i>Huile NS</i>		<i>Huile ND</i>	
	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>
<i>Candida albicans</i>	13mm	-	-	-	-	-	-	-	-	-



## II.7. Analyse par chromatographie phase gazeuse des huiles de NS et ND

Les résultats de l'analyse CPG obtenus sont illustrés dans la figure 26 et récapitulés dans le tableau ci-dessous :

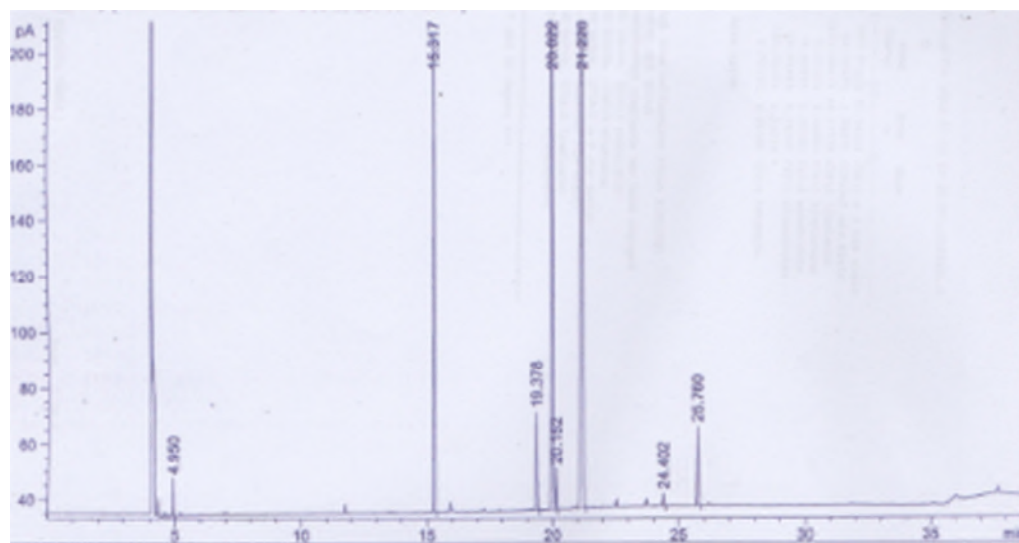


Figure 26 : Chromatogramme de l'huile de *Nigella sativa* L.

Tableau XIII : Composition en acides gras des huiles de *Nigella sativa* L. et *Nigella damascena* L.

Composition acide gras (%)	<i>Nigella sativa</i> L.	<i>Nigella damascena</i> L.	<i>Nigella sativa</i> L (Ramadan et Mörsel, 2003)
Acide palmitique	12,31	8,81	13,1
Acide stéarique	3	4,09	3,22
Acide oléique	23,34	22,58	23,9
Acide linoléique	56,87	25,03	57,01
Acide seicosénoïque	0,35	-	-

D'après les résultats obtenus, l'huile *Nigella sativa* L est très riche en acides gras insaturés (80,21 %) comparant aux acides gras saturés (15,66%).

La composition en acides gras de l'huile de NS est proche de celle obtenue par Ramadan et Mörsel (2003), voir (Tableau XIII). Elle est caractérisée par sa richesse en acide linoléique (56,87%), suivi de l'acide oléique (23,34%) et de l'acide palmitique (12,31%).

L'huile de ND est constituée de (47,61%) d'acides gras insaturés et (12,9%) d'acides gras saturés. La composition en acides gras est presque la même que celle de NS sauf les teneurs qui diffèrent. De point de vue quantitatif l'huile de NS est plus riche que celle de ND.

Les travaux de **D'Antuono et al. (2002)** montrent que les huiles essentielles des graines de *Nigella damascena* L. et *Nigella sativa* L. analysées par GC / MS diffèrent pour les deux

espèces: N D riche en sesquiterpènes, dont une grande proportion de  $\beta$ -élémane 3-méthoxy-N-méthyl anthranilate qui représentent l'arôme caractéristique de cette espèce. Alors que seuls les monoterpènes, y compris le p-cymène et thymoquinone ont été trouvés dans l'huile essentielle de NS.

# *Conclusion*

## Conclusion

Au cours de cette étude, nous avons effectué différentes analyses afin d'évaluer les teneurs en composés phénoliques : polyphénols totaux, flavonoïdes et tannins dans les extraits et caractérisation des huiles par différents tests (indice de saponification, indice de peroxyde et acidité) et la chromatographie à phase gazeuse (CPG), ajoutant l'activité antioxydante *in vitro* ainsi que l'activité antimicrobienne des extraits et huiles des graines des plantes médicinales : *N. sativa* L. (NS), *N. damascena* L. (ND), *N. orientalis* L.(NO), *N. arvensis* L.(NA) et *N. hispanica* L. (NH).

L'extraction des composés phénoliques par le méthanol 80% a permis d'obtenir des rendements d'extraction de 12.98%, 11.21%, 29.94%, 44.10%, et 34.19% pour NS, ND, NO, NA et NH respectivement.

La détermination quantitative des différentes catégories de composés phénoliques a montré que les graines de ND sont les plus riches en polyphénols totaux avec une teneur de 58.015 mg EA/g E et celles de NH les plus riches en flavonoïdes avec une teneur de 2.583 mg EQ/g E. Cependant, pour les tannins, la teneur la plus élevée est marquée par les graines de NO avec une teneur de 42.799 mg EAt/g E.

L'analyse par CPG des huiles fixes de *N. sativa* L. et *N. damascena* L., a montré que la composition en acides gras de ces huiles est presque identique, cependant leurs teneurs diffèrent. Les huiles de ces deux plantes sont riches en acides gras insaturés essentiellement l'acide linoléique et l'acide oléique.

Une meilleure activité antioxydante a été attribuée à l'extrait et huile de ND avec des IC<sub>50</sub> de 0.190 g/l et 1.723 g/l respectivement concernant le test DPPH. De même pour le test ABTS par rapport à l'extrait de ND avec un IC<sub>50</sub> de 0.0115 g/l, alors que l'huile de NS avait une meilleure activité vis-à-vis l'huile de ND avec un IC<sub>50</sub> de 0.349 g/l. Le pouvoir réducteur a révélé une absorbance maximale des extraits et huiles vis-à-vis ND, cela s'explique par la présence d'un taux élevé de réducteurs dans cette espèce.

En outre, les extraits méthanoliques de NS, ND, NO et huiles de NS et ND ont montré une activité antibactérienne relativement variable vis-à-vis deux souches à Gram positif *Staphylococcus aureus* SARM ET *Staphylococcus aureus* méthiciline sensible, alors que pour

les autres souche Gram négatif, ces extraits et huiles ne possèdent aucun effet antibactérien par rapport à *E. coli* et *Pseudomonas aeruginosa* sauf pour l'extrait de ND et l'huile de NS vis-à-vis la deuxième souche.

De même pour l'activité antifongique, les extraits et huiles possèdent une activité variable vis-à-vis les souches testées, tandis que pour *Candida albicans*, seulement l'extrait de NS présente une activité vis-à-vis cette levure.

Afin de compléter ce présent travail, il serait intéressant :

De caractériser les composés phénoliques des extraits des graines de NS, ND, NO, NA et NH en utilisant des techniques plus précises (HPLC, RMN,...).

D'étaler l'étude sur d'autres organes des plantes de nigelle, afin de déterminer la partie la plus riche en composés phénoliques.

D'élargir l'étude antimicrobienne par rapport aux souches microbiennes pathogènes vis-à-vis les espèces étudiées.

D'étudier d'autres activités biologiques telles que l'activité anti-inflammatoire, antidiabétique, anticancérogène,...etc.

*Références  
bibliographiques*



**Amarck L. 1816.** Encyclopédie méthodique : Botanique. Volume 4. Institut national de France. 489p

**Anonyme 2004.** International plant Names index, Available [online] from:

<http://WWW.ipni.org> [accessed 18 january 2006].

**Athamena S., Chalghem I., Kassah-Laouar A., Laroui S., et Khebri S. 2010.** Activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminum cyminum* L. Lebanese Science Journal, Vol. 11, No. 1,

**Atta MB. 2003.** Some characteristics of nigella (*Nigella sativa* L.) seed cultivated in Egypte and its lipid profile. Food chemistry 83 : 63-68.



**Benazzouz L. (2005).** Etude des interactions proteines-polyphénols. Etude de cas : extrait de *Nigella sativa* L. avec la proteine Sérum Albumine Bovine. Thèse magistère en BiochimieBiophysique Moléculaire, option: Techniques d'investigation Biophysique. Université Aberahmane Mira de Béjaia (Algérie) 83p.

**BERT .2008 .**La journée annuelle technico-économique des plantes à parfum, aromatiques et médicinales dans le Puy de Dôme.

**Bessas A. 2008.** Dosage biochimique des polyphénols dans les dattes et le miel récoltés dans le sud algérien. Université Djillali Liabes -Sidi Bel Abbes-. Faculté des sciences. Département de biologie.

**Blois M.S. 1958.** Antioxydant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 181:1199-1200.

**Bonnier G. ; Douin R. 1993.**La grande flore en couleur. tome 3 ; Ed Belin, Paris.

**Bonnier, G. 1990** La grande flore en couleur. Ed Belin, Paris. Tome 1. pp: 17.

**Bourgou S., Ksouri r., Bellila A., Skandrani I., Falleh H., Marzouk B., 2008.** Phenolic composition and biological activities of Tunisian *Nigella sativa* L. shoots and roots. Comptes rendus Biologies. 331 : 48.

*C*

**Cheikh-Rouhou S., Besbes S., Hentati B., Blecker C., Deroanne C. et Attia H. 2007.** *Nigella sativa* L.: Chemical composition and physicochemical characteristics of lipid fraction. *Food Chemistry*. 101: 673–681.

**Coste L'Abbé H. 1985.** Flore descriptive et illustrée de la France, de la Corse et des contrées limitrophes. Tome 1, Librairies Scientifiques et Techniques Albert Blanchard, Paris.

*D*

**DJAHRA Ali Boutlelis (2014).** Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydants, antihépatotoxique du marrube blanc ou *Mrrubium vulgare* L. Thèse de doctorat de biologie végétale. Université Badji mokhtar-ANNABA.Algérie, 15p.

**Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P. et Vidal N. 2006.** Antioxidants activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*. 97: 654-660.

*E*

**Ennadir J., Hassikou R., Bouazza F., Arahou M., Al Askari G. et Khedid K. 2014.** Evaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne des extraits aqueux et organiques des graines de *Nigella sativa* L. et de *Foeniculum vulgar* Mill. *Phytothérapie* 12 : 302-308.

*F*

**Fillipo D'Antuono L., Alessondro Moretti, Antonio F.S. Lovato 2002.** Seed yield, yield components, oil content and essential oil content and composition of *Nigella sativa* L. and *Nigella damascena* L. *Industrial corps and products*. 15 : 59-69.

**Fournier P. 2001.** Les quatres flores de France. Ed Dunod, Paris.

*G*

**Ghedira K. 2006.** La Nigelle Cultivée : *Nigella sativa* L. (Ranunculaceae). *Phytothérapie* 5 : 220-226.

**Ghedira K. et Le Jeune R. 2010.** Huile de nigelle cultivée, *Nigella sativa* L. (Ranunculaceae). *Phytothérapie* 8 :124-128.

**Greenish H. 1880.** Contribution of the chemistry of *Nigella sativa* (Vol.10). *Parmac J Trans*.



*H*

**Hambaba L., Boudjellal K., abdeddaim M., Aberkane M.C., Boudiaf K. 2012.** Etude *in vitro* des activités anantimicrobienne et antioxydante des extraits du fruits d'*Elaeagnus angustifolia* L. *Phytothérapie* 10 :350-356.

**Hegerman, A.E. ; et Butler , L. G. 1978.** Protein precipitation method for quantitative determination of tannins. *Journal of Agreculture and food chemestriy*, 26 : 809-812.

**Hegi G. 1975.** *Illustrierte Flora Von Mitteleuropa*, Volume III/3, 2<sup>nd</sup> Ed, Parey, Berlin.

**Hess, H.E., Landolt E. et Hirzel R. 1976-1980.** *Flora der Schweiz und angrenzender Gebiete*. 3 vols, 2690 pp. 2. Ed., Birkhäuser Verlag, Basel.

*I*

**Iserin P. 2001.** *Encyclopedia of Médicinal Plants*. 2<sup>nd</sup>Ed. *Dorling Kindersiey Limited*. P. 239.

*J*

**Jansen PCM. 1999.** Minor essential-oil plants. In: Oyen LPA, Nguyen Xuan Dung (Eds.), *plant resources of south-east Asia*, No. 19, essential-oil plants, Bakuys Publishers, Leiden, pp.173-184.

*Journal Officiel de la République Algérienne Démocratique et Populaire (J, O, R, A, D et P).*, 2011.

*K*

**Kokoska L. 2011.** *Chemistry and Biological Activity of Nigella Genus : The antimicrobial and anti-inflammatory effects of seed extracts, essential oils and compounds of six Nigella spicies*. Edition : LAP LAMBERT Academic publishing GmbH & Co.KG. U.S.A. pp 1.

**Ksouri, R., Megdiche, W., Falleh, H., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Smaoui, A., Abdelly, C., 2008.** Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. *Compte Rendues de Biologies*. 331 :865–873.

*M*

**Majhenic L., Kerget M.S., et Knez Z., 2007.** Antioxydant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. *Food chemistry*. 104: 1258-1268.

**Meziti A. ( 2009).** *Activité antioxydante des extraits des graines de Nigella sativa L. Etude in vitro et in vivo*. Thèse de magistere. Département des sciences biologique. Université de El-Haj lekhder (Batna) Algérie 15-20p.

N

**Nergiz C., Otlis S. 1993.** Chemical composition of nigella (*Nigella sativa* L) seed cultivated in Egypt and its lipid profile. *Food Chemistry*. 83: 63-68.

**Nergiz C., Ünal K. 1991.** Effect of the method of extraction on the total polyphenol and 1,2-diphenol content and stability of virgin olive oil. *J. Sci. food agric.* 56: 79-84.

O

**Orsi-Llinares Fabienne 2005.** La nigelle, une épice d'intérêt médicinal. Thèse de doctorat en pharmacie. Université Joseph Fourier. Faculté de pharmacie de Grenoble, France 4-12p.

**Owen P.L. And Johns T. 1999.** Xanthine oxidase inhibitory of northea stern north American plant remedies used for gout. *Journal of Ethnopharmacology*, 64: 149-160.

**Oyaizu M. 1986.** Studies on products of the browning reaction prepared from glucose amine. *Japanese Journal of Nutrition*. 44:307-315.

**Ozenda P. 2000** les végétaux : organisation et diversité biologique, 2<sup>e</sup> édition Dunod, Paris.

P

**Pooter De H.L. et Schamp N., 1986.** Comparaison of the volatils composition of some Calamintha satureja species. In : Progress in essential oil research. Ed. E-J. Brunk, Walter De Gruyter, Berlin. 139-150p.

R

**Ramadan, M. F., Mörsel, J. T. 2003.** Analysis of glycolipids from black cumin (*Nigella sativa* L.), coriander (*Coriandrum sativum* L.) and niger (*Guizotia abyssinica* Cass.) oilseeds. *Food Chemistry*, **80**: 197-204.

**Re R., Pellegrini N., Rroteggente A., Pannala A., Yang M., et Riz-Rice-Evans C., 1999.**"activité antioxydante appliquant une analyse améliorée de décoloration de cation radical d'ABTS", *radical libre bio. Med.*, 26, 123 1-37.

**Riberau-Gayon P.(1968).** Propriétés chimique des phénols. In « les composés phénoliques des végétaux ». Ed Dunod, Paris.

*S*

**Sanchez-moreno, C. 2002.** Methode used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *International Journal of Food Science and Technologie*.8:121-137.

**Scehovic J 1990.** Tannins et autres polymères phénoliques dans les plantes de prairies : détermination de leur teneur et de leur activité biologique. *Revue Suisse agric.* 22(3) :179-184.

**Singleton V.L. et Rossi J.A.J. 1965.** Colorimetry of total phenolics with phosphom  
Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventós R.M., 1999. *Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent.* Methods in Enzymology. Orlando Academic Press: 152-178.  
olybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 16: 144-158.

**Sorvig K. 1981.** The genus *Nigella*. *The plantsman* 4, 229-235.

**Suhaj, M. 2006.** Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: a review. *Journal of Food Composition and Analysis* 19: 531-537.

*T*

**Takruri HRH, Dameh MAF 1998.** Study of the nutritional value of black cumin seeds (*Nigella sativa* L.) *Journal of the Science of Food and Agriculture* 76, 404-401.

**Talbi H, Boumaza A, El-mostafa K, Talbi J, Hilali A. 2015.** Evaluation de l'activité antioxydante et la compositions physico-chimique des extraits méthanoliques et aqueux de la *Nigella sativa* L. *Mater. Environ. Sci.* 6 (4): 1111-1117.

**Tuter M., Secundo F., Riva S., Aksoy A. et Ustun G. 2003.** Investigation of substrate selectivity of *Nigella sativa* L.seed lipase(s). *J.Am. Oil chem. Soc.*80:43-48.

*V*

**Voidarou C., Alexopoulos A., Plessas S., Karapanou A., Mantzouani I., Stavroupoulou E., Fotou K., Tzora A., Skoufos I., Bzirtzoglou E. 2011.** Antibacterial activity of different honeys against pathogenic bacteria. *Journal Hompage* 17: 375-379.

*Z*

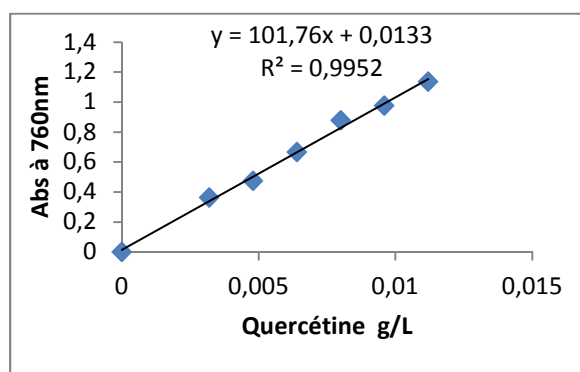
**Zohary M. 1983.** The genus *Nigella* (Ranunculaceae) – a taxonomic revision. *Plant Systematic and Evolution* 142, 71-107.

# *Annexes*

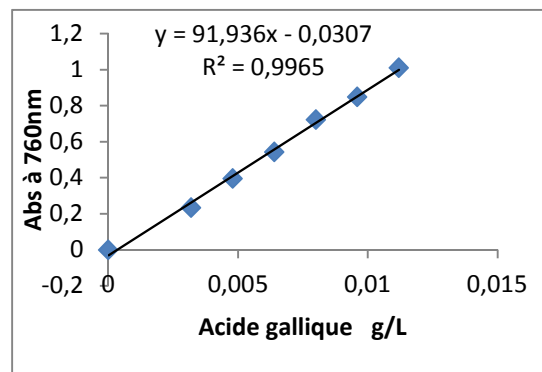
## Annexe I : matériel et réactifs

Matériel	Réactifs
Bain-marie (memmert)	Acide gallique (Biochem Chemopharma, Quebec)
Balance de précision	Acide tannique (sigma)
Balance	Acide Triéthanol amine TEA
Boîtes de Petrie (China)	Acide tricoloacétique (TCA) (Biochem Chemopharma)
Broyeur	Chlorure d'aluminium AlCl <sub>3</sub> (Biochem chemopharma USA)
Centrifugeuse (nuve NF 200)	Chlorure ferrique (FeCl <sub>3</sub> )
Cuve en verre	Chlorure de sodium (NaCl)
Ecouvillons	Chlorure d'hydrogène (HCl)
Entonnoir	DMSO (diméthyle sulfoxyde)
Etuve ventilée (Memmert)	DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl) (SIGMA-ALDRICH, Germany)
papier whatman	Ferrocyanure de potassium
PH mètre (WTWPH 422)	Folin ciocalteu (BIOCHEM Chemopharma, France)
Pipettes pasteur	Méthanol à 80% (GPR RECTAPUR, France)
Spectrophotomètre (UV-9200)	Quercétine (Riedel de Haen, Germany)
Tubes a essaie	Phosphate diosodique (Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )
Tamis	Phosphate monosodique (NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )
Vortex (VELP)	Hydroxyde de sodium (NaOH)
	Sodium dodesyl sulfates (SDS)
	Serum aluminum Bovine (BSA) (Biochem Chemopharma)

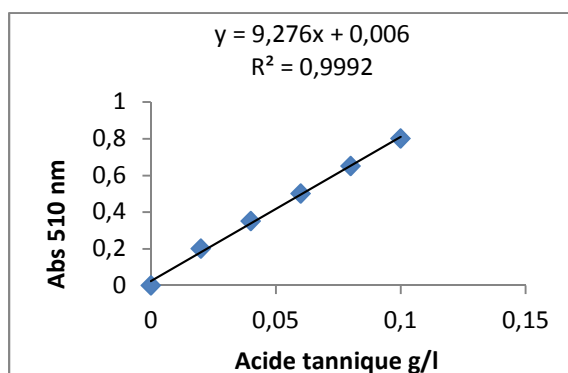
## Annexe II : courbes d'étalonnage.



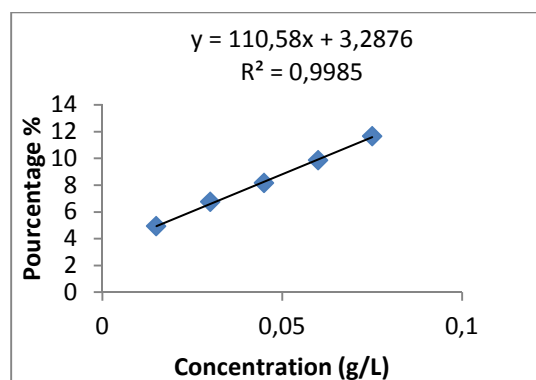
a. courbe d'étalonnage Quercétine.



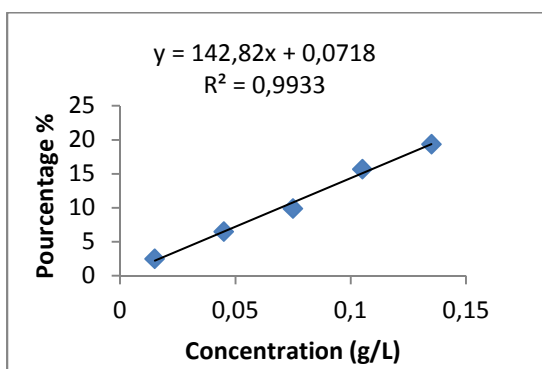
b. courbe d'étalonnage Acide gallique.



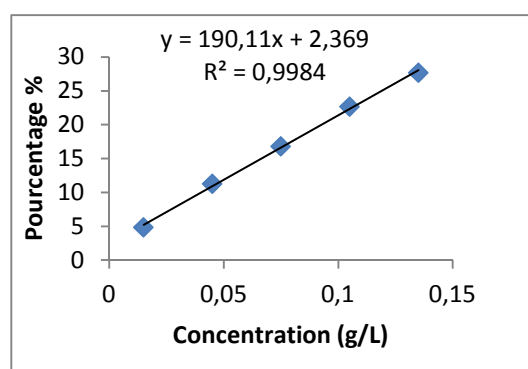
c. courbe d'étalonnage des tannins.



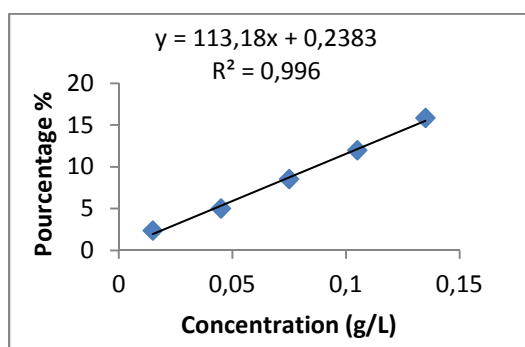
d. Cinétique du % d'inhibition de l'ABTS  
HND.



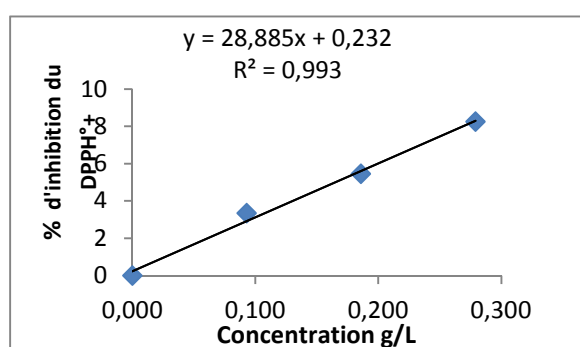
e. Cinétique du % d'inhibition de l'ABTS  
de HNS.



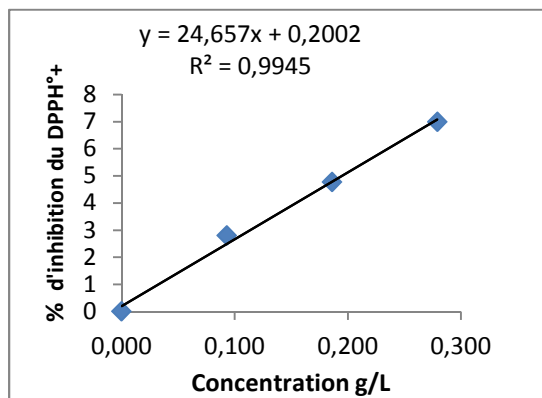
f. Cinétique du % d'inhibition de l'ABTS  
de NS.



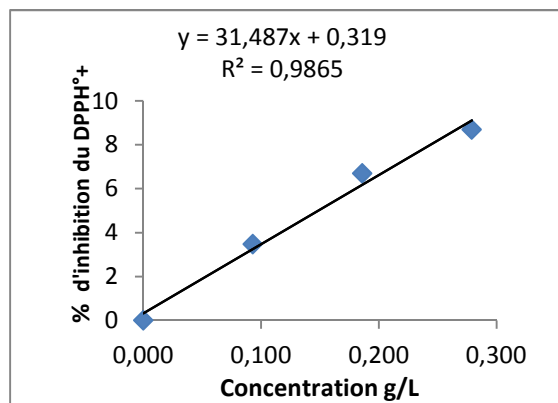
g. Cinétique du % d'inhibition de  
l'ABTS de NO.



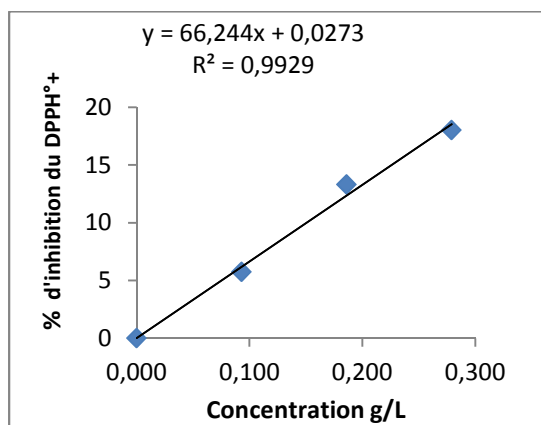
h. Cinétique du % d'inhibition du DPPH de  
HND.



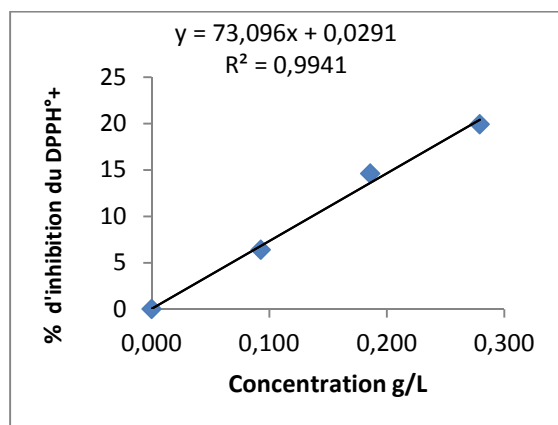
**i. Cinétique du % d'inhibition du DPPH de HNS.**



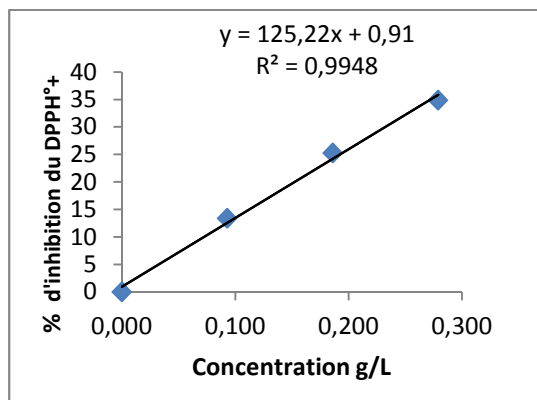
**j. Cinétique du % d'inhibition du DPPH de NO.**



**k. Cinétique du % d'inhibition du DPPH de NH.**



**l. Cinétique du % d'inhibition du DPPH de NA.**



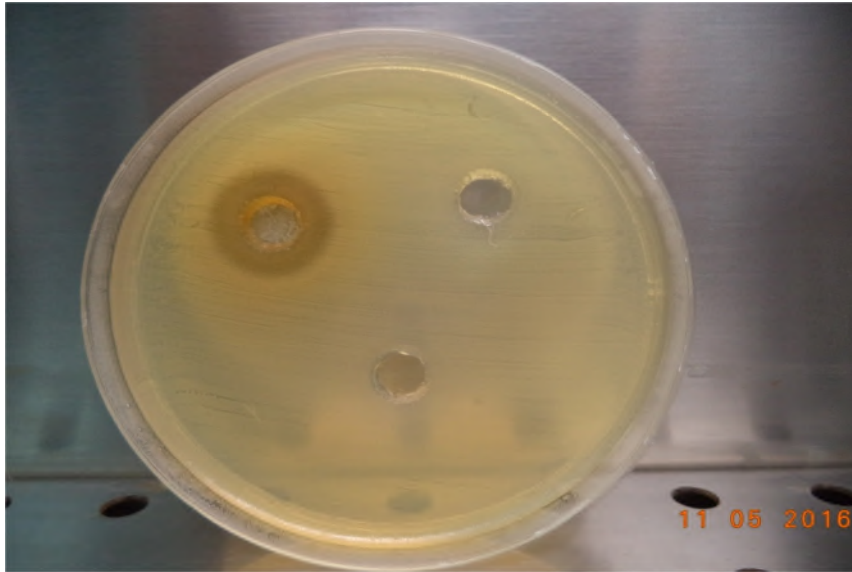
**m. Cinétique du % d'inhibition du DPPH de NS.**

### **Annexe III : milieux de culture**

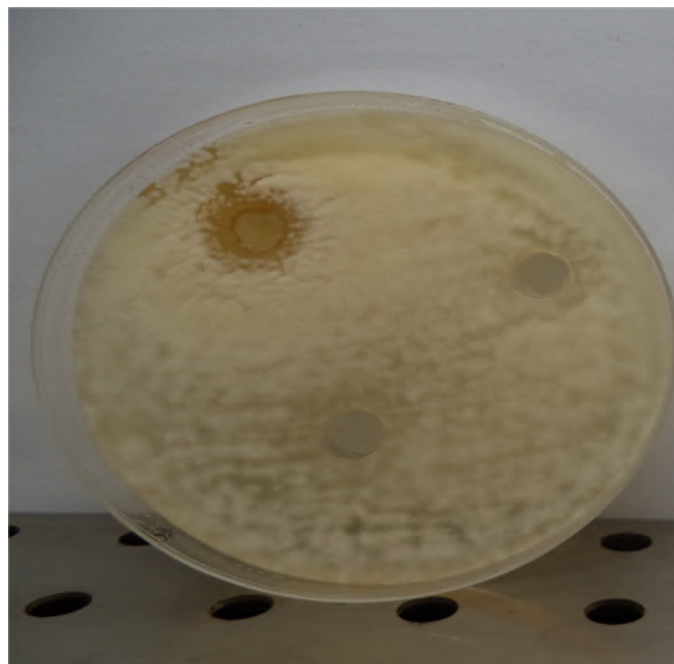
Milieu de culture Muller Hinton (38 g de la poudre de Muller Hinton dans un litre d'eau distillée).

Bouillon nutritif (4g de la poudre du bouillon nutritif dans 200 ml d'eau distillée avec un pH de  $7,2\pm 0,2$ ).

Eau physiologique (2,25g de NaCl dans 250 ml d'eau distillée).

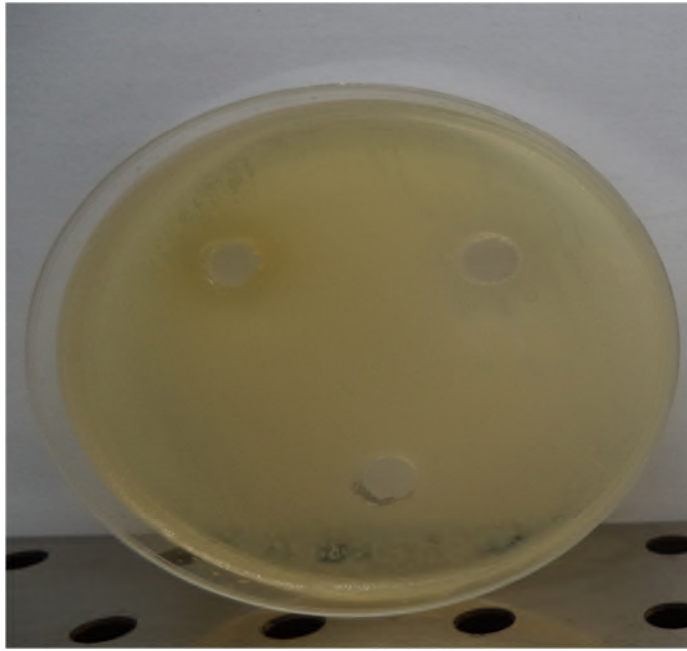


**Figure 1:** L'activité antibactérienne de END vis-à-vis la souche *Pseudomonas aeruginosa*.



**Figure 2 :** L'activité antifongique de END vis-à-vis la souche *Aspergillus flavus*.





**Figure 3 :** L'activité des échantillons n'est marqué qu'avec l'extrait de NS vis-à-vis *Candida albicans*

## Résumé

Ce travail est effectué dans le but d'évaluer l'activité antioxydante des composés phénoliques contenus dans les extraits et huiles des différentes espèces de nigelle qui présentent des rendements d'extraction relativement variables NS=12,98%, ND=11,21%, NO=29,94%, NA=44,10% et NH= 34,19%. A l'issu des différents dosages effectués, les résultats obtenus indiquent que la teneur en polyphénols totaux est plus importante pour l'extrait de ND (58,015mg EAG/g E), tandis qu'en flavonoïdes la teneur la plus élevée est marquée par l'extrait de NH (2,583mg EQ/gE) et pour les tannins l'extrait de NO présente la meilleure teneur (42,799mg EAt/g E). Pour l'activité antioxydante, les trois tests réalisés (DPPH, ABTS et pouvoir réducteur) ont montré que l'extrait de ND présente la meilleure activité antiradicalaire. Concernant les huiles de *N. sativa* L. et *N. damascena* L., leur analyse par CPG a montré qu'elles sont presque identiques et riches en acides gras insaturés. L'étude de l'activité antimicrobienne a révélé une inhibition variable vis-à-vis les bactéries et moisissures et totalement négative dans le cas des levures sauf pour l'extrait de NS.

**Mots-clés :** *Nigella*/ Extrait/ Huile/ Polyphénols/ Activité antioxydante/ Activité antimicrobienne/ CPG.

## Abstract

This work is done in order to evaluate the antioxidant activity of phenolic compounds contained in extracts and oils of different species of *Nigella* with relatively variable extraction yields NS = 12.98%, ND = 11.21% , NO = 29.94%, 44.10% and NA = NH = 34.19%. At the end of the different assays performed, the results indicate that the total polyphenol content is more important to extract ND (EAG 58,015mg/g E), while the highest flavonoid content is marked by extract NH (2,583mg EQ/g E) and tannins for the NO extract has the best content (42,799mg Eat/g E). For the antioxidant activity, the three performed tests (DPPH, ABTS and reducing power) showed that the extract of ND has the best anti-radical activity. Concernat oils of *N. sativa* and *N. damascena*, their GC analysis showed that they are almost identical and rich in insaturated fatty acids. The study of the antimicrobial activity revealed a variable inhibition against the bacteria and molds and completely negative in the case of yeasts except for the extract of NS.

**Keywords:** *Nigella*/ Extract / Oil / Polyphenols / Antioxidant activity / Antimicrobial activity/ CPG.

