



République Algérienne Démocratique Et Populaire
Ministère D'enseignement Supérieure Et De La Recherche Scientifique
Université Ammar Thelidji –Laghouat



Faculté : Technologies

Département : Génie de procédés

Mémoire de Master

➤ Présenté par : **Madoun Ouissal**

DOMAINE : science et technologie

FILIERE : Génie de procédés

OPTION : Génie pharmaceutique

Thème :

**Etude Phytochimique Des Grains
De Nigella Sativa**

Jury de soutenance

Nom Et Prénom	Grade	Qualité
Merigui Khaled	MCA	Président
Abdelmouiz AHMED	MCB	Examineur
Mechraoui Omar	MCA	Rapporteur
Guenane wissam	Doctorante	

2024/2025

Remercîment

Après avoir rendu grâce à Dieu le Tout-Puissant et le Miséricordieux, nous tenons à remercier vivement tous ceux qui, de près ou de loin, ont participé à la rédaction de ce document.

Il s'agit plus particulièrement de : **Dr MACHRAOUI OMAR**, doctorat à l'université Ammar Téliidji de Laghouat, pour sa disponibilité et surtout Doctorante **GUENAN WISSAM**, sa rigueur scientifique et son sens d'écoute et d'échange.

Tout le corps professoral qui nous a fait bénéficier d'une formation pluridisciplinaire de très haut niveau et très adaptée aux réalités du génie pharmaceutique.

Également, je remercie tous les ingénieurs de Laboratoires pour m'aider et trouver tout le matériel utilisé pour la pratique
De cette mémoire.

Winner Wissal



Dédicace

Je dédie cet ouvrage

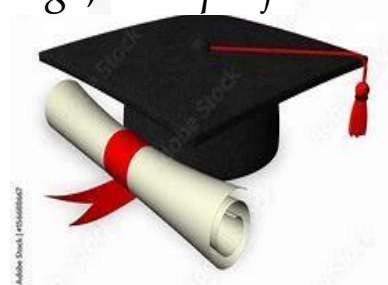
*À ma maman et mon père qui m'ont soutenu et encouragé
durant ces années d'études.*

*Qu'elle trouve ici le témoignage de ma profonde
reconnaissance.*

*À mes frères, mes grands-parents et ceux qui ont partagé avec
moi tous les moments d'émotion lors de la réalisation de ce
travail. Ils m'ont chaleureusement supporté et encouragé tout
au long de mon parcours.*

*À ma famille, mes proches et à ceux qui me donnent de
l'amour et de la vivacité.*

*À tous mes amis qui m'ont toujours encouragé, et à qui je
souhaite plus de succès.
À tous ceux que j'aime.*



Tableaux des matières

Tableaux des Matières

Remerciement	
Dédicace	
Tableaux des matières	
Liste des Tableaux et Figures	
Introduction	01
Chapitre I : Aperçu Botanique de La Nigelle Sativa L	
1. Étymologie	05
2. Description botanique de la Nigella sativa	13
3. Culture de Nigella sativa L	14
4. Composition chimique de la plante	15
5. Lipides et stérols	20
Chapitre II : les lipides et les Composés Phénoliques	
1. Les Lipides	23
2. Propriétés Physico-Chimique des Lipides	27
3. Biosynthèse des Composés Phénoliques	28
4. Principales Classes des Composés Phénoliques	29
5. Activité Antioxydante	44
6. Activité Antibactérienne	51
Chapitre III : Matériels et Equipements	
1. Matériels et Equipements	56
2. Extraction des Polyphénols	63
3. Dosage des Composés Phénoliques	64
4. Activité Anti-Oxydante	66
5. Test antibactérie	68
Chapitre IV : Résultats et Discussion	
1. Résultats de L'analyse Quantitative	72
2. Résultats de L'étude du Pouvoir Antioxydant	76
3. Résultats et Discussion de L'étude de L'activité Antibactérienne...	80
Conclusion	84-85
Référence Bibliographie	
Annexe	
Résumé	

LISTE DES TABLEAUX

Liste des Tableaux :

Numéro	Table	Page
01	Différentes espèces et variétés de <i>Nigella</i> L. et leur distribution géographique	12
02	Composition des graines de <i>Nigella sativa</i>	15
03	Principaux acides hydroxybenzoïques	29
04	Principaux acides hydroxycinnamiques	30
05	Principaux types de coumarines	31
06	Principales classes des flavonoïdes	33
07	Distribution alimentaire des principales classes de flavonoïdes	35
08	La teneur en huile des échantillons des grains de la <i>Nigella sativa</i>	72
09	Caractérisation physico-chimique des huiles de la <i>Nigella sativa</i>	72
10	Quantité en phénols totaux des différents extraits	74
11	Quantité en flavonoïdes de différents extraits	75
12	Les valeurs des paramètres EC50 et ARP des extraits par test DPPH.	77
13	Les valeurs de VEAC	80
14	Activité antibactérienne des extraits phénoliques et les huiles fixes de <i>Nigella sativa</i> . Les chiffres indiquent les diamètres d'inhibition par mm.	80

Liste des Figures :

Numéro	Figure	Page
01	Dessin représentant la plante entière et ses annexes	10
02	Diagramme floral <i>Nigella</i>	10
03	<i>Nigella sativa</i> L.	14
04	Structure des saponosides à hédéragénine isolés à partir des graines de <i>Nigella sativa</i>	17
05	Structure chimique des trois flavonoïdes isolés de <i>Nigella sativa</i> L.	18
06	Structure chimique des principaux alcaloïdes de <i>N. Sativa</i> L.	19
07	Principaux Constituants des Lipides	23
08	La voie de phénylpropanoïde	28
09	Piégeage des espèces réactives dérivées de l'oxygène (R•)	37
10	Principaux sites impliqués dans la chélation des ions métalliques (Me ⁺ _n)	38
11	Principaux compartiments impliqués dans le métabolisme des flavonoïdes	43
12	Structure des composés à action vitaminique E (tocophérols)	48
13	. Structure des principaux caroténoïdes	49
14	Stabilisation de radicaux par l'hydroxytyrosol	50
15	Vue de la bactérie <i>Klebsiella pneumoniae</i> au microscope électronique	52
16	Vue de la bactérie <i>Staphylococcus aureus</i> au microscope électronique	53
17	Vue de la bactérie <i>Pseudomonas</i>	53
18	Montage d'extraction à chaud (solide –liquide) des lipides	57
19	Réaction de transestérification d'une huile végétale	59
20	Réaction de saponification d'acide gras.	60
21	Présentation de la lecture de l'indice de réfraction	61
22	Protocole expérimental de la méthode de l'aromatogramme	70
23	Chromatogramme des EMAG d'huile d'olive	73
24	Chromatogramme des EMAG des huiles des grains de la <i>Nigella sativa</i>	73
25	Comparaison entre les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes des extraits phénoliques de graines de la <i>Nigella sativa</i> .	75
26	Courbe DPPH des extraits polyphénols.	76
27	Classement croissant des extraits phénoliques selon leur EC50	78
28	Classement décroissant des extraits phénoliques selon leur ARP.	78
29	Courbe représentant l'activité antioxydante des extraits phénoliques système solvant méthanol/eau 80/20	79
30	Courbe représentant l'activité antioxydante des extraits phénoliques système solvant méthanol/eau 70/30.	79
31	Test antibiogramme avec les souches bactériennes <i>E. coli</i> .	81
32	Test antibiogramme avec les souches bactériennes <i>Staphylococcus aureus</i>	81
33	Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibition <i>Nigella sativa</i>	82

Introduction

Introduction

Introduction:

De nombreuses recherches ont mis en évidence le rôle des phénomènes oxydatifs dans l'initiation de maladies aussi différentes que l'artériosclérose, les problèmes inflammatoires, cardiaques, pulmonaires, les cancers, le processus de vieillissement. De telles maladies apparaissent lorsque les mécanismes de défense contre les radicaux libres, dont dispose l'organisme, sont submergés. Il est donc nécessaire, à ce moment là, d'aider le corps à lutter contre ces agressions.

L'usage des grains ou des plantes pour leurs vertus curatives s'est crée, répondu et transmis dans la plus ancienne civilisation connue. Il s'agit d'une des manifestations d'effort immémorial de l'homme pour comprendre et utiliser la nature, répondant ainsi à une de ses plus anciennes inquiétudes, celle qui naît de la maladie et la souffrance.

Le consommateur cherche une alimentation saine et naturelle et préfère les aliments ne contenant pas d'additifs de synthèse. Les extraits végétaux qui présentent un pouvoir antioxydant intéressant sont pour la plupart riche en polyphénols, or ces substances ont une activité contre les radicaux libres, qui s'exprime aussi bien au niveau de la protection d'un aliment contre l'oxydation qu'au niveau de la protection des cellules animales contre le vieillissement et le cancer.

Nigella sativa est une plante recommandée dans la thérapie arabo-musulmane est spécialement durant l'époque du prophète Mohamed «Sala Allah alliahi oua selem».

El habbah sauda est un médicament pour toutes les maladies sauf la mort », ces paroles sont restées pour longtemps un mystère pour la science jusqu'à l'arrivée des techniques modernes qui ont réussi à prouver les vertus thérapeutiques des grains de cette plante. Elle est l'une des plantes médicinales la plus utilisée à travers le monde. La graine de *N. sativa* est aussi bien utilisée traditionnellement dans l'alimentation que comme « médicament ». Dans le thé, le café, les graines servent d'aromatisant ; elles entrent dans la composition du pain, et servent aussi d'agent de conservation. La graine broyée est mélangée au miel, ou bien on s'en sert pour saupoudrer les salades. En plus des utilisations comme épice ou aromate, des propriétés bénéfiques sur le système gastro-entéro-hépatique sont revendiquées. Les graines, mélangées à une préparation à base de yaourt

Introduction

rt, se sont avérées être efficaces dans les nausées, les pertes d'appétit, dans les œdèmes et maladies liées au post-partum. En combinaison avec d'autres produits, les graines sont utilisées pour traiter l'obésité, l'asthme et pour prévenir des calculs biliaires. La plante est considérée comme médicament des troubles digestifs et hépatiques, elle est également indiquée dans les céphalées chroniques et les migraines. En dermatologie, la graine traite l'alopécie, l'eczéma et l'acné ; par ailleurs on lui reconnaît des propriétés anthelminthiques et anti-infectieuses.

De nombreuses recherches sur la phytochimie et la bio-activité de *N. sativa* ont confirmé ces propriétés qui sont dues en majorité aux huiles fixes et aux polyphénols extraites.

L'huile fixe des graines de nigelle a de nombreuses propriétés pharmacologiques et peut être considérée comme agent antioxydant, anti-inflammatoire, immunomodulateur, antitumoral, antidiabétique et elle joue un rôle non négligeable dans les systèmes cardio-vasculaire et gastro-intestinal

Durant ces vingt dernières années, de nombreuses équipes de chercheurs se sont intéressées à *Nigella sativa*. La plupart des indications revendiquées en médecine traditionnelle ont été confirmées et d'autres propriétés sont venues se greffer.

Dans ce contexte, l'objectif principale de cette thèse est d'étudier les huiles fixes des graines de la *Nigelle Sativa* Là travers la détermination des compositions chimiques en acides gras, en Stérols, en tocophérols et polyphénols, en utilisant des techniques analytiques ,comme HPLC et la CPG .par la suite nous avons étudier l'influence de la température de rôtissage sur la composition des huiles de la nigelle sativa et sur leurs propriétés antioxydante et antibactérienne

Chapitre I :

Aperçu Botanique de La Nigelle Sativa L

PRÉSENTATION

1. Étymologie

Le genre *Nigella* L. a été nommé d'après les graines noires caractéristiques retrouvées dans la plupart des espèces de *Nigella*. Le terme Latin « *nigellus* » est le diminutif de « *niger* », qui signifie noir. Les grecs nommaient *Nigella sativa* « μελάνθιον » melanthion, de « melas » qui veut dire noir et « anthos » fleur, donc l'étymologie tire du même attribut. L'espèce *N. damascena* tire son nom de la capitale Syrienne en référence à son origine géographique. Pour les autres espèces, il a été tenu compte de leur utilisation (*N. sativa*), notamment comme condiment, ou bien de leur morphologie. *Nigella sativa* est connue sous d'autres noms en France comme, le cumin noir, le faux cumin, la poivrete, le sésame noir, la nielle, les cheveux de Vénus ou encore la nigelle. La multitude de noms commerciaux fait référence aux appellations internationales, on peut retrouver la nigelle sous le nom de *kalonji* dans les épiceries indiennes. Le nom *çörek otu*, qui veut dire littéralement « l'herbe à pain », fait référence à son utilisation traditionnelle en Turquie. En kurde, *reşreşik* fait référence à la couleur noire de la graine, tout comme l'appellation en anglais *black seed* ou *schwarzkümmel* en allemand. En arabe, on connaît la nigelle sous le nom de *habba sawda*. On retrouve donc *Nigella sativa* sous ces différentes Dénominations dans le commerce.

1.1 La *Nigella sativa* et l'histoire de son usage traditionnel

L'usage des plantes à des fins thérapeutiques remonte à des temps très anciens. Des fossiles du début du Crétacé (-250 millions d'années) prouvent l'existence des nigelles à la fin de l'Ère secondaire. Tout d'abord la civilisation sumérienne, première civilisation véritablement « urbaine » ayant marqué la fin de la préhistoire au Moyen-Orient, serait à l'origine de l'utilisation des plantes comme sources de « médicaments ». Les Sumériens étaient établis dans la région de la Mésopotamie de part et d'autre du Tigre et de l'Euphrate, lieux propices au développement agricole. Un recueil, sous forme de tablettes d'argile, contenant des formules végétales gravées en caractères cunéiformes et datant de 5000 ans, a été découvert à Nippur (ancienne ville mésopotamienne) en 1948. Près de 250 plantes y sont répertoriées, dont la *Nigelle*. Puis des milliers de tablettes, datant de 2000 ans avant J.-C. ont été découvertes en 1973 dans les ruines d'Elba en Syrie. Par ailleurs, la civilisation égyptienne n'est pas en reste en terme de plantes médicinales. En effet, le papyrus découvert par Edwin Smith en 1862 dans les ruines de Louksor, rédigé entre 1500 et 1600 avant J.-C. et déchiffré par l'égyptologue allemand Georg Ebers, constitue l'un des plus anciens traités médicaux qui nous soit parvenu. Il fait état de la pharmacopée égyptienne où plus de 700 substances, tirées pour la plupart du règne végétal, sont répertoriées. Il s'intitulait « Livre de préparation de

Chapitre I

médicaments pour toutes les parties du corps humain ». *Nigella* est citée comme médicament pour traiter la toux et les maladies pulmonaires. Et des archéologues ont trouvé une fiole d'huile de cumin noir dans le tombeau du Pharaon Toutânkhamon (v.-1353 à -1343). Selon certaines sources, cette huile était utilisée comme produit de beauté par Cléopâtre et Néfertiti. C'était aussi l'un des précieux remèdes prodigués par les médecins personnels des pharaons qu'ils exploitaient pour son action digestive après les repas copieux et aussi contre les maux de tête, de dents, les infections diverses, les inflammations et allergies en tous genres. La civilisation gréco-romaine a également excellé en terme de thérapie par les plantes, notamment grâce à Hippocrate (460-377 av. J.-C.), surnommé le père de la médecine. Son *Corpus Hippocratum*, un ensemble de textes, mentionne près de 400 remèdes à base de plantes dont la nigelle. Claude Galien (né vers 131 après J.-C.), médecin attitré de l'Empereur Marc Aurèle, à l'origine de la « pharmacie galénique », a amélioré en termes de précision et de qualité les connaissances fournies par Hippocrate. conseille de brûler les graines de nigelle pour tuer les moucheron et les moustiques ; et Tragus les employait comme antihelminthiques. Pedanius Dioscoride né vers 40 après J.-C. en Cilicie (le sud de la Turquie actuelle) et mort vers 90 après J.-C., d'après la préface de son traité *De materia medica*, aurait été médecin militaire sous les règnes de Claude Ier et de Néron. Il préconisait l'usage des graines de *N. sativa* contre les maux de tête, les affections des yeux, les maux de dents et les morsures d'araignées. Oribase, médecin grec du 4^e siècle de l'ère chrétienne, fut l'un des médecins de l'empereur Julien. A sa demande, il composa un corpus de médecine comprenant tout ce que les anciens médecins avaient écrit. Dans un synopsis, rédigé à l'intention de son fils Eustathios, dans le chapitre « Pâles couleurs, taches livides » tome V des Oeuvres d'Oribase, il donne une recette (onction énergique) à base de nigelle, pour lutter contre les symptômes susmentionnés. Au 8^e siècle, la médecine occidentale est surtout pratiquée par les moines. Dans le capitulaire de Villis, datant de l'an 795 environ, on note des recommandations sur la nigelle. On crédite à l'excellence des arabes en médecine l'élargissement du champ d'application de cette plante en thérapeutique. « Soignez-vous en utilisant la graine de nigelle, c'est un remède contre tous les maux à l'exception de la mort », telle est la recommandation faite par le prophète Mohammed au 7^e siècle. L'un de ses disciples, Ibn Atîq, avait utilisé les graines de *N. sativa* macérées dans l'huile d'olive. On instillait trois gouttes de cette huile dans chaque orifice nasal pour traiter la grippe qui s'accompagnait d'éternuements en salves Né près de Boukhara en Perse (actuel Ouzbékistan), Abu Ali Al-Hussein Ibn Abdallah Ibn Sina, connu sous le nom d'Avicenne (980-1037), traite de la nigelle dans son ouvrage « le Livre de la guérison de l'âme » ou « *Kitab Al-Chifâ* ». Il conseillait de griller les graines et de les réduire en poudre, puis de placer

Chapitre I

*cette préparation dans une bourse en tissu et d'inhaler quotidiennement pour désobstruer les voies nasales, selon le même principe qu'un vaporisateur [32]. Avicenne préconisait aussi la nigelle dans la dyspnée et dans le traitement de l'asthme et des bronchites. Cette même préparation, prise avec de l'eau bouillie, possède des actions diurétiques et dissolvantes des calculs rénaux]. D'autre part, la prise de l'huile de nigelle avec de l'huile d'olive était très réputée comme aphrodisiaque. À la nigelle on reconnaît aussi des propriétés emménagogues, galactagogues, abortives, vermifuges et ténicides. Les graines de *N. sativa*, pulvérisées et utilisées en cataplasme avec du vinaigre, auraient une action résolutive dans les pustules et la gale surinfectée et auraient une action verrucide, si on ajoute du miel]. Enfin, les médecins arabes connaissaient la toxicité de *N. sativa* à forte dose. De ce fait, ils recommandaient de ne pas dépasser une dose unitaire d'un demi-*Dirham* (1,62 g) et une dose journalière de deux *Dirhams* (6,48 g).

1.2.Systématique

La classification des végétaux permet de distinguer les procaryotes (bactéries et cyanobactéries) des eucaryotes eux-mêmes divisés en trois groupes en fonction de l'évolution de leur appareil végétatif :

- Les *Thallophytes* avec un appareil végétatif peu différencié, ou encore, un thalle, regroupent algues, lichens et champignons.
- Les *Bryophytes* dont l'appareil végétatif commence à se différencier en tige et feuilles comportent mousses, hépatiques et anthocérotes.
- Les *Trachéophytes* sont les « végétaux supérieurs », leur appareil végétatif est bien différencié en tige, feuilles et vaisseaux conducteurs de sèves. Ils sont constitués par les Ptéridophytes (fougères) et Spermaphytes (plantes à graines).

De plus avec l'évolution de l'appareil végétatif et reproducteur, les végétaux se sont adaptés à la vie terrestre depuis leur vie aquatique en passant par le milieu terrestre humide.

Selon la classification botanique des Angiospermes de Cronquist (1988) basée sur les critères morphologiques, anatomiques et chimiques, *Nigella* est une plante à graines, donc elle fait partie de l'embranchement des Spermaphyte

- L'embranchement des Spermaphytes :
Ils se distinguent par la production de graines et par une fécondation réalisée par l'intermédiaire d'un tube pollinique et indépendante de l'élément liquide
- Le sous-embranchement des Angiospermes (Magnoliophyta, plantes à fleurs) :

Chapitre I

Elles ont la particularité d'avoir une double fécondation, des organes reproducteurs se groupant en fleurs, bisexuées et des écailles ovulifères ou carpelles entourant complètement les ovules qui, après la fécondation, se transforment en fruits. La classe des Dicotylédones (Magnoliopsida) :

Elles sont caractérisées par un embryon à deux cotylédons latéraux, rarement réduits à un seul, une embryogenèse à deux plans de symétrie, des feuilles comportant un pétiole et un limbe à nervation réticulée et un appareil végétatif où la racine principale n'avorte pas, et où les feuilles sont complètes

- La sous-classe des Magnoliidae :

Caractérisée par des pièces florales primitivement nombreuses et disposées en hélice sur un réceptacle floral bombé, ou thalamus. Cette hésitation architecturale, signe d'une évolution qui en est encore à ses débuts, est accompagnée d'autres caractères primitifs, parmi lesquels la constitution du gynécée, généralement unicarpellé libre de toute concrescence : chez la plupart de ces plantes, chaque fleur produit ainsi, après la fécondation, de nombreux fruits séparés, et non le fruit composite, mais unique, qui est celui de la plupart des Angiospermes

1.3. L'ordre des Ranunculales

Leurs fleurs sont acycliques, hémicycliques ou cycliques avec verticilles trimères. Les fleurs deviennent unisexuées, les étamines se soudent en synandres, le gynécée se réduit. Les concrescences périanthaires et les soudures carpellaires sont exceptionnelles. La différenciation du périanthe en calice et corolle s'affirme, avec une organisation pentamère. Enfin, l'actinomorphie générale de la fleur des Ranunculales met en évidence la très forte zygomorphie constatée dans quelques genres. Les graines sont albuminées ou exalbuminées

1.4. La famille des Ranunculaceae :

Elles sont pour la plupart des plantes herbacées, plus rarement grimpantes et ligneuses.

Presque toutes sont des herbes terrestres, vivaces ou annuelles, certaines sont aquatiques.

Les feuilles sont généralement alternes, simples, entières ou découpées, ou même composées, habituellement dentées, ou crénelées, à nervation pennée palmée, sans stipules et les fleurs sont spiralées ou spiralo-cycliques.

L'androcée comporte de nombreuses étamines libres, centripètes, avec anthères à déhiscence longitudinale. Le gynécée est constitué d'un ovaire supère à carpelles libres, parfois soudés. Le fruit est soit un akène, soit un follicule, ou bien une capsule pour la nigelle.

Chapitre I

Les Ranunculaceae représentent le type même de la famille par enchaînement, mais avec diverses directions évolutives, d'où une grande variation dans la structure florale : la gamocarpellie (*Nigella*), l'apparition de la zygomorphie (*Aconitum*), la cyclisation par fragmentation de la spirale (*Helleborus*), et enfin la différenciation du périanthe en sépales et pétales selon deux voies, par sépalisation de l'involucre de bractées (*Anemone*), et par pétalisation des nectaires ou des étamines (*Ranunculus*)

Le seul caractère véritablement commun est l'embryon qui est de petite taille et entouré d'un albumen charnu.

1.5. Le genre *Nigella* :

Originaire d'Europe méridionale, d'Asie Mineure et centrale et d'Afrique du nord.

Il s'agit de plantes herbacées annuelles, aux feuilles basales et caulinaires, alternes, bi à tri pennatiséquées, composées de segments linéaires.

Les fleurs actinomorphes et bisexuées, généralement solitaires et terminales, sont axillées par un verticille de 5-6 bractées sépaloïdes et involucrales, pennatiséquées. Elles se composent de :

- 5 à 25 sépales persistants, libres et pétaloïdes
- 5 à 10 pétales nectarifères libres, de taille réduite et de forme bilabiée caractéristique, avec une partie inférieure sécrétrice de nectar et une partie supérieure agissant comme un casque protecteur
- 15 à 75 étamines libre un ovaire supère constitué de 5 à 10 carpelles libres
- Le fruit est un follicule ou une capsule, sessile et fréquemment renflé

Chapitre I

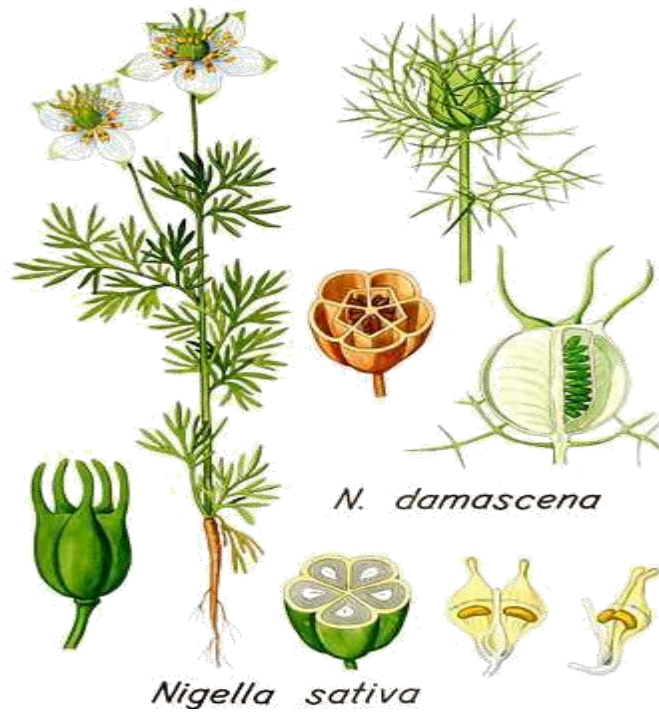


Figure 1 : Dessin représentant la plante entière et ses annexes

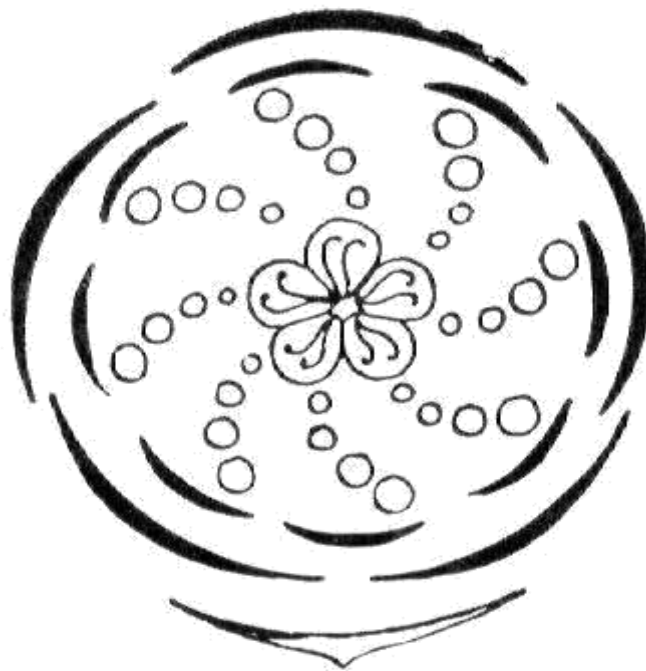


Figure 2: Diagramme floral *Nigella*

1.6 Les différentes espèces

Différentes approches taxonomiques ont abouti à un assemblage de nombreux synonymes. À la première description de ce genre seulement six espèces ont été enregistrées par Linné en 1753, et maintenant on voit plus de quatre-vingt noms selon Zohary en 1983.

Les espèces sont divisées en trois groupes : *Erobathos*, *Nigellaria* et *Nigellastrum*.

Le tableau 1 page 13 regroupe les différentes espèces connues à ce jour, avec les données taxonomiques et géographiques

Chapitre I

Tableau 1 : Différentes espèces et variétés de *Nigella* L. et leur distribution géographique

Nom de l'espèce	Synonyme courant	Distribution
Subsect. <i>Erobathos</i> (DC.) Zoh		
<i>N. damascena</i> L. <i>N. elata</i> Boiss	<i>Erobathos coarctatus</i> (Gmel.) Spach <i>N. bithynica</i> Azn	Medit.; cultivated N.E. Medit
Subsect. <i>Nigellaria</i> (DC.) Terracc		
<i>N. arvensis</i> L. var. <i>anatolica</i> Zoh var. <i>arvensis</i>	<i>N. arvensis</i> subsp. <i>arvensis</i> sensu Fl. Europ	W. Irano-Turanian N. Medit. - Pontic – central European
var. <i>assyriaca</i> (Boiss.) Zoh	<i>N. deserti</i> Boiss	
var. <i>beershevensis</i> Zoh var.		W. Irano-Turanian
<i>glauca</i> (Schkuhr) Boiss	<i>N. carpatha</i> Strid, <i>N. degenii</i> Vierh.,	Saharo-Arabian
	<i>N. doerfleri</i> Vierh.	E. Medit., W. Irano-Turanian
var. <i>glaucescens</i> Guss	<i>N. divaricata</i> Moris	
var. <i>involucrata</i> Boiss	<i>N. arvensis</i> subsp. <i>aristata</i> (Sm.) Nyman	W. Medit
var. <i>iranica</i> (Zoh.)		E. Medit
var. <i>longicornis</i>	<i>N. assyriaca</i> var. <i>longicornis</i> Zoh.	W. Irano-Turanian
(Zoh.) Townsend		W. Irano-Turanian
var. <i>microcarpa</i> Boiss	<i>N. taubertii</i> Brand	E. Medit
var. <i>multicaulis</i> Zoh	<i>N. deserti</i> var. <i>latilabris</i> Zoh	Medit. - Saharo-Arabian
var. <i>negevensis</i> Zoh	<i>N. arvensis</i> subsp. <i>negevensis</i> (Zoh.) W.Greuter & Burdet	Saharo-Arabian
var. <i>palaestina</i> (Zoh.) Zoh. & Feinbr	<i>N. divaricata</i> var. <i>palaestina</i> Zoh	E. Medit
var. <i>simplicifolia</i> Zoh		W. Irano-Turanian
var. <i>mutica</i> Bornm	<i>N. arvensis</i> var. <i>submutica</i> Bornm	E. Medit
<i>N. fumariifolia</i> Kotschy <i>N. hispanica</i> L.		N.E. Medit
var. <i>hispanica</i>	<i>N. amoena</i> Salisb.	N.W. Medit
var. <i>intermedia</i> Coss	<i>N. papillosa</i> subsp. <i>atlantica</i> (Murb.) Amich ex G. Lopez	S.W. Medit
var. <i>parviflora</i>	<i>N. gallica</i> Jord	N.W. Medit
Coss <i>N. sativa</i> L.		
var. <i>hispidula</i> Boiss	<i>N. truncata</i> Viv	N.E. Medit.; cultivated
var. <i>sativa</i>	<i>N. indica</i> Roxb	widely cultivated
<i>N. segetalis</i> Marsch. Bieb		
var. <i>armena</i> (Stev.) Boiss	<i>N. verrucosa</i> C. Koch	W. Irano-Turanian
var. <i>segetalis</i>	<i>N. bicolor</i> Boiss	W. Irano-Turanian
<i>N. stellaris</i> Boiss	<i>N. cilicica</i> Boiss. et Bal. in Boiss	N.E. Medit
Subsect. <i>Nigellastrum</i> (DC.) Zoh		
<i>N. ciliaris</i> DC.	<i>N. oxypetala</i> subsp. <i>ciliaris</i> Terracc	S.E. Medit
<i>N. orientalis</i> L.	<i>Nigellastrum flavum</i> Moench	N.E. Medit., W. Irano-Turanian
<i>N. oxypetala</i> Boiss	<i>N. lancifolia</i> Hub.-Mor., <i>N. latisepta</i> P.H.Davis	N.E. Medit., W. Irano-Turanian

2 .Description botanique de *Nigella sativa* L.

N. sativa L. est une plante herbacée, annuelle, à tige dressée, côtelée, anguleuse et rameuse d'une soixantaine de centimètres de hauteur, portant des feuilles bi- ou tripennatiséquées, oblongues ovales, composées de segments lancéolés oblongs, au pétiole pubescent. Il n'y a pas de feuilles réunies en involucre immédiatement autour de la fleur, contrairement à *Nigella damascena* L. :

- Les fleurs sont solitaires, axillaires et terminales, bisexuées, radiales, très riches en nectar.
- Le calice comporte cinq sépales pétaloïdes, de couleur blanchâtre à bleu pâle, assez brusquement rétrécis à leur base
- La corolle est composée de cinq pétales plus petits que les sépales et ayant chacun la forme d'un cornet bilabié, dont la lèvre supérieure est divisée en deux. Les pétales portent à leur sommet deux petits renflements arrondis jaune verdâtre.
- Chaque fleur possède huit cornets nectarifères, une lèvre inférieure bilobée dont les lobes se terminent en une protubérance émoussée, et une lèvre supérieure poinçonnée.
- L'androcée est formé de nombreuses étamines fixées sur le réceptacle par de longs filets.
- Le gynécée consiste en cinq follicules soudés, chacun avec un style long indéhiscent et composé de cinq carpelles soudés entre eux jusqu'à la base des styles persistants.

La plante est hermaphrodite à reproduction autonome.

Le fruit correspondant à l'ensemble des follicules soudés forme la capsule contenant plusieurs graines triangulaires blanchâtres qui, lorsque la capsule s'ouvre à maturité, exposées à l'air deviennent noires

Les graines sont ovoïdes et mesurent 2 à 3,5 mm ; elles présentent 3 ou 4 angles avec une face supérieure finement granuleuse et réticulée



Figure 3 : *Nigella sativa* L

.3 . Culture de *Nigella sativa* L.

La plante est très peu exigeante et pousse sur des terrains argileux ou sablonneux, dans des endroits chauds et peu humides.

Les graines sont semées en général au printemps, elles commencent leur germination dans les trois à quatre semaines. Après environ six mois de croissance végétative, la floraison apparaît et les graines continuent leur maturation pendant un bon mois encore. Dès le jaunissement des feuilles, le brunissement des follicules, la récolte peut être faite à l'automne pour séchage à l'ombre

Dans les régions chaudes, avec un hiver doux, comme en Inde, les graines sont semées en automne-hiver pour une récolte au printemps-été.

Chapitre I

3.1 Rendement

En moyenne le rendement de la graine de nigelle est de 160 à 240 kg par hectare. Le meilleur rendement est obtenu pour une quantité de semis de 2 kg/ha, et avec un espacement entre plants de 15 cm. L'augmentation du nombre de plants au-delà d'un seuil optimal, pour une surface donnée, provoque une baisse de rendement par une compétition négative entre les plantes .

4 .Composition chimique de la plante

Les recherches sur la composition des grains de *N. sativa* ont débuté en 1880 avec Greenish, qui publia le premier rapport mentionnant la présence de 37% d'huiles et 4,1% d'éléments minéraux

Par la suite, des études ont montré la présence d'une diversité de substances naturelles regroupant des lipides, des dérivés terpéniques, des flavonoïdes, des alcaloïdes et des saponines. *Nigella sativa* constitue également une importante source de protéines et de sels minéraux : phosphore, calcium, potassium, magnésium et sodium. Les valeurs et proportions fournies par la littérature diffèrent d'un auteur à l'autre ; la variété et l'origine des 19 échantillons peuvent en être partiellement responsables. Une approximation de la composition est donnée dans le tableau (2).

Tableau 2: Composition des graines de *Nigella sativa*

Constituant	Quantité (%)
Lipides	30-35
Protéines	16 -21
Glucides	33-34
Fibres alimentaires	4,5 – 6,5
Sels minéraux	3,7 – 7
Saponines	0,013

Chapitre I

4.1. Composés aromatiques

Il a été considéré que la plupart des activités pharmacologiques attribuées à *N. Sativa* provenaient de son huile essentielle. C'est pourquoi dès 1960 des études ont été entreprises sur les constituants de cette huile volatile

C'est en 1963 que la thymoquinone, monoterpène oxygéné, a été isolée dans l'huile de nigelle, par El-Dakhkhny, et d'autres études ont mis en évidence les principaux constituants[20]. Burits et Bucar en 2000, ont identifié par GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectroscopy), 32 constituants dont la majorité sont des monoterpènes : *p*-cymène (38%), thymoquinone (30%), carvacrol (5-11%), α -pinène (5-14%), β -pinène (5%), limonène (4%), longifolène (1,2-8%), 4-terpinéol (1,98-6,59%) et *t*-anéthol (0,25-4,28%)

La présence de thymohydroquinone, de thymol, de produits d'oxydation de la thymoquinone, comme la dithymoquinone sont également signalés.

4.2 Saponosides

Les saponosides sont des hétérosides de stérols ou de triterpènes. Ce sont des composés très répandus dans le règne végétal. Solubles dans l'eau, ils libèrent par hydrolyse un ou plusieurs oses et une génine (sapogénine). La première saponine isolée par Greenisch en 1882 à partir des graines de *N. sativa* est la mélianthine, dont l'aglycone est l'hédéragénine

Récemment, d'autres saponosides ont pu être isolés à partir d'un extrait éthanolique des graines de *N. sativa* dont le 3-O-[β -D-xylopyranosyl-(1-3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1-2)- α -L-arabinopyranosyl]-2, alors que de nombreux autres saponosides ont pu être déterminés à partir des huiles de *N. Sativa*

Une étude a permis d'isoler à partir de l'extrait méthanolique trois autres saponosides apparentés à l' α -hédérine, avec l'élucidation de leurs structures par des méthodes chimiques et spectrales (

- 3-O- β -D-xyl (1-3)- α -L-rha- (1-2)- α -L-ara-28-O- α -L-rha(1-4)- β -D-glu(1-6) - β -D-glu-hédéragénine

- 3-O- α -L-rha-(1-2)- α -L-ara-28-O- α -L-rha(1-4)- β -D-glu(1-6)- β -D-glu-hédéragénine

- 3-O- β -D-xyl(1-3)- α -L-rha-(1-2)- α -L-ara-hédéragénine.

-

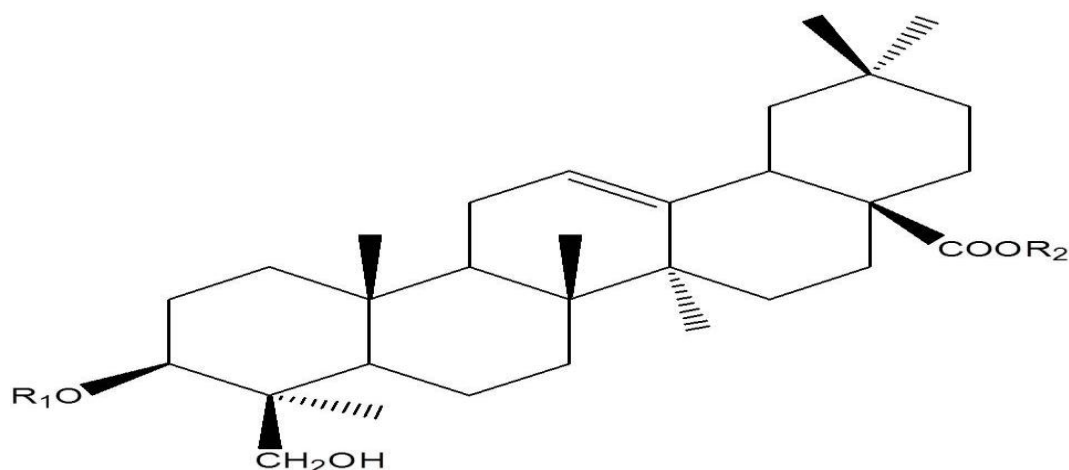


Figure 4: Structure des saponosides à hédéragénine isolés à partir des graines de *Nigella sativa* L

R1

= α -L-rha (1-2)- α -L-ara

= β -D-xyl (1-3)- α -L-rha (1-2)- α -L-ara

= α -rha (1-2)- α -L-ara

= β -D-xyl (1-3)- α -L-rha (1-2)- α -L-ara

R2

H

H

α -rha (1-4)- β -D-glu (1-6)- β -D-glu

α -rha (1-4)- β -D-glu (1-6)- β -D-glu

4.3. Polyphénols et flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés aromatiques dont la biosynthèse constitue l'un des processus fondamentaux de la phytochimie. Ils font partie de ce que l'on appelle les composés phénoliques. Les flavonoïdes sont des substances généralement colorées très répandues chez les végétaux. Les Renonculacées sont un groupe riche en flavonols et en flavones. En 1997, trois nouveaux flavonoïdes triglycosylés ont été isolés à partir des graines de *N. sativa* et leurs structures ont été déterminées[26]:

1. quercétine 3-glycosyl (1→2) galactosyl (1→2) glucoside
2. kœmpférol 3-glycosyl (1→2) galactosyl (1→2) glucoside
3. quercétine 3-(6-feruloglucosyl) (1→2) galactosyl (1→2) glucoside.

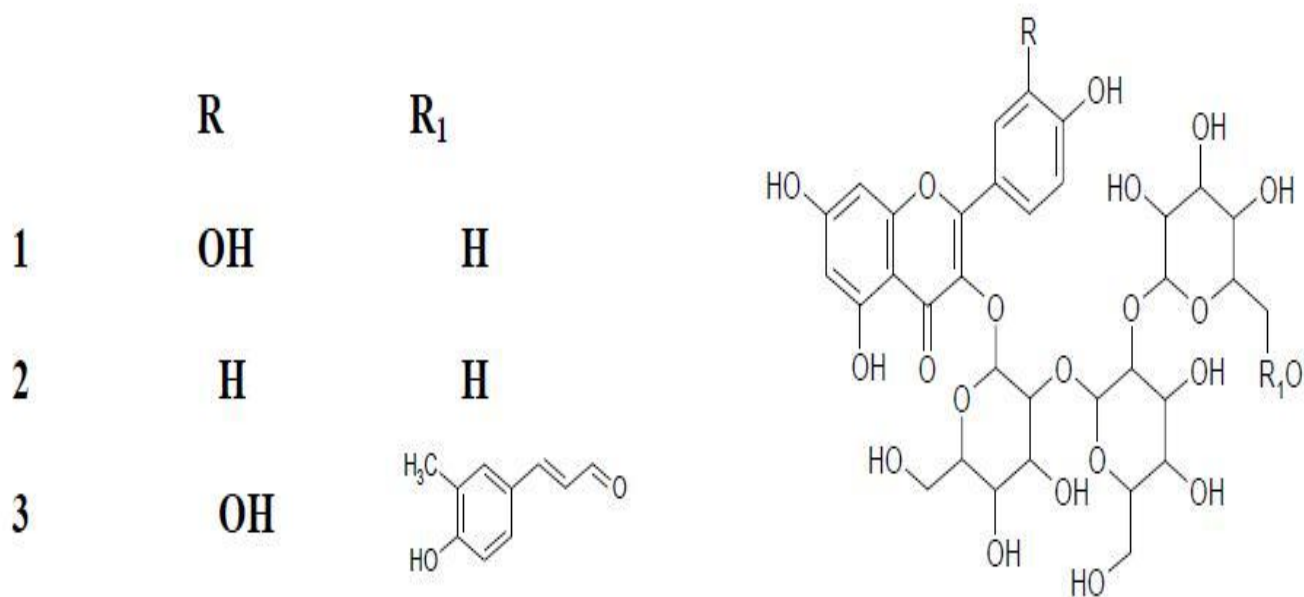


Figure 5: Structure chimique des trois flavonoïdes isolés de *Nigella sativa* L

En 2008, quatorze composés phénoliques ont été isolés à partir d'un extrait méthanolique de pousses et de racines de *N. sativa*. Ceux-ci sont : l'acide gallique,

l'acide para-hydroxybenzoïque, l'acide chlorogénique, l'acide vanillique, l'acide paracoumarique, l'acide férulique, l'acide trans-2-hydroxycinnamique, l'acide trans-hydroxycinnamique, l'épicatéchine, la catéchine, la quercétine, l'apigénine, l'amentoflavone et la flavone.

4.4. Tanins

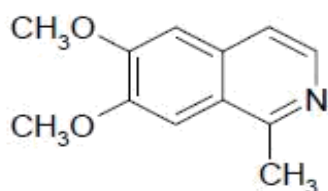
Les tanins ont des propriétés pharmacologiques – astringents qui provoquent la contraction des tissus et des vaisseaux sanguins et qui stimulent la coagulation du sang, anti-diarrhéiques (ralentit le péristaltisme intestinal), antiseptique, vasoconstricteur de petits vaisseaux (hémorroïdes, blessures superficielles), anti-inflammatoire dans les cas de brûlures

Chapitre I

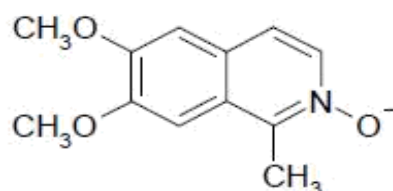
4.5. Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances présentant un caractère alcalin, contenant de l'azote, le plus souvent inclus dans un hétérocycle. Les alcaloïdes ont, pour la plupart, des actions physiologiques et thérapeutiques à faibles doses. Ils deviennent cependant très toxiques à fortes doses. Les plus importants alcaloïdes de *N. sativa*.

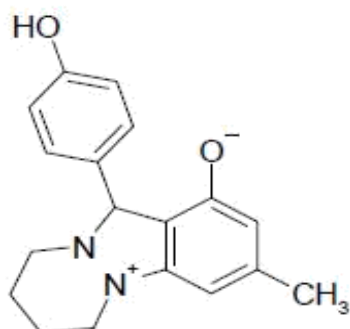
- Nigellicine, à noyau indazole.
- Nigellimine, une isoquinoléine.
- Nigellimine N-oxyde, dérivé N-oxyde de la nigellimine.
- Nigellidine, également un indazole.



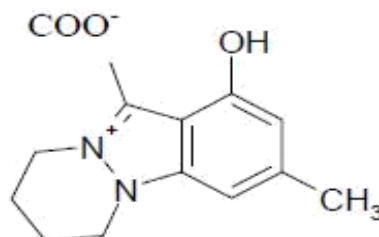
Nigellimine



Nigellimine N-oxide



Nigellidine



Nigellicine

figure 6: Structure chimique des principaux alcaloïdes de *N. Sativa*

4.6 Les Protéines

Les graines de *Nigella sativa* sont très riches en protéines (environ 20 %), avec dominance d'acide glutamique (22,4%), d'acide aspartique (10,05%) et d'arginine (9,18%) .

La protéine la plus étudiée jusqu'à maintenant est la lipase qui catalyse des réactions de trans-estérification. L'analyse des acides aminés de l'hydrolysat de ces protéines révèle la présence de 17 acides aminés y compris les 8 acides aminés essentiels.

4.7 Les Vitamines et Sels Minéraux :

La composition en vitamines a été déterminée et révèle la présence des vitamines A, B1, B2, B6, PP et de l'acide folique..

Les tocophérols totaux constituent 0,05% de l'huile, et sont constitués majoritairement de l' α -tocophérol (48%) et du γ -tocophérol (28%). D'autres vitamines liposolubles comme le β -carotène (0,05%) et la vitamine K1 (0,1%), sont présentes .

Des travaux sur la composition minérale de la graine de *Nigella sativa* ont rapporté que sa teneur en potassium est importante (1,18 % de poids total de la graine) et que le calcium, le fer, le sodium représentent 0,188 ; 0,0575 et 0,0853 % respectivement. La teneur des graines en sélénium a été également déterminée, elle représente 0,27 à 0,54 mg/kg de graines

5 .Lipides et Stérols :

L'huile fixe représente 37,9-39,2% du poids de la graine de la *Nigelle Sativa*. Elle est constituée principalement de lipides neutres 96,1%-97,2%, de lipides polaires 3% et de phospholipides 0,32-1,05%. L'analyse des phospholipides (PL) par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) a permis d'identifier principalement sept constituants; phosphatidyl choline (46% des PL), phosphatidyl éthanolamine (25%), phosphatidyl sérine (12%), phosphatidyl inositol (9,56%), lysophosphatidyl choline (4,23%), phosphatidylglycérol (1,51%) et lysophosphatidyl éthanolamine (1,2%) . Une étude complémentaire sur les glycolipides de *Nigella sativaa* permis de séparer et d'identifier six composés dont le plus abondant est le digalactosyl diacyl glycérol qui forme 55,6% des glycolipides totaux. L'analyse phytochimiques de deux variétés des graines *Nigella sativa* (provenant d'Iran et de Tunisie) montre que le principal acide gras insaturé est l'acide linoléique suivi par l'acide oléique, alors que l'acide gras saturé majoritaire est l'acide palmitique. La présence d'autres acides gras ; myristoleique, palmitoleique, margarique, arachidique, eicosénoïque, behénique, lignocérique a été également détectée. Ultérieurement Cheikh-Rouhou et collaborateurs, (2008) ont mis en évidence la richesse de l'huile de la Nigelle en stérols (17,41-42,66% de la matière insaponifiable), dont le β -sitostérol est le plus abondant (44-54%), suivi par le stigmastérol (16.57–20.92%), Δ 7-stigmasterol, Δ 7-avenasterol et le cholestérol qui sont également détectés mais à des taux plus faibles .

5.1 .Huile essentielle :

L'huile essentielle représente entre 1,4–1,9% du poids de l'huile fixe et 0,18 à 0,50% du poids des graines. L'analyse de cette huile par GC-MS réalisée par Burits et Bucar(2000) a permis d'identifier 32 composants, dont la majorité 27 d'entre eux sont des monoterpènes lathymoquinone (27,8%-57%), p-cymène (7,07-15,83%), carvacrol (5,8-11,6%), longifolène (1,2-8%), 4-terpinol (1,98-6,59%), et le t-anéthol (0,25-4,28%)[40]. Contrairement à l'étude précédente, Moretti et ses collaborateurs (2004) ont trouvé que le composant majeur est le p-cymène suivi du thymol alors que la thymoquinone présente un taux faible. Récemment, L'huile essentielle de *Nigella sativa* cultivée au Sahara algérien (Timimoune et Adrar), extraite par deux méthodes différentes l'hydrodistillation et distillation par micro-onde a été analysée par CPG et GC-MS, 112 composés ont été identifiés et caractérisés, le p-cymène représente toujours le composé le plus abondant suivi de la thymoquinone.

5.2 .Activité antioxydante

In vivo, L'administration de l'huile de *Nigella sativa* et de la thymoquinone chez des rats protège contre l'hyperhomocystéinémie induite par la méthionine en bloquant l'accumulation de l'homocystéine, l'une des causes de l'état du stress oxydant, conduisant à la protection contre la peroxydation lipidique et les changements du statut oxydatif (El-Saleh *et al.*, 2004). Par ailleurs, le traitement de rats soumis à un régime alimentaire contaminé par l'aflatoxine, avec l'huile de *Nigella sativa*, entraîne une protection importante contre l'hépatonéphrotoxicité et les altérations oxydatives (réduction des taux de la GPx, de la SOD, augmentation de la peroxydation lipidique et des altérations de l'ADN) induites durant l'aflatoxicose. Cet effet protecteur de l'huile de *Nigella sativa* est probablement attribué à leur effet piègeur de radicaux libres (Ghedira et Le Jeune, 2010). *In vitro*, Mariode *et al* (2009) ont établi une activité antioxydante des différents extraits polyphénoliques des graines de *Nigella sativa* via différents tests tels que le test DPPH, de blanchissement de bêta-carotène et de la peroxydation lipidique non enzymatique. Ils ont pu identifier grâce à la technique d'HPLC trois composés polyphénoliques qui semblent être responsables de ce potentiel antioxydant. L'huile essentielle de *Nigella sativa*, ainsi que ses fractions, ont été testées pour leur activité antioxydante par une évaluation rapide des antioxydants en utilisant deux méthodes de CCM de criblage. La thymoquinone, le carvacrol, le t-anéthol et le 4-terpinéol ont montré une propriété scavenger des radicaux libres remarquable. Cette propriété antioxydante a été confirmée par d'autres tests (DPPH, peroxydation lipidique non enzymatique et l'essai du désoxyribo

Chapitre II :

Les Lipides et Les Composés Phénoliques

Chapitre II

1. Les Lipides:

1.1. Introduction:

Les lipides sont des biomolécules organiques insolubles dans l'eau, on va les extraire des cellules ou tissus par des solvants organique tels que le chloroforme, l'hexane, l'éther, le benzène. Il existe différentes classes de lipides, mais leurs propriétés communes résultent des chaînes hydrocarbonées (carbone + hydrogène) qui constituent la majeure partie de leur structure

Ces lipides présentent plusieurs fonctions biologiques importantes, ils remplissent des fonctions structurales essentielles en tant que composant majeur des biomolécules membranaires. Ils servent de combustibles pour la cellule et pour cela ils interviennent dans des réactions d'oxydation dans la cellule, un rôle de protection à la surface d'un grand nombre d'organismes, ils peuvent être aussi des constituants de la surface cellulaire et participer à la reconnaissance des cellules et joue un rôle d'immunité cellulaire; enfin certaines substances telles vitamines et hormones, sont classés parmi les lipides et ces substances sont douées d'une intense activité biologique. .

1.2. Classification des lipides :

On classe les lipides en deux grandes catégories : les lipides à base d'acides gras (lipides saponifiables) et les lipides à base d'isoprène (lipides insaponifiables) Leur répartition est montrée par la figure 7.

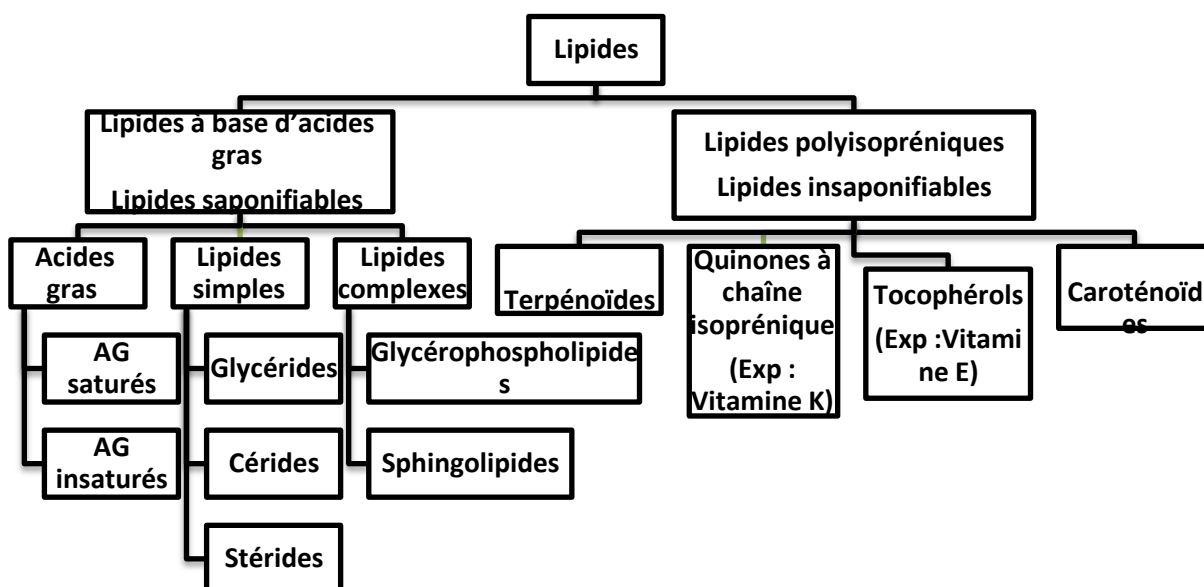


Figure. 7: Principaux Constituants des Lipides

Chapitre II

1.3. Lipides Saponifiables :

Les lipides saponifiables sont des lipides qui sont traités par des bases minérales (NaOH, KOH) et qui donnent du savon.

a. Acides gras :

Les acides gras peuvent exister à l'état libre de nature. Ce sont des composés organiques à base de carbone, d'hydrogène et d'oxygène. Ils sont formés d'une chaîne hydrocarbonée plus ou moins longue et d'un groupe carboxyle

La chaîne aliphatique hydrocarbonée peut être saturée ou peut présenter une ou plusieurs doubles liaisons. Les acides gras diffèrent donc entre eux par la longueur de la chaîne aliphatique selon le nombre et la localisation des doubles liaisons éventuelles.

- **Les acides gras saturés :**

Une série continue d'acides gras de nombre de carbone pair (4 à plus de 30) a été isolée des lipides source animale, végétale et microbienne

Les acides gras saturés les plus courants sont :

Acide palmitique : C16:0, C16H₃₂O₂

Acide stéarique : C18:0, C18H₃₆O₂

Acide arachidique : C20:0, C20H₄₀O₂

- **Les acides gras insaturés :**

Ils présentent plus de la moitié des acides gras des plantes et des animaux, ceux qui possèdent une double liaison tels que les acides monoéniques ou monoinsaturés par exemple :

Acide palmitoléique C16:1, C16H₃₀O₂

Acide oléique C18:1, C18H₃₄O₂

Et ceux qui possèdent plusieurs doubles liaisons, ils sont polyéniques ou polyinsaturés par exemple :

Acide linoléique C18:2, C18H₃₂O₂

Acide linolénique C18:3, C18H₃₀O₂

- **Les acides gras cycliques :**

Les acides gras cycliques sont rarement rencontrés, à savoir les acides sterculiques « (Octyle-2- cyclopropényl) 8 octanoïque » et les acides chaulmogriques « (Cyclopentényl) 13 tridécanoïque ».

Chapitre II

b. Les lipides simples :

Les lipides simples encore appelés homolipides sont des corps ternaires (C, H, O). Ils sont des esters d'acides gras que l'on classe en fonction de l'alcool.

-Acyglycérols(ou glycérodes) sont des esters du glycérol.

-Cérides sont des esters d'alcool à longue chaîne (alcool gras).

-Stérides sont des esters de stérols (alcool polycyclique).

c. Les lipides complexes:

Ces hétérolipides contiennent des phosphates, sulfates ou glucides. Ils sont classés par rapport à la molécule qui fixe les acides gras :

- Soit le glycérol qui se distingue des acyglycerols par l'hétérogroupe et qui sont subdiviser en:

- glycérophospholipides

- glyceroglycolipides.

- Soit une base sphingoides (dialcool aminé) qui définit les sphingolipides

1.4. Lipides Insaponifiables (Polyisopréniques) :

Les lipides polyisopréniques sont des lipides à base d'isoprène. Ce groupe des lipides est aussi appelé lipides insaponifiables et joue un rôle biologique fondamental (hormones et vitamines)[26]. Ils sont divisés en quatre catégories : les terpénoïdes, les caroténoïdes, les quinones à chaîne isoprénique et les tocophérols.

Les carotènes (pigment rouge-orangé), les xanthophylles (pigment jaune) et la vitamine A font partie des caroténoïdes. La vitamine K, les ubiquinones et les plastoquinones font partie des quinones à chaîne isoprénique.

Les stéroïdes regroupent les stérols, les acides biliaires, les hormones stéroïdes et la vitamine D

- **Tocophérols:**

Ils sont au nombre de quatre isomères constitués d'un carbone associé à un groupement quinone; ils ont essentiellement des propriétés antioxydantes en particulier vis-à-vis des acides gras polyinsaturés. Ils se trouvent en quantité notable dans les huiles végétales, ils possèdent également une activité vitaminique E, la plus forte étant celle l' α -tocophérol.

La teneur des tocophérols de 200 à 1200 mg/kg dans l'huile végétale et de 10 à 20 mg/kg dans les graisses animales .

2. Propriétés Physico-Chimique des Lipides :

2.1. Propriétés Physiques :

a. Point de Fusion:

Le point de fusion des lipides dépend de deux critères qui sont la longueur de la chaîne et le taux d'insaturation. Une augmentation du nombre d'atomes de carbone entraîne une augmentation du point de fusion (passage à l'état liquide) comme le montre la courbe (Annexe 7). A température ordinaire, les acides gras à nombre d'atomes de carbone inférieur à 10 sont liquides et ceux à nombre d'atomes de carbone supérieur à 10 sont solides .

- ☐ Longueur de la chaîne: nous citons par exemple
- ☐ Acide butyrique (C4) : $T_f = - 8\text{ }^{\circ}\text{C}$
- ☐ Acide palmitique (C16) : $T_f = + 63\text{ }^{\circ}\text{C}$
- ☐ Acide stéarique (C18) : $T_f = + 69\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- ☐ Taux d'insaturation:

Une augmentation du nombre de double liaison entraîne une diminution de la température de fusion [27]. Nous citons quatre exemples:

- ☐ Acide stéarique (0): $T_f = + 69\text{ }^{\circ}\text{C}$
- ☐ Acide oléique (1): $T_f = + 16\text{ }^{\circ}\text{C}$
- ☐ Acide linoléique (2): $T_f = - 5\text{ }^{\circ}\text{C}$
- ☐ Acide linoléique (3): $T_f = - 11\text{ }^{\circ}\text{C}$.

b. Solubilité :

La solubilité des lipides est liée à leur structure où la fonction carboxylique est polaire dans l'eau (hydrophile) et la chaîne carbonée est apolaire (hydrophobe) dont leurs homologues supérieurs étant insolubles .

2.2. Propriétés chimiques :

Ce sont des savons à propriétés moussantes, mouillantes et émulsionnantes. Dans l'eau, les savons se dissocient en Na^+ et R-COO^- dont l'anion qui a 2 pôles où R est hydrophobe et COO^- est hydrophile. Ces molécules appelées amphiphiles ou amphipathiques qui sont tensioactives, car elles abaissent la tension superficielle de l'eau d'où leurs propriétés .

3. Biosynthèse des Composés Phénoliques :

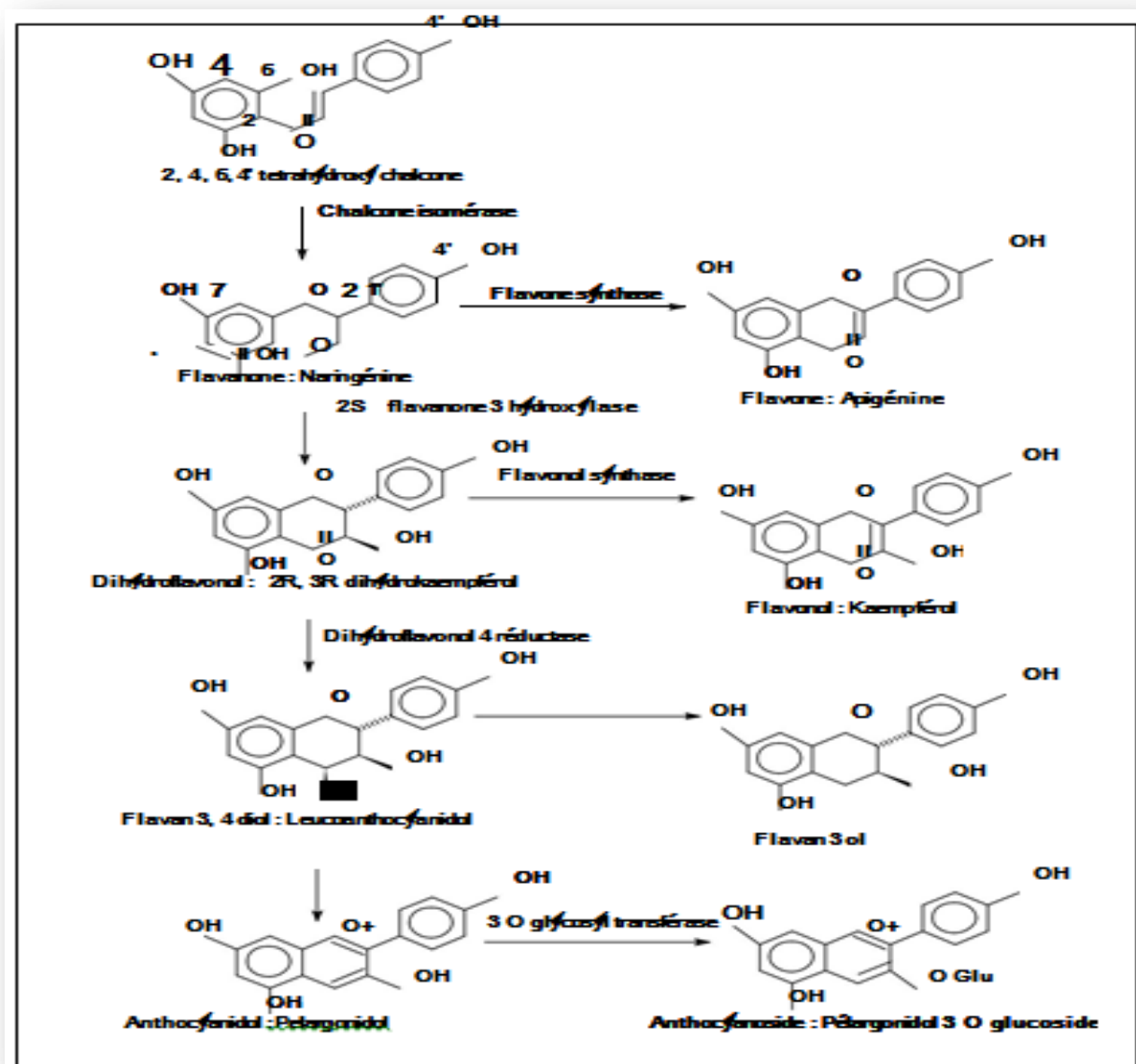
3.1. La Voie de Shiki Mate :

c'est souvent la voie de biosynthèse des composés aromatiques, elle joue un rôle critique pour contrôler le métabolisme de la voie de phénylpropanoïde (Keninget *al*, 1995)

3.2. La Voie de Phénylpropanoïde:

La voie de phénylpropanoïde commence par la phénylalanine (Phe) qui fournit en plus des principaux acides phénoliques simples, coumarines, isoflavonoïdes, flavonoïdes, acide salicylique, des précurseurs de lignine, qui est quantitativement le second biopolymère le plus important après la cellulose.

Figure 8: La voie de phénylpropanoïde



Chapitre II

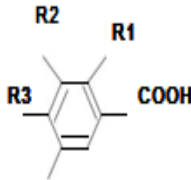
4. Principales Classes des Composés Phénoliques:

4.1. Les Acides Phénoliques Simples :

A / Acides Hydroxybenzoïques :

Sont des dérivés de l'acide benzoïque. Ont une structure générale de base de type (C6-C1).
Existent souvent sous forme d'esters ou de glycosides. Les acides hydroxybenzoïques les plus abondants sont répertoriés dans le tableau 3 :

Tableau 3: Principaux acides hydroxybenzoïques

Structure	R1	R2	R3	R4	Acides phénoliques
	H	H	H	H	Acide benzoïque
	H	H	OH	H	Acide p hydroxy benzoïque
	H	OH	OH	H	Acide protocatechique
	H	OCH3	OH	H	Acide vanillique
	H	OH	OH	OH	Acide gallique
	H	OCH3	OH	OCH3	Acide syringique
	OH	H	H	H	Acide salicylique
	OH	H	H	OH	Acide gentisique

Chapitre II

B / Acides Hydroxycinnamiques :

Dérivent de l'acide cinnamique. Ont une structure générale de base de type (C6-C3).
Existent souvent sous forme combinée avec des molécules organiques.

Les degrés d'hydroxylation et de méthylation du cycle benzénique, conduisent à une réactivité chimique importante de ces molécules, le tableau 4 représente les principaux acides hydroxycinnamiques.

Tableau 4 : Principaux acides hydroxycinnamiques

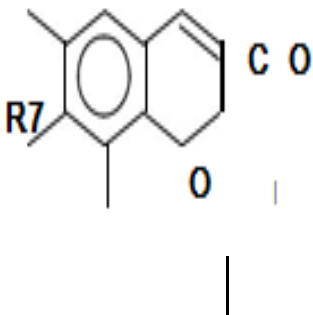
Structure	R1	R2	R3	Acides phénoliques
	H	H	H	Acide cinnamique
	H	OH	H	Acide p coumarique
	OH	OH	H	Acide caféique
	OCH3	OH	H	Acide férulique
	OCH3	OH	OCH3	Acide sinapique

Chapitre II

C / Coumarines :

Les coumarines dérivent des acides hydroxycinnamiques par cyclisation interne de la chaîne latérale. Les coumarines ont fréquemment un rôle écologique ou biologique.

Tableau 5 : Principaux types de coumarines

Structure	R6	R7	R8	Acides phénoliques
	H	OH	H	Umbelliférol
	OH	OH	H	Aescultol
	OCH3	OH	H	Scopolétol
	OCH3	OH	OH	Fraxétol
	H	OH	OH	Daphnétol

4.2. Les Flavonoïdes :

4.2.1. Généralités:

Le nom flavonoïde proviendrait du terme flavedo, désignant la couche externe des écorces d'orange (Piquemal, 2008), cependant d'autres auteurs supposaient que le terme flavonoïde a été plutôt prêté du flavus ; (flavus=jaune) (Karaali *et al*, 2004 ; Malešev et Kuntić, 2007).

Les flavonoïdes ont été isolés par le scientifique E. Chervreul en 1814, mais ont été réellement découverts qu'en 1930 par Albert Szent-Györgyi, 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

Chapitre II

correspondaient pas à la définition officielle des vitamines, il devient clair que ces substances appartiennent aux flavonoïdes

Les travaux relatifs aux flavonoïdes sont multiples depuis la découverte du célèbre "french paradox" correspondant à un bas taux de mortalité cardiovasculaire observé chez les habitants des régions méditerranéennes, associant une consommation de vin rouge à une prise importante de graisses saturées (Ghedira, 2005; Malešev et Kuntić, 2007). Près de 4000 flavonoïdes ont été décrits

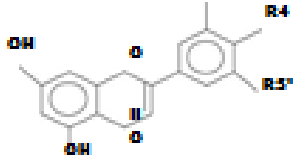
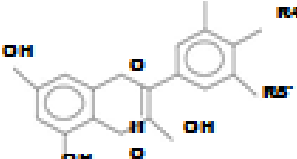
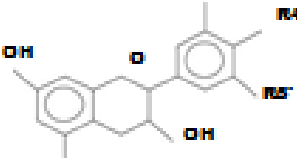
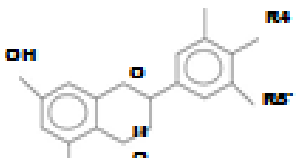
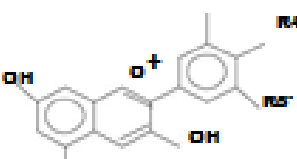
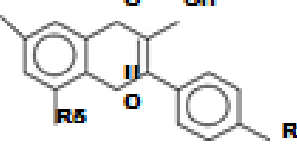
4.2.2. Structure :

Les flavonoïdes ont tous la même structure chimique de base, ils possèdent un squelette carboné de quinze atomes de carbones constitué de deux cycles aromatiques (A) et (B) qui sont reliés entre eux par une chaîne en C3 en formant ainsi l'hétérocycle (C) (W- Erdman *et al*, 2007). Généralement, la structure des flavonoïdes est représentée selon le système C6-C3-C6 (Emerenciano *et al*, 2007) en formant une structure de type diphénylethane dont des groupements hydroxyles, oxygènes, méthyles, ou des sucres peuvent être attachés sur les noyaux de cette molécule (Narayana, 2001; Malešev et Kuntić, 2007)

Chapitre II

4.2.3. Classification

Tableau 6: Principales classes des flavonoïdes

Classes	Structures chimiques	R3'	R4'	R5'	Exemples
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH ₃	H	Diosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myricétine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyanidines		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Isoflavones		R5	R7	R4'	
		OH	OH	OH	Genisteine
		H	O-Glu	OH	Daïdezine

4.2.4. Localisation

Les flavonoïdes sont impliqués dans de nombreuses interactions des plantes avec les conditions biotiques et abiotiques de leur environnement, ces substances sont accumulées dans différentes parties cellulaires et tissulaires de la plante durant l'organogénèse et sous l'influence de plusieurs facteurs stimulants (Hutzler *et al*, 1998)

Sur le plan cellulaire, les flavonoïdes sont synthétisés dans les chloroplastes puis migrent et se dissolvent dans les vacuoles (Piquemal, 2008), la répartition de ces composés montre des accumulations très localisées, généralement en relation avec une fonction physiologique ou avec l'interaction de la plante avec son environnement. Ainsi, les flavonoïdes qui ont une localisation épidermique ont un rôle d'écran vis-à-vis des rayonnements solaires, tandis que ceux qui sont impliqués dans les mécanismes de défense ont plutôt une localisation sous épidermique (Boudet, 2000)

4.2.5. Distribution :

Les flavonoïdes sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racines, tiges, feuilles, fruits, graines, bois, pollens (Verhoeyen *et al*, 2002), ils peuvent aussi être rencontrés dans certains boissons et chez certains fourrages (ex: trèfle) (Urquiaga et Leighton, 2000)

Certaines classes de flavonoïdes sont présentes exclusivement chez certains végétaux, on trouvera par exemple, les flavanones dans les agrumes, les isoflavones dans le soja, les anthocyanes et les flavonols ont eux une large distribution dans les fruits et les légumes tandis que les chalcones se retrouvent plus fréquemment dans les pétales des fleurs, sont considérés comme des pigments naturels au même titre que les chlorophylles et les caroténoïdes (Lahouel, 2005 ; Piquemal, 2008)

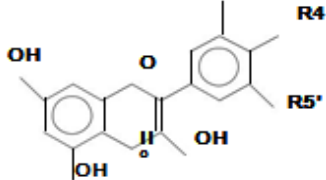
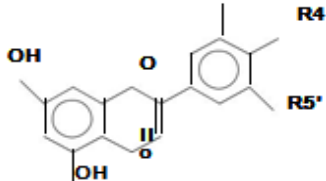
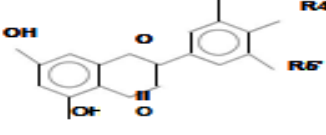
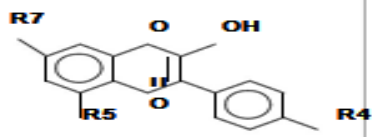
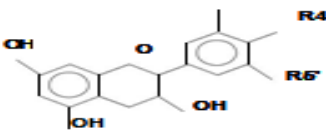
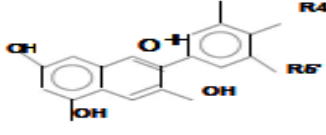
Le monde animal est très concerné par les flavonoïdes dont Brewington *et al* (1974), Lopez et Lindsay (1993) in (Besle *et al*, 2004) ont isolé respectivement quinze et seize composés aromatiques à partir du lait de vache avec respectivement 6 et 5 composés importants dus principalement à la consommation des plantes par les herbivores.

On trouve aussi la chrysine, la quercétine, de la galangine dans les propolis ; sécrétion des bourgeons de nombreux arbres (le bouleau, le sapin, le saule...) récoltés par les abeilles, ces insectes les fabriquent en modifiant la propolis par leurs enzymes salivaires. Les abeilles mettent en œuvre les propriétés antifongiques et antibactériennes des polyphénols pour aseptiser leurs ruches (Lahouel, 2005)

* Le tableau V représente la distribution des principaux flavonoïdes dans certains aliments :

Chapitre II

Tableau 7: Distribution alimentaire des principales classes de flavonoïdes

Flavonoïdes	Exemples	Aliments	Caractéristiques
Flavonols 	Quercétine Kaempférol	Oignon, poireau, brocolis, pommes, chou frisé, vin rouge, thé.	Le groupe le plus abondant des composés phénoliques.
Flavones 	Lutéoline Apigénine	Persil, céleri.	Le groupe le plus abondant des composés phénoliques, les flavones se différencient des flavonols seulement par le manque d'un OH libre en C3, ce qui affecte ainsi leur absorption aux UV, mobilité chromatographique et les réactions de coloration
Flavanones 	Naringénine Eriodictyol	Fruits du genre Citrus.	Sont caractérisés par l'absence de la double liaison C2-C3, le flavanone le plus abondant est la naringénine, isolée pour la première fois à partir des écorces de citruses.
Isoflavones 	Genisteine Daidzéine	Graines de soja et produits qui en dérivent.	Caractérisés par leur variabilité structurale dont l'attachement du cycle B se fait en C3. Ils sont présents dans les plantes sous forme libre ou glycosylée.
Flavan3-ols 	Catéchine Epicatéchine Epigallocatec -hine	Vin rouge, thé noire, thé vert, cacao, chocolat.	Flavan3ols ainsi que flavan3,4diols sont tout les deux impliqués dans la biosynthèse de proanthocyanidines (tanins condensés) par des condensations enzymatiques et chimiques
Anthocyanidines 	Cyanidine Delphénidine	Raisins, vin rouge, certaines variétés de céréales.	Représentent le groupe le plus important des substances colorées, ces pigments hydrosolubles contribuent à la coloration des angiospermes.

Chapitre II

4.2.6. Propriétés des Flavonoïdes :

A / Propriétés antiradicalaires :

Les flavonoïdes sont capables de piéger les radicaux libres en formant des radicaux flavoxyles moins réactifs, cette capacité peut être expliquée par leur propriété de donation d'un atome d'hydrogène à partir de leur groupement hydroxyle selon la réaction représentée ci-dessous :



Cette réaction de piégeage donne une molécule stable (RH) et un radical flavoxyle (FLO•) ce dernier va subir un changement de structure par résonance ; redistribution des électrons impaires sur le noyau aromatique pour donner des molécules de faible réactivité par rapport aux R•; en outre les radicaux flavoxyles peuvent interagir entre eux pour former des composés non réactifs.

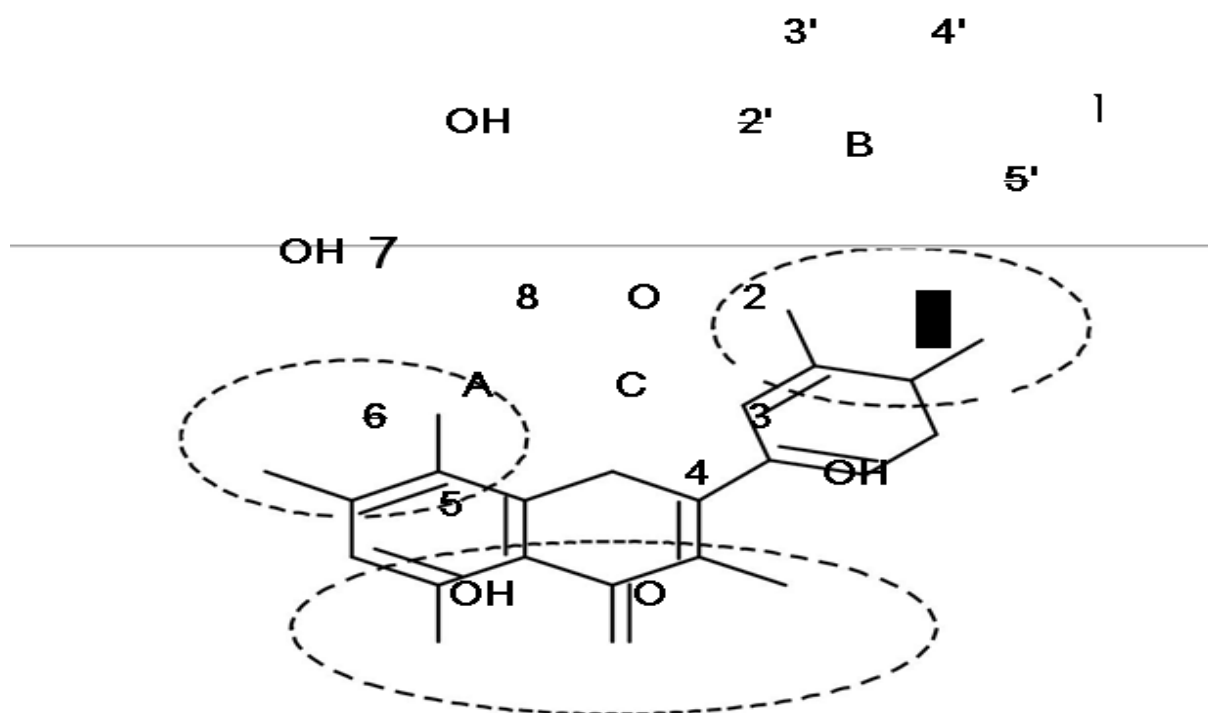
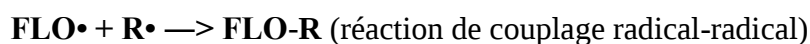


Figure9 : Piégeage des espèces réactives dérivées de l'oxygène (R•) par les flavonoïdes et la formation d'une structure stable

Chapitre II

La propriété antiradicalaire des flavonoïdes est étroitement liée à leur structure, en particulier au phénomène de résonance électronique stabilisant exercé par les noyaux aromatiques, cette activité nécessite :

Structure ortho-dihydroxyphénolique du cycle B (3',4' dihydroxystructure), cette structure est importante pour l'activité antiradicalaire des flavonoïdes possédant un hétérocycle saturé. La double liaison C2-C3 conjuguée avec la fonction 4 oxo qui est responsable de la délocalisation des électrons, en améliorant ainsi la capacité antiradicalaire. Les groupements hydroxyles libres en C3 et C5 (Amić *et al*, 2003)

A titre d'exemple ; la quercétine et la myricétine répondent à tous ces critères nécessaires pour avoir une activité antiradicalaire efficace et importante (Middleton *et al*, 2000)

B / Propriétés chélatrices des ions métalliques :

Les ions métalliques sont nécessaires pour le fonctionnement des processus biochimiques et physiologiques cellulaires, mais dans certains cas et lorsque leur mécanisme d'action n'est pas bien contrôlé ces mêmes ions peuvent être à l'origine d'une peroxydation lipidique, un stress oxydatif, ou une blessure des tissus, à titre d'exemple Cu^{+2} est un stimulateur de la peroxydation des LDL (Tiwari, 2001).

Grâce à leur structure chimique spécifique, les flavonoïdes peuvent facilement chélater les ions métalliques en créant des composés complexes inactifs (Malešev et Kuntić, 2007)

La chélation des ions métalliques nécessite trois sites principaux :

- Site situé entre le groupe 3' OH et le groupe 4' OH du cycle B
- Site situé entre le groupe 3 OH et 4 C=O de l'hétérocycle C
- Site situé entre le groupe 5 OH du cycle A et le groupe 4 C=O de l'hétérocycle C

Chapitre II

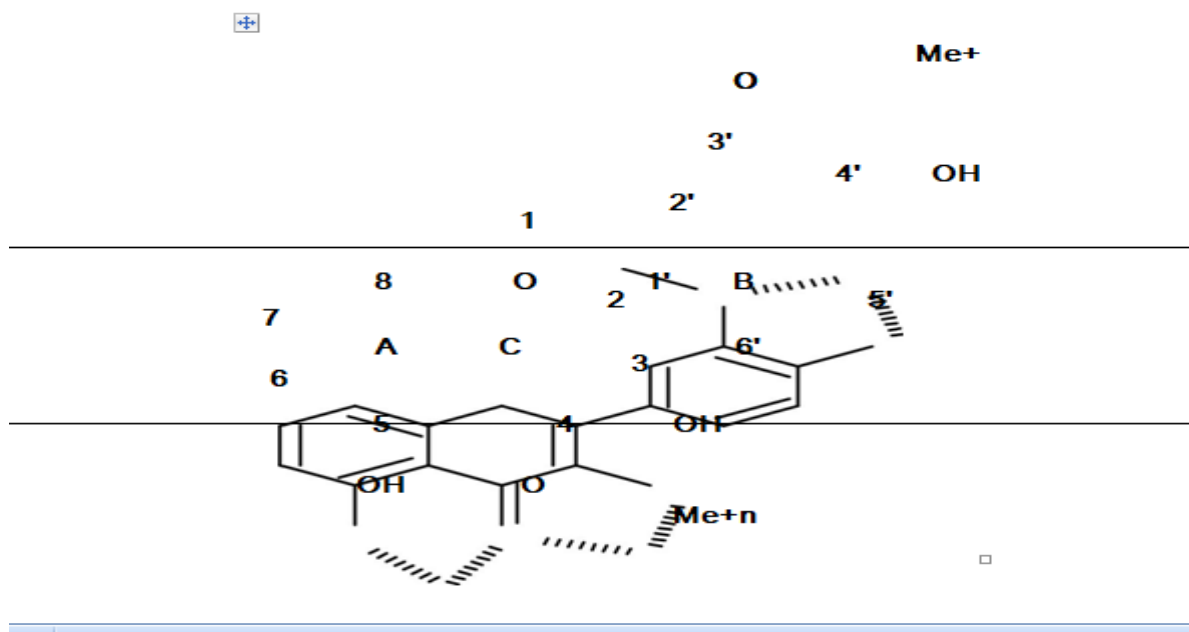


Figure 10 : Principaux sites impliqués dans la chélation des ions métalliques (Me^{+n})

C / Propriétés antibactériennes :

La thérapie des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents a entraîné la sélection de souches multirésistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles voies qui constituent une source d'inspiration de nouveaux médicaments à base des plantes, sous forme de métabolites secondaires dont les composés phénoliques, sont toujours utilisés dans l'industrie alimentaire et cosmétique et comme agents antimicrobiens en médecine populaire.

Les polyphénols notamment les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrolases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhésines microbiens, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire (Cowan, 1999)

D / Propriétés Anticancéreuses :

Le cancer se présente habituellement comme une tumeur formée d'une masse cellulaire qui est le résultat d'une série de transformations pouvant se dérouler pendant plusieurs années, donc la cancérogénèse est un processus complexe multi-séquentiel menant une cellule de l'état sain à un état précancéreux et finalement à un stade précoce de cancer (Pincemail *et al*, 1999)

Depuis longtemps, on associe le cancer et le type d'alimentation, de nombreux chercheurs ont étudié le rôle des nutriments dans le développement des cancers. Plus récemment des

Chapitre II

recherches expérimentales suggèrent que les flavonoïdes sont parmi les substances susceptibles de retarder voire d'empêcher l'apparition de certains cancers, tout en réduisant d'une manière spécifique les risques d'en avoir chez les sujets humains (Decloitre, 1993 ; Hertog, 1996)

Des études montrent que certains flavonoïdes particulièrement ; lutéoline, quercétine, kaempférol, apigénine, taxifoline inhibent d'une façon marquée la lipogenèse des cellules cancéreuses, d'autres flavonoïdes sont plutôt capables d'induire l'apoptose.

Certains flavanols (épigallocatechine-3-gallate) représentent des effets cytotoxiques sur les cellules cancéreuses de prostate, ces effets sont corrélés avec leur capacité à inhiber les enzymes clés lipogéniques i.e. FAS (Fatty Acid Synthase) (Brusselmans *et al*, 2005).

Les travaux réalisés par Mahmoud *et al* (2000) in (Depeint *et al*, 2002) montraient que la curcumine permet de prévenir la formation des tumeurs spontanées induites génétiquement, ce même flavonoïde réduit l'apparition des tumeurs de la peau induites chimiquement. La quercétine et la rutine sont les deux flavonoïdes les plus conseillés pour prévenir l'apparition du cancer de l'appareil gastro-intestinal tandis que l'apigénine avec la quercétine ont la capacité à inhiber la phase de métastase. Toute fois Caltagirone *et al* (2000) in (Depeint *et al*, 2002) signalaient que l'inhibition des différents stades de développement de cancer est plutôt assurée par tous les flavonoïdes.

*L'activité anticancéreuse des flavonoïdes est assurée par l'intervention de plusieurs mécanismes :

piégeage des radicaux libres
Inhibition du métabolisme d'acide arachidonique
Formation d'un complexe inactif avec le carcinogène
(Hertog, 1996) Prévention de l'activation des métabolites carcinogènes
Inhibition de la prolifération des cellules cancéreuses
Arrêt du cycle cellulaire des cellules cancéreuses
Induction de l'apoptose
Inhibition des processus d'angiogénèse
(Renet *et al*, 2003)

E / Propriétés anti Inflammatoires :

Une inflammation par définition est une réaction de défense immunitaire stéréotypée du corps à une agression (infection, brûlure, allergie..) qui se manifeste par une rougeur, un gonflement, une sensation de chaleur, une douleur qui semble pulser ... (Wikipédia, 2008).

Au cours de l'inflammation, des produits bactériens déclenchent la production d'une grande quantité d'oxyde nitrique (NO) dans les macrophages et d'autres cellules sous l'action d'oxyde nitrique synthase inducteur (iNOS) (Hämäläinen *et al*, 2007), bien que la libération de (NO) est très importante pour maintenir la dilatation des vaisseaux sanguins (vasodilatation) mais

Chapitre II

des fortes concentrations peuvent conduire aux dommages oxydatifs (Nijveldt *et al*, 2001), car une fois que le NO est formé il se peut qu'il va réagir avec l'anion superoxyde conduisant

à la formation de peroxynitrite qui provoque l'endommagement des macromolécules cellulaires. Cependant une production en excès de NO durant une inflammation chronique résulte au développement du cancer (Tsai, 2004)

De nombreuses études semblent indiquer que les flavonoïdes possèdent des propriétés anti inflammatoires et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire par inhibition de l'activité des enzymes qui peuvent être responsables des inflammations, ils peuvent aussi moduler l'adhésion des monocytes durant l'inflammation athérosclérotique en inhibant l'expression des médiateurs inflammatoires (González-Gallego *et al*, 2007) d'autres flavonoïdes sont capables d'inhiber l'histamine (Kim *et al*, 2004).

Les flavones et les flavonols sous forme glycosylée ou libre comme la quercétine, kaempférol, myricétine ont une activité inhibitrice de COX (Cyclooxygénase) (Tapas *et al*, 2008)

F / Propriétés Antivirales :

La stratégie de recherche d'un composé antiviral consiste à mesurer la réduction de l'infection virale des cellules en culture, une substance peut agir à différents niveaux du cycle viral :

- au niveau de l'adsorption du virus sur la cellule hôte
- au niveau de la pénétration du virus dans la cellule hôte
- au niveau de la réplication du virus et la synthèse des protéines virales au niveau de l'assemblage et de la sortie du virus hors de la cellule hôte

L'activité antivirale des flavonoïdes contre HIV peut être liée directement par leurs effets sur les enzymes responsables de son réplication (HIV-1 reverse transcriptase ou HIV-1 integrase) par ailleurs d'autres flavonoïdes montraient une activité antivirale contre le virus d'influenza, HIV-1, HIV-2 (Bylka *et al*, 2004). Quercétine, apigénine, catéchine et hespéridine sont parmi les flavonoïdes caractérisés par leurs propriétés antivirales contre onze types de virus. Les flavonoïdes aglycones pourvus d'un groupement hydroxyle libre en C3 ont montré une bonne activité antivirale, les flavanones sont généralement plus efficaces que les flavones et les flavanones contre HIV-1 et HIV-2 (Tapas *et al*, 2008)

Chapitre II

G / Propriétés Antiallergiques :

Ces effets antiallergiques sont attribués à l'influence des flavonoïdes sur la production de l'histamine. En effet, les flavonoïdes inhibent les enzymes, telles que l'AMP cyclique phosphodiesterase et ATPase Ca^{2+} dépendante, responsables de la libération de l'histamine à partir des monocytes et des basophiles. Par exemple, l'ATPase Ca^{2+} dépendante dégrade l'ATP produisant ainsi de l'énergie afin de faciliter l'absorption du calcium par les membranes cellulaires, ce qui favorise la libération de l'histamine stockée dans les vésicules. En inactivant cette enzyme, la quercétine a montré un potentiel d'action supérieur à celui du cromoglycate de sodium utilisé comme médicament en empêchant la libération de l'histamine et d'autres substances endogènes qui causent l'asthme (Marfak, 2003).

H / Les Flavonoïdes Sont des Produits Nutraceutiques :

Le terme nutraceutique a été intervenu en 1979 par Steph De Felice (Lin et Weng, 2006), il s'agit d'une appellation commerciale élaborée par les industriels qui résulte de la contraction de "Nutrition" et de "Pharmaceutique" (Bietrix, 2004). Les nutraceutiques sont des composés qui n'ont pas une valeur calorique mais qui ont un rôle fondamental pour ce qui concerne la prévention de certaines pathologies (Teissedre *et al*, 2007).

Le rôle nutraceutique des polyphénols s'inscrit dans le cadre de ce que l'on appelle la nouvelle pharmacie qui consiste à faire un traitement préventif et non curatif, il vaut mieux que le médicament soit déjà présent dans l'organisme prêt à la défense apporté sous forme des aliments fonctionnels capables de procurer des bienfaits physiologiques démontrés ou de réduire les risques des maladies chroniques, en plus de remplir leurs fonctions nutritionnelles de base dont la consommation des fruits et des légumes riches en composés bioactifs peut être une stratégie de prévention réaliste contre nombreuses maladies majeures. Les produits nutraceutiques fondamentaux des plantes sont les composés phénoliques, particulièrement les flavonoïdes en raison de leurs propriétés bénéfiques sur la santé humaine.

I / Biodisponibilité des Flavonoïdes :

Les effets santé des polyphénols dépendent essentiellement de leur biodisponibilité ; cette dernière qui signifie la part d'un nutriment présent dans un aliment qui est effectivement assimilée par l'organisme (Wikipédia, 2008).

Selon Wiseman (1999) la biodisponibilité absolue (%) correspond à la proportion des molécules qui entrent dans la circulation sanguine sous leur forme intacte après leur consommation en passant à travers la paroi intestinale et le foie.

Chapitre II

a / Absorption : tous les flavonoïdes à l'exception de catéchine (flavanol) sont présents dans les plantes sous forme glycosylée (liés aux sucres par des liaisons β osidiques) seuls les aglycones peuvent être absorbés par l'intestin grêle, tandis que les glycosides sont hydrolysés tout d'abord en aglycones par l'intermédiaire de la microflore colique qui dispose des enzymes capables de cliver les liaisons β osidiques (Wiseman, 1999 ; Urquiaga et Leighton, 2000 ; Ming, 2007), cette même flore microbienne métabolise au même temps les aglycones libérés. Des quantités considérables de catéchines polymériques connus sous le nom de proanthocyanidines sont présents dans l'alimentation, des études montrent que les formes dimères et trimères de catéchine sont susceptibles d'être absorbés tandis que les polymères de degré de polymérisation élevé ne peuvent pas être absorbés par la paroi intestinale qu'après leur dégradation (Hollman, 2001).

b / Métabolisme: deux compartiments considérablement importants pour le métabolisme des composés phénoliques :

□ **les tissus (foie et les reins)** : où des enzymes de biotransformation agissent directement sur les flavonoïdes aglycones ainsi que sur des métabolites coliques absorbés, ces enzymes sont principalement localisés au niveau du foie, des reins, ainsi qu'au niveau de l'intestin grêle.

□ **Colon** : où la microflore colique dégrade les flavonoïdes aglycones libérés (après hydrolyse des glycosides) par ouverture de leur hétérocycle aux différents endroits selon le type de flavonoïde concerné :

Les flavonols : sont dégradés en acides phénylacétiques et acides phénylpropioniques
Les flavanols : produisent les valérolactones (noyau benzénique avec une chaîne latérale de cinq atomes de carbones) et des acides phénylpropioniques

Les flavones et les flavanones : produisent des acides phénylpropioniques Ces acides sont encore métabolisés aux dérivés des acides benzoïques, les groupements hydroxyles des métabolites générés subissent une conjugaison par acide glucuronique, sulfate, ou par glycine (Hollman, 2001). L'élimination des métabolites de polyphénols se fait par deux voies essentielles d'excrétion ; soit par voie biliaire (Manach, 1998) ou par voie urinaire

Chapitre II

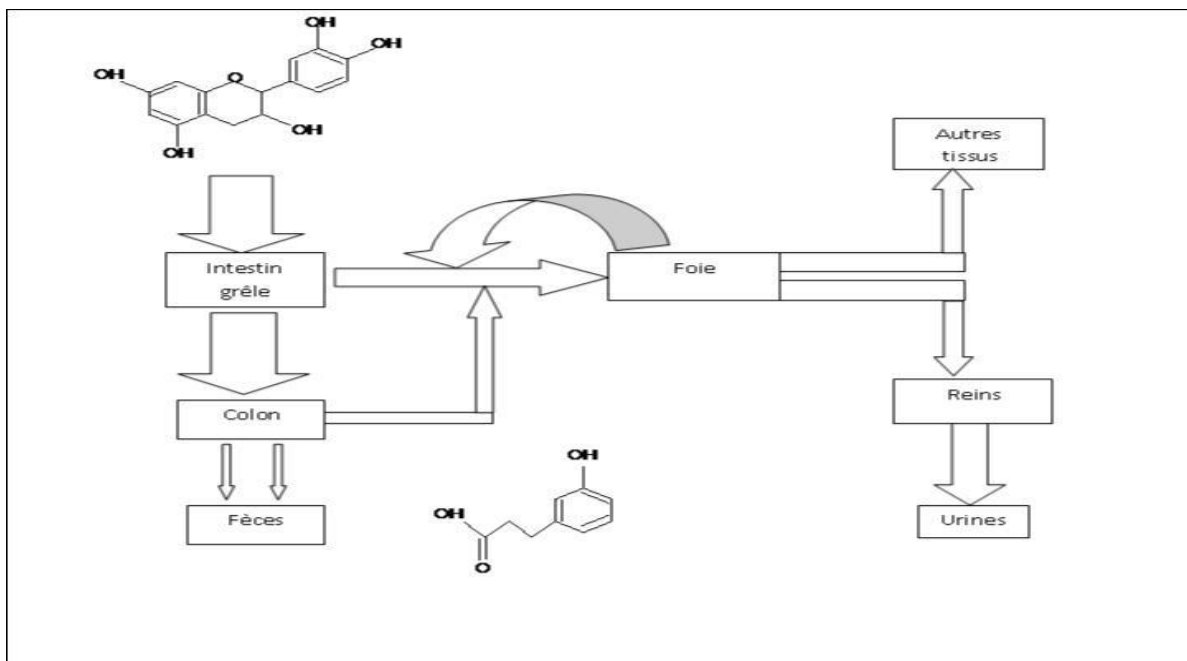


Figure 11: Principaux compartiments impliqués dans le métabolisme des flavonoïdes

G/ Autres Propriétés des Flavonoïdes :

Protection des plantes contre les radiations UV Sont impliqués dans les processus de défense de la plante contre les infections bactériennes et virales Agissent comme des pigments ou des co-pigments Modulation de la distribution d'auxine Fonctionnent comme des signaux moléculaires de reconnaissance entre les bactéries symbiotiques et les légumineuses afin de faciliter la fixation de l'azote moléculaire Régulation de l'élongation des tiges Interviennent dans la maturité des fruits Sont à l'origine des goûts amers et astringents afin de repousser les animaux herbivores (Park et Cha, 2003 ; Subsamanian *et al*, 2007 ; Yang *et al*, 2008).

5 .Activité Antioxydante :

L'oxydation fait partie d'une réaction d'oxydo-réduction qui transfère des électrons d'une substance vers un agent oxydant. Cette réaction peut produire des radicaux libres qui entraînent des réactions en chaîne destructrices. Les antioxydants sont capables de stopper ou de retarder ces réactions en chaîne en se réduisant avec les radicaux libres et annihilant ainsi leur action. Ces propriétés sont beaucoup rencontrées dans les familles des thiols et des phénols.

La protection contre les effets délétères induits par les radicaux oxygénés s'effectue à l'aide de trois types d'agents différents: les protéines non enzymatiques, les enzymes tels que le superoxyde-dismutases et les glutathion-peroxydases et enfin les antioxydants d'origine nutritionnelle tels que les caroténoïdes, les tocophérols (vitamine E), l'acide ascorbique (vitamine C) et les polyphénols qui sont des antioxydants essentiels pour l'homme.

5.1 .Radicaux Libres :

A. Définition :

Un radical est une molécule ou un fragment moléculaire qui contient un électron non apparié. De par sa structure particulière, il a tendance à attirer les électrons d'autres atomes et molécules pour gagner sa stabilité. Plusieurs éléments peuvent être à l'origine de radicaux libres. Les sources des radicaux libres sont nombreuses

B. Origine des radicaux libres :

Ils sont produits par divers mécanismes physiologiques afin de détruire des bactéries au sein des cellules phagocytaires (macrophages, polynucléaires) ou pour réguler des fonctions cellulaires létales telle la mort cellulaire programmée ou apoptose.

Toutefois, au contact entre l'oxygène et certaines protéines du système de la respiration, une production d'anions superoxydes se produit lors du fonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale.

Des sources importantes de radicaux libres sont les mécanismes de cycles redox que produit dans l'organisme l'oxydation de molécules comme les quinones. Ce cycle redox a lieu soit spontanément, soit surtout lors de l'oxydation de ces composés au niveau du cytochrome.

Les rayonnements UV sont capables de générer des radicaux libres et les particules inhalées (amiante, silice) sont aussi des sources de radicaux libres.

L'ingestion d'alcool est suivie de la formation de radicaux libres selon divers mécanismes, également des antibiotiques, des anticancéreux l'infection au VIH a pour effet d'accroître la production de radicaux libres dans l'organisme .

Chapitre II

C. Nature des radicaux libres :

C.1 Espèces réactives dérivées de l'oxygène (ERO)

L'oxygène doit sa grande réactivité à sa structure particulière. En effet, il possède deux électrons célibataires non appariés sur sa couche orbitale externe. Cette molécule est essentielle au bon Fonctionnement de l'organisme

- Ion Superoxyde :

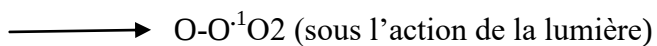
L'ion super oxyde ($-O_2^{\cdot-}$) est un dérivé très réactif de l'oxygène, relativement stable, il n'est pas très toxique pour l'organisme, mais il est à l'origine de cascades de réactions conduisant à la production de molécules très nocives

- Radical libre hydroxyle :

Le radical libre hydroxyle ($OH^{\cdot}$) est très réactif. Il peut réagir avec de nombreuses molécules comme l'ADN, les glucides, les nucléotides, les protéines et être à l'origine de lésions de nécrose. C'est un dérivé de l'ion super oxyde

- Oxygène singulet

Lorsque de l'énergie est apportée à l'oxygène, celui-ci passe à l'état singulet 1O_2 qui représente la forme activée. C'est une forme très énergétique de grande réactivité qui peut oxyder de nombreuses molécules. Il est formé à partir de l'ion superoxyde selon la réaction suivante :



C.2 Espèces libres non oxygénées

Les espèces libres non oxygénées sont les produits des réactions de certaines molécules avec les espèces réactives dérivées de l'oxygène.

Ils peuvent à leur tour réagir avec d'autres molécules et être à l'origine de la multiplication des réactions d'oxydation et de la propagation de dommages oxydatifs. Nous citerons, par

Exemple :

Les acides gras peroxydés, résultats de l'action des espèces oxygénées sur les membranes biologiques.

Les fractions protéiques, les acides aminés et les acides nucléiques peuvent aussi réagir avec les ERO générant des molécules réactives et nocives .

5.2. Antioxydants :

a- Définition :

Un antioxydant est une molécule qui diminue ou empêche l'oxydation d'autres substances chimiques. Toute substance qui, en faible concentration par rapport au substrat susceptible d'être oxydé, prévient ou ralentit l'oxydation de ce substrat. C'est une molécule qui est capable de neutraliser les formes actives de l'oxygène et permet de maintenir au niveau de la cellule et de l'organisme des niveaux non cytotoxiques de radicaux libres.

b- Utilisation des Antioxydants :

➤ Dans l'industrie chimique: l'antioxydant est utilisé pour éviter le durcissement du caoutchouc par contre en métallurgie pour protéger les métaux de l'oxydation.

➤ Dans l'industrie agro-alimentaire: Il est employé pour éviter le rancissement des corps gras.

➤ Dans l'industrie teinturerie: on l'utilise pour éviter l'oxydation des colorants lors de la teinture.

c- Classification des Antioxydants

Les antioxygènes sont classés dans trois catégories différentes:

1. Les antioxygènes de synthèse
2. Les substances synergiques
3. Les antioxygènes d'origine végétale.

c.1 Antioxygènes de Synthèse

Les antioxydants de synthèse englobent toutes les formulations contenant des corps gras insaturés et parfois aussi dans des phases aqueuses où se trouvent des extraits végétaux riches en oxydases. Leur concentration d'utilisation est généralement dix fois plus faible que celle des conservateurs et se situe entre 0,02 et 0,05 %. Ce sont:

- Le butylhydroxytoluène (BHT)
- Le butylhydroxyisole (BHA)
- Les gallates de propyle, octyle et de dodécyle.

Chapitre II

c-2 Substances Synergiques

Ce sont des molécules qui améliorent l'action de certains antioxydants, ce qui se traduit souvent par un accroissement de la période de protection; parmi eux on distingue l'acide lactique, tartrique et orthophosphorique et leurs sels de sodium, potassium ou calcium. Leurs propriétés peuvent s'expliquer par effet chélatant de métaux comme le fer ou cuivre dont on connaît bien l'effet pro-oxydant à faible dose. Cependant, ce n'est peut-être pas la seule explication car plusieurs de ces produits sont d'assez mauvais chélatants.

c-3 Antioxygènes D'origine Végétale :

Les plantes constituent des sources très importantes d'antioxydants. Les antioxydants naturels dont l'efficacité est la plus reconnue aussi bien dans l'industrie agroalimentaire que pour la santé humaine sont : les tocophérols, les caroténoïdes et les polyphénols.

- Tocophérols :

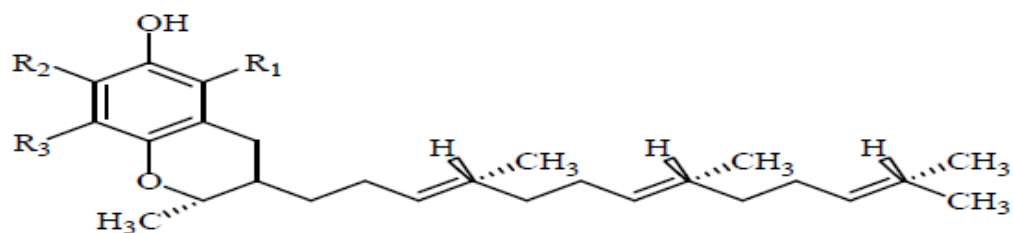
La grande stabilité des huiles végétales, dans la condition d'oxydation, est due à la présence d'un taux élevé d'antioxydants naturels dont les plus importants sont les tocophérols qui se présentent sous formes isométriques: α , β , δ , γ à titre d'exemple la vitamine E.

Les tocophérols protègent contre l'oxydation naturelle des acides gras, en particulier les acides gras polyinsaturés (AGPI) où une molécule de tocophérol peut protéger 103 à 106 molécules d'AGPI. Son activité anti-oxydante repose principalement sur l'existence du système de réduction tocophéro–tocophérylquinone. En effet, une molécule de tocophérol peut réduire deux radicaux lipidiques en formant une molécule de l' α -tocophérylquinone. En revanche, deux radicaux tocophérols peuvent s'associer entre eux pour former des dimères qui peuvent avoir des propriétés antioxydantes.

La vitamine E est un antioxydant majeur liposoluble, c'est un composé amphiphile, capable de s'insérer dans les membranes cellulaires: globules rouges, cellules musculaires, neurones (c'est le sel antioxydant du système nerveux central).

Il existe dans la nature plusieurs dérivés de la vitamine E à activité différente (α -, β -, γ -, δ - tocophérol, tocotriénol, ...) qui se différencient par les substituants du noyau chromanol qui est un noyau benzyle associé à un hétérocycle à six carbones substitués par une chaîne latérale ramifiée, si elle est saturée il s'agit de tocophérol, si elle est insaturée il s'agit de tocotriénols, la figure 8 montre la structure des composés à action vitaminique E.

Chapitre II



Nom	R1	R2	R3
α -tocophérol	Me	Me	Me
β -tocophérol	Me	H	Me
γ -tocophérol	H	Me	Me
δ -tocophérol	H	H	Me

Figure 12: Structure des composés à action vitaminique E (tocophérols).

- Caroténoïdes :

Les caroténoïdes sont avec la chlorophylle et les anthocyanes, les pigments les plus répandus dans la nature. A ce jour, plus de 600 caroténoïdes ont été identifiés, mais seule une quarantaine est retrouvée régulièrement dans l'alimentation humaine. Une trentaine de caroténoïdes, et selon leurs métabolites, ont été identifiée dans le plasma et les tissus humains mais 6 caroténoïdes sont majoritaires: le β -carotène, le lycopène, la β -cryptoxanthine, l' α -carotène, la zéaxanthine, et la lutéine. Le plus important est le plus connu des caroténoïdes est le β -carotène. Dans la figure 13 sont données les structures des principaux caroténoïdes

Chapitre II

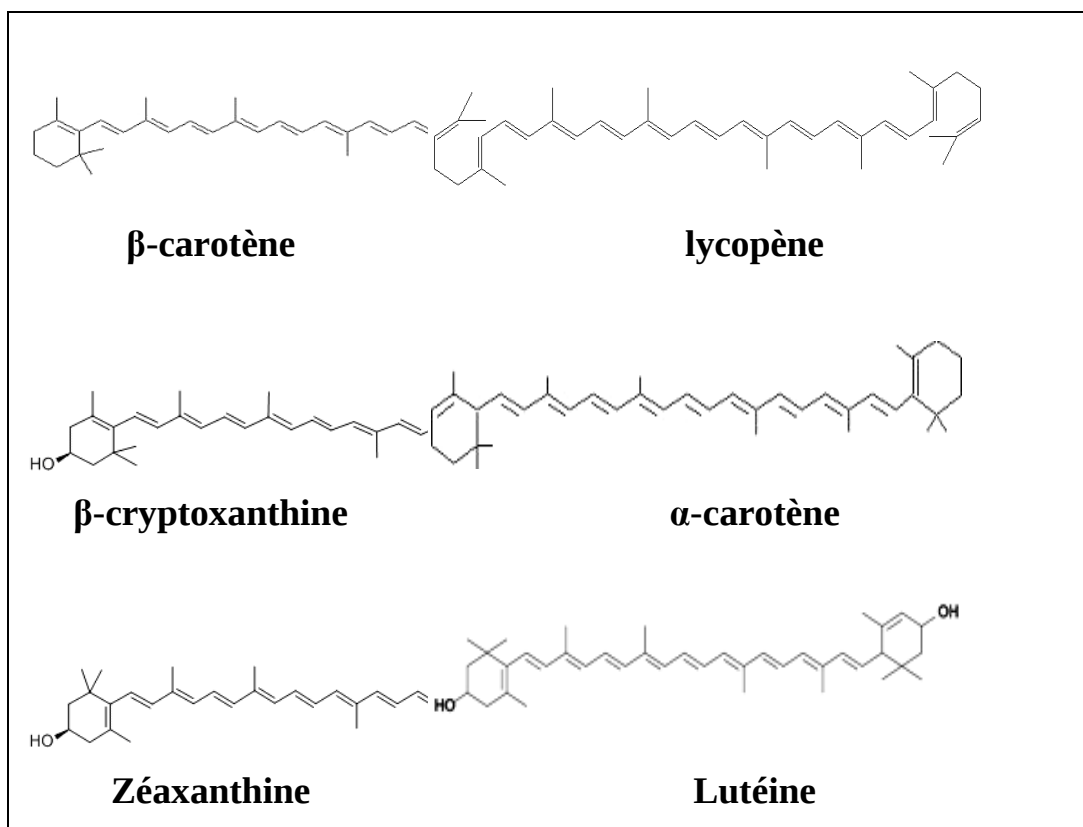


Figure 13: Structure des principaux caroténoïdes.

- les Polyphénols :

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont constitués de trois grandes catégories: les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins. Ils ne sont pas rencontrés dans la nature à l'état libre mais sous forme d'esters ou plus généralement sous forme d'hétérosides.

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes qui se différencient d'abord par la complexité du squelette de base (allant d'un simple C₆ à des formes très polymérisées). Ensuite par le degré de modification de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation et méthylation, etc...). Enfin par les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines, etc...).

Chapitre II

d- Mécanismes D'action des Antioxydants :

Il y a deux options pour retarder la réaction d'oxydation:

- Soit intercepter les radicaux libres responsables de la réaction en chaîne
- Soit éviter la décomposition des hydroperoxydes dans les radicaux libres.

Ces deux options fournissent la base de classification des antioxydants sous forme primaire ou secondaire selon le mécanisme d'action .

d.1 Antioxydants Primaires :

Les antioxydants primaires ou distributeurs de chaîne sont caractérisés par la possession d'atomes d'hydrogènes faibles à soustraire. Ces antioxydants jouent le rôle d'évacuateurs de radicaux. Dès lors qu'ils fonctionnent au stade de la propagation, leur action est essentiellement palliative. On notera bien que les antioxydants primaires sont consommés au cours de la transformation des phénols dont l'activité stérique est réduite. La figure 14 montre une stabilisation d'un radical hydroperoxyde (ROO°) par un phénol qui est l'hydroxytyrosol.

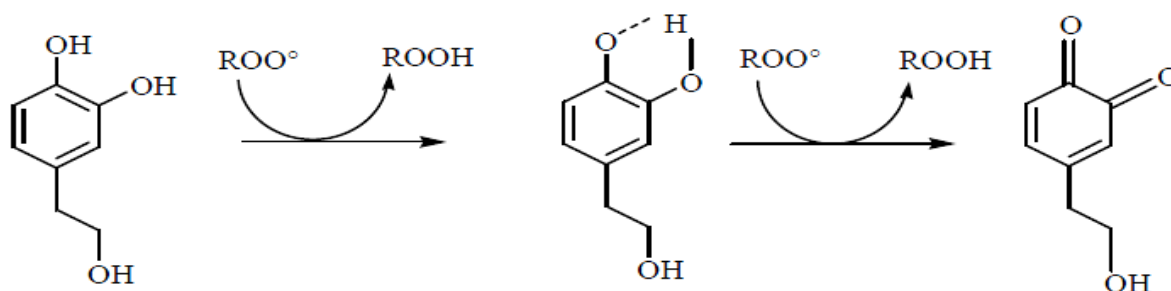


Figure 14: Stabilisation de radicaux par l'hydroxytyrosol.

d.2 Antioxydants secondaires :

Ils fonctionnent au moyen de la décomposition des hydroperoxydes en produits inertes et évitent ainsi ou ralentissent le taux d'initiation de la chaîne. Pour cette raison, on fait parfois référence aux antioxydants secondaires sous le nom d'antioxydants préventifs. Les antioxydants secondaires sont presque toujours utilisés en conjonction avec les antioxydants primaires, ils sont connus également sous le nom d'agents synergiques. Les phosphites et les triesters constituent les deux types chimiques les plus importants au sein de cette catégorie

Chapitre II

e- Efficacité des antioxydants :

Les antioxydants les plus efficaces sont ceux qui ont les énergies de liaison les plus faibles au niveau du groupe donneur d'hydrogène. L'efficacité des antioxydants phénoliques est due en particulier à la stabilisation des radicaux phénoxyliques par la délocalisation également du nombre de fonction OH hydrogène labile

f- Effet des antioxydants sur la santé humaine :

Lors de la photosynthèse, les plantes fabriquent des substances anti-oxydantes pour se protéger des effets délétères des radiations solaires. Par conséquent, des vitamines (C, E, caroténoïdes) et enzymes (catalases, peroxydases) sont synthétisées. De plus, ces plantes élaborent des flavonoïdes qui préviennent l'oxydation. Ces substances jouent deux rôles au niveau de la plante: celui d'un filtre solaire et celui d'un antioxydant vis-à-vis des radicaux libres par les radiations. Tous ces antioxydants sont directement assimilables par notre organisme quand on consomme des végétaux ou des produits dérivés de ceux-ci. Il existe une forte corrélation entre la consommation de légumes et de fruits et une moindre incidence des maladies cardio-vasculaires et les cancers. Les antioxydants végétaux ont des propriétés protectrices en matière de vaisseaux sanguins, leurs vertus antiviellissement et leurs implications probables dans la prévention des pathologies liées au stress oxydatif. Les potentiels antioxydants comparés celui de la vitamine E, les plus élevés pour les fruits et légumes sont respectivement ceux de la fraise et l'ail

6. Activité Antibactérienne:

L'activité antibactérienne est évaluée par la méthode de l'aromatogramme. C'est est une méthode de mesure *in vitro* du pouvoir antibactérien des huiles et des polyphénols et c'est l'équivalent d'un antibiogramme où les antibiotiques sont remplacés par les des huiles et des polyphénols

❖ Principe de la méthode :

C'est une méthode de mesure *in vitro* du pouvoir antibactérien de ou des principes actifs naturels qui consiste à déterminer le spectre d'activité de ces composés sur des espèces bactériennes pour essayer de vérifier la sensibilité ou la résistance des germes pathogènes vis-à-vis de ces principes actifs isolés.

Chapitre II

Un disque (6 mm de diamètre) imprégné du produit à tester (huiles fixes et polyphénols) est placé sur une gélose (4 mm d'épaisseur; dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre) préalablement inoculée avec la souche, s'humidifie et le produit diffuse radialement du disque dans la gélose en formant ainsi un gradient de concentration. Après une incubation de 18 à 24 heures à une température de 37°C. Si le produit est toxique pour la bactérie, il se forme un halo ou une zone autour du disque. Plus grande est cette zone, plus la bactérie est sensible. Des disques témoins (eau distillée stérile) et des disques de comparaison (antibiotique) sont inclus dans les essais.

❖ Suspensions bactériennes :

A partir des cultures bactériennes préalablement réactivées sur milieu Mueller-Hinton (MH) à une température de 37°C pendant 24 heures, des suspensions bactériennes sont préparées dans de l'eau physiologique et homogénéisées de façon à obtenir une concentration de l'ordre de 10⁶ à 10⁸ C.F.U/ml. Après ensemencement des bactéries, les disques imprégnés du produit à tester sont appliqués.

✓ Pour la détermination de l'action antibactérienne des huiles et des polyphénols de la *NigellaSativa*. On a choisie trois souches suivants

Klebsiellapneumoniae:

La *Klebsiellapneumoniae* de la famille des entérobactéries a gram négatif est naturellement présente au niveau de certains organes comme le tube digestif ou les poumons, mais son action est bien contrôlée par l'organisme, d'où l'absence d'infection

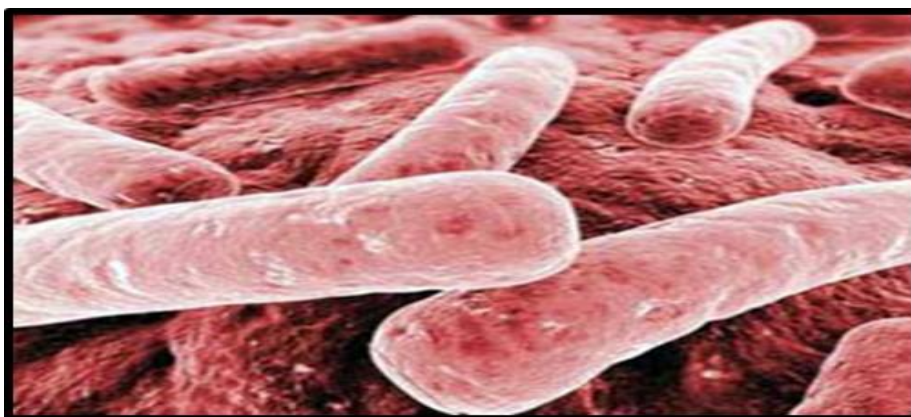


Figure 15: Vue de la bactérie Klebsiellapneumoniae au microscope électronique

Chapitre II

Staphylococcus aureus :

Les staphylocoques sont des bactéries de type cocci à Gram positif, qui se retrouvent fréquemment chez les personnes en bonne santé, habituellement dans la muqueuse du nez. La bactérie peut ensuite coloniser d'autres régions, via les mains, et en particulier les parties humides du corps comme les aisselles ou la zone génitale



Figure 16: Vue de la bactérie Staphylococcus aureus au microscope électronique

Pseudomonas aeruginosa:

Bactéries de la famille des Pseudomonadaceae, mises en évidence par la coloration Gram négatif, aérobies strictes. Ce sont des bactéries ubiquitaires ou ubiquistes, vivant à l'état libre et opportuniste (normalement présentes chez un individu et qui deviennent pathogènes lors d'un affaiblissement des défenses de l'organisme)



Figure 17 : Vue de la bactérie

Chapitre III :

Matériels et Equipements

1. Matériels et Equipements :

Produits :

Echantillon étudié : les Grains de Nigella sativa de la région de l'Arabie saoudite connue sous le nom habbat albaraka.

- Chlorhydride d'Aluminium (AlCl_3)
- Hexane C_6H_{14}
- Méthanol CH_3OH
- Ethanol $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$
- Acide ascorbique $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$
- Acide gallique $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$
- Acide sulfurique H_2SO_4
- Acide orthophosphorique (H_3PO_4) (2%)
- Catéchine $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$
- Folin (solution)
- DPPH
- Carbonate de Sodium (Na_2CO_3)
- sulfate d'ammonium ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) (20%)
- Sulfate de sodium (NaSO_4)
- Acétate d'éthyle $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$
- Phosphate de sodium Na_3PO_4
- Molybdate d'ammonium $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$

Verrerie :

- Béchers.
- Micro pipettes de capacité 100 μl et 1000 μl .
- Eprouvettes de capacité 10, 50 et 300 ml.
- Spatule.
- Cuvette
- Entonnoirs
- Pipettes de capacité 1 et 2 ml
- Pro-pipette



Figure 18 :Montage d'extraction à chaud (solide –liquide) des lipides

1.1. Détermination des Indices Physicochimiques :

Nous avons déterminé quelques indices chimiques qui caractérisent les matières grasses en utilisant les normes AFNOR (Association Française de Normalisation) (AFNOR, 1984). Ces indices permettent de faire quelques estimations sur les masses moléculaires moyennes des acides gras et des triglycérides déterminés par l'indice de saponification (I.S) et sur la teneur en acides gras libres par la détermination de l'indice d'acide (I.A). Nous avons également déterminé la teneur de l'huile en matières insaponifiables et quelques caractéristiques physiques telles que l'indice de réfraction et la densité.

➤ Indice d'acide (I.A)

L'acidité est le pourcentage d'acides gras libres contenus dans un corps. L'indice d'acide représente le nombre de milligramme d'hydroxyde de potassium nécessaire pour neutraliser les acides gras libres dans 1g de corps gras. Il est exprimé en mg/g

a. Principe :

Le principe de la détermination de l'acidité d'une huile consiste en un dosage acido-basique correspondant à la neutralisation dont le schéma réactionnel est le suivant.



Chapitre III

b. Mode opératoire:

Dissoudre la prise d'essai 0.5 g d'huile dans 5 ml du solvant organique hexane. Titrer, en agitant avec la solution éthanoïque d'hydroxyde de potassium à 0,1 mol/l jusqu'au virage de l'indicateur (coloration rose de la phénolphthaléine persistant durant au moins 10 secondes).

c. Expression des resultants:

$$AI (\%) = \frac{V \cdot N \cdot 56,1}{M}$$

N: normalité de la solution éthanolique de KOH

V: volume de la solution éthanolique de KOH exprimé en ml
m: masse de la prise d'essai d'huile en gramme
56,1: masse molaire de KOH

➤ Indice de saponification (I.S) :

La détermination de l'indice de saponification est réalisée par la norme (**AFNOR. NF T60-206**). Une quantité d'un gramme d'huile est saponifiée à reflux par 25 ml de KOH éthanolique (0,5N) pendant une heure. L'excès du KOH est neutralisé par de l'acide hydrochlorique (0,5N) en présence de phénolphthaléine comme indicateur coloré. Un essai à blanc est réalisé dans les mêmes conditions sans l'huile. L'indice de saponification est calculé par la relation décrite dans le chapitre I.

➤ Indice d'estérification :

La transestérification des huiles végétales est la méthode la plus couramment utilisée pour la fabrication des EMAG. Le produit de la réaction est un mélange d'esters qui va dépendre de la composition en acide gras de l'huile végétale.

➤ La transestérification est la réaction d'un ester (triglycéride) avec un alcool en présence d'un catalyseur alcalin (p. ex. hydroxyde de sodium, méthylate de sodium), comme le montre l'équation présentée à la figure 19

Chapitre III

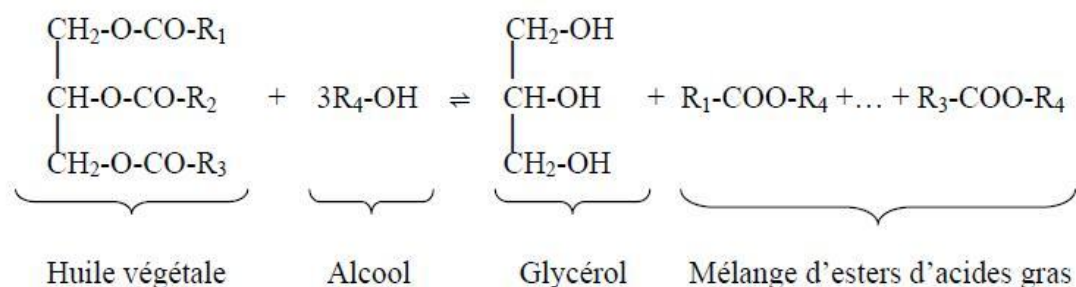


Figure 19: Réaction de transestérification d'une huile végétale

On prend un volume de 20µl d'huile, on introduit dans un tube à essai et on ajoute le 40 µl de potasse méthylique 2M et 200 µl de l'hexane. Agiter le mélange et laisser décanter. On observe la formation de deux phases l'une organique et l'autre aqueuse, conduits à la formation des esters méthyliques qui se rassemblent dans la phase organique.

➤ **La densité d²⁵**

A une température ambiante, un volume précis de corps gras a été pesé. La masse de ce dernier est divisée par la masse du même volume d'eau à la même température (25 °C).

Indice d'iode

L'indice d'iode est la masse d'iode en gramme nécessaire pour saturer les doubles liaisons continues dans 100 g de matière grasse. Il est déterminé selon la méthode de Wijs

a. Principe de la méthode:

On introduit une quantité de réactif de Wijs en excès avec une masse d'huile connue avec précision, ce réactif s'additionne quantitativement sur les insaturations

Le réactif de Wijs qui n'est pas fixé sur les doubles liaisons, est détruit lors de l'addition d'une solution d'iodure de potassium pour former la molécule diode (I₂). Le titrage du diode par la solution de thiosulfate, permet de connaître la quantité de matière d'ICl. On réalise:

- Le titrage d'un témoin sans huile ou titrage à blanc
- Le titrage après réaction de l'échantillon

b. Expression des résultats:

$$II = 12,69.N.(V_0 - V)/m$$

II: l'indice d'iode

V₀: Volume de Na₂S₂O₃ pour l'essai à blanc en ml

V : Volume de Na₂S₂O₃ exprime en ml

m: masse de la prise d'essai en gramme

N: normalité de Na₂S₂O₃

Chapitre III

1.2. Indice de Saponification :

a. Principe

L'indice de saponification est le nombre en milligrammes de potasse caustique (KOH), nécessaire pour transformer en savon les acides gras et les triglycérides d'un gramme de corps gras selon la réaction de la figure 20

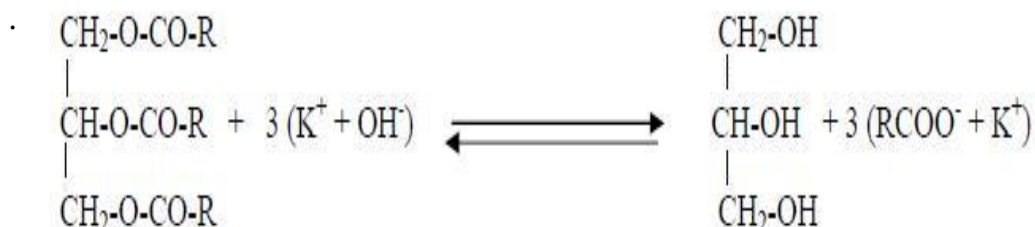


Figure 20: Réaction de saponification d'acide gras.

- ☐ Le principe de la Saponification de l'huile par une solution alcoolique de potasse.
- ☐ Titrage de l'excès de la potasse par une solution aqueuse d'acide chlorhydrique.

b. Expression des résultats:

$$\text{IS} = \frac{(V_0 - V) \cdot T \cdot 56,1}{M}$$

V_0 : volume en ml de la solution HCl utilisé pour l'essai à blanc

V : volume en ml de la solution HCl utilisé par la neutralisation de l'excès de potasse m:
masse d'huile en gramme

T :Titre exact de la solution HCl utilisé.

1.3. Indice de Réfraction :

L'indice de réfraction est le rapport de la vitesse de la lumière dans l'air à sa vitesse dans la substance examinée. Il est défini comme le sinus de l'angle d'incident divisé par le sinus de l'angle de réfraction lorsque le rayon lumineux passe de l'air dans la substance. La figure 21 représente l'état de la lecture de la valeur de cet indice sur le réfractomètre.

Chapitre III

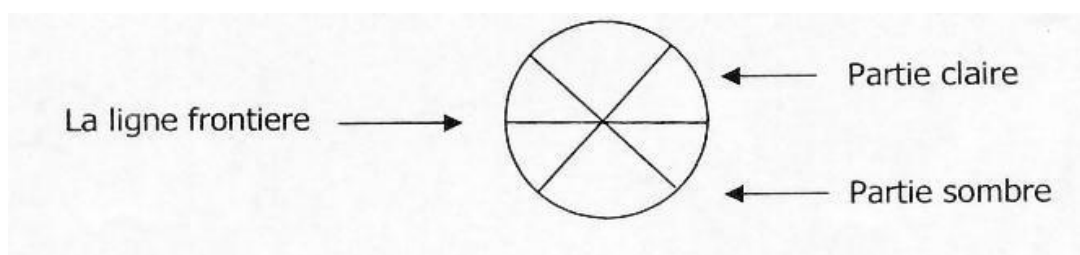


Figure 21: Présentation de la lecture de l'indice de réfraction.

1.4. La Densité :

La densité ou densité relative d'un corps est le rapport de sa masse volumique à la masse volumique d'un corps pris comme référence. Le corps de référence est l'eau pure à 4 C pour les liquides et les solides.

a. Expression des résultats:

$$D = \frac{\rho_{\text{huile}}}{\rho_{\text{eau}}}$$

ρ_{HUILE} est la masse volumique du huile, et ρ_{EAU} est la masse volumique d'eau de référence

Préparation et analyse des FAME dans l'huile

Quarante milligrammes d'huile ont été méthylés avec 3 mL de 60 g de L-1 HCl dans du méthanol à 75-80 ° C pendant 2 heures. Les FAME ont été extraits avec 2 mL d'hexane et séchés sur sodium sulfate [21]. Un microlitre des FAME a été analysé avec un chromatographe en phase gazeuse série Agilent 7890 (Agilent Company) équipé d'un détecteur à ionisation de flamme et d'un 7683B injecteur automatique. Un capillaire de silice fondue DB23 colonne (60 m 9 0,25 mm i.d, épaisseur de film 0,25 μm ; J & W Scientific, Folsom, CA) a été utilisé. La température du four a été programmée comme suit: 140 C pendant 5 min, augmenté à 240 C à 3 C min^{-1} , et conservé à 240 C pour 10 minutes. Les températures de l'injecteur et du détecteur étaient maintenu à 250 C, le gaz porteur était de l'hélium, le débit était 30 ml min^{-1} , et le ratio de séparation était de 1/30. Identification FAME était basé sur les temps de rétention par rapport avec ceux du mélange standard FAME. Les résultats étaient exprimé en pourcentage de la surface du pic sans aucune correction. L'analyse des acides gras a été effectuée en triple pour chaque échantillon.

Chapitre III

Analyse du tocophérol :

La composition du tocophérol des échantillons a été déterminée décrit par Karabulut et al HPLC en phase normale a été utilisé pour analyser les tocophérols en utilisant un ThermoFinnigan Système HPLC intégré avec un échantillonneur automatique régulateur de température pour la colonne (SpectraSystemAS3000), un système de dégazeur (SpectraSystem SCM1000), et une pompe à gradient quaternaire (SpectraSystem P4000)

(ThermoFinnigan, San Jose, CA). La chromatographique séparation a été réalisée avec une colonne Luna Silica (250 mm 9 4,6 mm, 5 μ m; Phenomenex, Torrance, CA), et la température de la colonne maintenue à 30 C. Séparation des tocophérols était basé sur l'élution isocratique avec n-hexane: isopropanol (99: 1) à 1 ml min⁻¹. L'injection le volume des échantillons était de 20 μ l. L'éluat a été surveillé à 292 nm en utilisant un SpectraSystem UV6000LP détecteur de photodiode-array (ThermoFinnigan, San Jose, CALIFORNIE). Les composés ont été identifiés en comparant leur les temps de rétention et les spectres UV avec des normes authentiques. Les tocophérols ont été quantifiés en fonction des zones de pics comparés avec des normes externes. L'analyse du tocophérol a été effectuée en triple pour chaque échantillon.

Dosage des Stérols par UV-visible :

Ils s'agit d'une absorption spectrophotométrique suivant le test de Liebermann-Burchard (**Naudet et Hautfenne., 1986 ; Barreto., 2005**), basé sur une réaction colorée spécifique des 3 β -hydroxystéroïdes possédant une double liaison en position 5-6. les stérols forment un complexe stable avec l'anhydride acétique en milieu acide qui absorbe dans le visible à une longueur d'onde de 550 nm. (le réactif spectral de Liebermann est constitué par 60 ml d'anhydride acétique et 10 ml d'acide sulfurique concentré et 30 ml d'acide acétique).

A partir d'une solution chloroformique du cholestérol, de concentration 1g/l, nous avons préparé une série de gamme de solutions afin de tracer une courbe d'étalonnage liant la densité optique en fonction de concentration. On prend 1ml de chaque solution et on ajoute 2ml du réactif de Liebermann puis on laisse la coloration se développe et se stabilise pendant 25 min. On mesurant l'absorbance à 550 nm de chaque solution, nous obtenons la courbe d'étalonnage. Les échantillons sont traités de la même manière et la teneur en stérol sera déterminée à partir de la courbe d'étalonnage.

Extrait méthanolique de l'huile de *Nigelle Sativa L*

Un gramme d'échantillon d'huile et 1 ml de méthanol à 80% ont été mélangés un tube eppendorf et agité avec un mélangeur vortex pendant 1 min. Les échantillons ont été centrifugés à 3000 tr / min pendant 5 min et la phase méthanolique a été prise. Un millilitre frais 80% de méthanol a été ajouté et l'extraction a été répétée trois fois, supérieures phases ont été combinées et lavées avec trois portions de 2 ml de n-hexane pour éliminer les résidus d'huile. La solution méthanolique finale a été utilisée pour la teneur totale en composés phénoliques et analyses HMF. **Dosage des polyphénols par HPLC**

Analyse de HMF L'analyse de HMF dans des échantillons d'huile a été réalisée conformément à méthode décrite récemment ailleurs .L'extrait méthanolique a été injecté sur une HPLC Agilent 1100 système (Waldbronn, Allemagne) constitué d'une pompe quaternaire, un auto-échantillonneur, un détecteur à barrette de diodes et un thermocontrôleur four à colonne. Les séparations chromatographiques étaient effectuée sur la colonne Atlantis dC18 5 μ m (250 $\times$ 4,6 mm ID) en utilisant le mélange isocratique de solution aqueuse d'acide formique 10 mM et acétonitrile (90:10, v / v) à un débit de 1,0 ml / min à 25 ° C. Les données d'acquisition ont été effectuées acquérant des chromatogrammes à une détection longueur d'onde de 285 nm.

2. Extraction des Polyphénols:

Nous avons utilisé la même méthodologie d'extraction et de purification décrite par M.G.L. HERTOOG (1992) comportant trois sous étapes :

a) **Macération :**

On pèse 5g des graines de *Nigella sativa* préalablement nettoyées et broyées, ajoutant 100ml d'un mélange (méthanol/eau) de différents pourcentages (V/V) : (80/20) puis (70/30) et puis (90/10), ces mélanges sont macérés pendant 48 h à l'abri de la lumière à température ambiante.

Les extraits globaux ainsi obtenus sont séparés par filtration sur papier filtre (**Annexe 8**)

b) **Dépigmentation**

Les extraits obtenus sont évaporés sous pression réduite à 40°C pour éliminer l'alcool (méthanol), la phase aqueuse obtenue est lavée trois fois par V (1/2) d'hexane de 5 ml pour le mélange (90/10) ; de 10 ml pour le mélange (80/20) et puis 15 ml pour le mélange (70/30), pour l'élimination des pigments chlorophylliens et caroténoïdes et tous les produits polaires (**Annexe 9**).

c) **Extraction**

Un volume de 2ml de sulfate d'ammonium (20%) et 2ml de l'acide orthophosphorique (2%) sont mélangés à la phase aqueuse. Les polyphénols sont extraits par l'acétate d'éthyle avec un rapport de 1/1 (v/v). L'extraction est répétée trois fois respectivement pour les mélanges :

(70/30) 30ml d'acétate d'éthyle + 2ml d'acide orthophosphorique +2ml de sulfate d'ammonium.

(80/20) 20ml d'acétate d'éthyle + 2ml d'acide orthophosphorique +2ml de sulfate d'ammonium.

(90/10) 10ml d'acétate d'éthyle + 2ml d'acide orthophosphorique +2ml de sulfate d'ammonium.

La phase organique est séchée en ajoutant une quantité suffisante de sulfate de sodium anhydre. Le solvant est évaporé à sec. Le résidu est repris par 10ml de méthanol et conservé au frais (**Annexe 10**).

3. Dosage des Composés Phénoliques :

3.1. Dosage des Phénols Totaux :

Il n'existe aucune méthode permettant de doser de manière satisfaisante et simultanée l'ensemble des composés phénoliques présents dans un extrait végétal non purifié. Néanmoins, une estimation rapide de la teneur en phénols totaux, peut être obtenue par différentes méthodes, en particulier par l'utilisation d'un mélange de phosphomolybdate ($H_3PMo_{12}O_4$) et phosphotungstate ($H_3PW_{12}O_{40}$) commercialisé sous la dénomination de réactif de Folin-Ciocaltu

➤ **Principe :**

Le dosage des phénols totaux a été effectué par une méthode adaptée de Singlon et Ross (1965) avec le réactif de Folin-Ciocaltu. Le réactif est formé d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique $H_3PMo_{12}O_4$ qui sont réduits lors de l'oxydation des phénols en oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_3), ce qui nous aide à doser les phénols dans le visible à une longueur d'onde de l'ordre 760 nm

Chapitre III

➤ Mode opératoire

Tracé de courbe d'étalonnage :

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage, établie avec le standard étalon l'acide gallique (0,01 – 0,1 mg) et exprimée en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait. On obtient alors la courbe d'étalonnage (**Annexe 11**)

Essais d'analyse :

Un volume de 100µl de chaque extrait (dilué dans le méthanol) a été ajouté à 500µl de réactif de Folin-Ciocaltu (10%). Les solutions ont été mélangées après 2 minutes puis on ajout 2ml de la solution de carbonate de sodium Na_2CO_3 (2%). Le mélange est incubé pendant 30 minutes à l'obscurité à la température ambiante. L'absorbance de tous les extraits a été mesurée par le spectromètre (UV-Visible) à 760 nm.

3.2. Dosage des Flavonoïdes :

➤ Principe :

La méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl_3) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans nos extraits, en utilisant comme standard le catéchine, les teneurs en flavonoïdes sont exprimées en milligrammes d'équivalents de la catéchine par gramme d'extrait

➤ Mode opératoire :

Tracé de courbe d'étalonnage :

La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire présenté par la (figure3), qui réalisé par le standards étalon le catéchine à différents concentrations (0,01 – 0,1 mg/ml) dans les mêmes conditions que l'échantillon (**Annexe 12**).

Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent de catéchine par gramme d'extrait.

Essais d'analyse :

Un volume de 1 ml de chaque extrait et du standard sont dissous dans le méthanol avec les dilutions convenables ont été ajouté à un volume égal d'une solution AlCl_3 (2% dans le méthanol).

Le mélange a été agité vigoureusement puis la lecture spectrophotométrique a été effectuée à 430 nm après 15 minutes d'incubation.

Chapitre III

4. Activité Anti-Oxydante:

L'activité antioxydante des extraits est déterminée par deux méthodes le test au DPPH et le test molybdate.

4.1. Test au DPPH :

➤ Principe :

Le test de DPPH permet de mettre en évidence le pouvoir anti-radicalaire d'un antioxydant pur ou même d'un extrait antioxydant. La diminution de l'intensité de la coloration est suivie par mesure colorimétrique à 517 nm, cette diminution est due lorsque le DPPH est réduit par un composé à propriété antiradicalaire

➤ Mode opératoire :

Tracé de courbe d'étalonnage :

On prépare des solutions d'acide ascorbique (vitamine C) de concentration de 0.01 jusqu'à 0.1 g/l. 1,9 ml de chaque solution ont été introduits à l'aide d'une micropipette dans des tubes à essai, suivis de l'addition solution 1,1 DiPhenyl-2-Picryl Hydrazyl (DPPH) Le mélange est incubé pendant 30 minutes à l'obscurité à la température ambiante. L'absorbance de tous les extraits a été mesurée par le spectromètre (UV-Visible) à 517 nm (**Annexe 13**) vitamin c DPPH.

Essais d'analyse :

Nous avons préparé des gammes de concentration décroissante à partir de chaque solution mère obtenue après dissolution complète de l'extrait phénolique. Dans des tubes, on introduit 100 µl de chaque échantillon et on ajoute 1.9 ml de la solution de DPPH. Après une période d'incubation de 30 minutes à la température ambiante dans l'obscurité, l'absorbance a été mesurée à 517 nm contre un blanc contenant le méthanol, la valeur de ce blanc ayant été également mesuré au temps 0.

Résultat :

L'activité antiradicalaire des composés testés est évaluée par rapport à une solution méthanolique de radical DPPH qui représente le 100%

Le pourcentage d'inhibition I% de formation des radicaux DPPH est calculé par la relation suivante :

$$I\% = [(Abs0 - Abs1)/Abs0] \times 100$$

Où Abs_0 est l'absorbance du blanc et de Abs_1 est l'absorbance en présence du composé d'essai à différentes concentrations.

L' IC_{50} a été calculé graphiquement en utilisant la courbe d'étalonnage dans la gamme linéaire en traçant la concentration en extrait contre l'effet de balayage correspondant.

4.2. Test Phospho-Molybdate :

Le pouvoir réducteur est déterminé par le test molybdate.

L'analyse de Molybdate phosphate est un essai direct qu'on l'utilise principalement pour mesurer les possibilités et la puissance des antioxydants non enzymatiques. Ici l'analyse de Molybdate phosphate sera employée pour déterminer et mesurer la puissance antioxydante des extraits lipidiques, protéiques et phénoliques

➤ Principe :

Cette méthode dépend de la réduction du Molybdate (VI) au Molybdate (V) en présence des extraits et la formation d'un complexe de Molybdate Phosphate de couleur verte, qui est détectée par spectrophotométrie en mesurant le changement de l'absorbance 695 nm.

➤ Mode Opératoire :

Tracé de Courbe d'étalonnage

On prépare des solutions d'acide ascorbique (vitamine C) de concentration de 0.01 jusqu'à 0.1 g/l. 1,9 ml de chaque solution ont été introduits à l'aide d'une pipette dans des tubes à essai, suivis de l'addition d'un mélange de trois solutions aqueuses suivantes (Solution d'acide sulfurique 0,6 M, solution de phosphate sodium 28 mM, solution molybdate d'ammonium 4 mM) Le mélange est placé dans un bain marie à une température de 95°C pendant 90 minutes, après refroidissement l'absorbance est mesurée à 695 nm (**Annexe 14**) vitamine c Molybdate

Essais d'analyse :

Ce test nous a permis de suivre l'évaluation de l'effet antioxydant en utilisant les antioxydants présents dans les extraits comme réducteurs dans une réaction redox colorimétrique, l'analyse de molybdate est réalisée suivant le protocole décrit comme suit :

- On prépare 100 ml d'un mélange de trois solutions aqueuses suivantes :
- Solution d'acide sulfurique 0,6 M.
- Solution de phosphate sodium 28 mM.
- Solution molybdate d'ammonium 4 mM

Un volume de 200 µl de chaque extrait dilué est ajouté à 2ml de solution préparée précédemment.

Le mélange est placé dans un bain marie à une température de 95°C pendant 90 minutes, après refroidissement l'absorbance est mesurée à 695 nm.

Il est nécessaire de mettre en évidence l'efficacité de cet antioxydant de référence à ce test et cela en traçant une courbe d'étalonnage de la vitamine C liant à la concentration en vitamine (µM) et l'absorbance à 695 nm.

L'activité antioxydant de nos extraits est déterminée en équivalant à la vitamine C.

Teste de Blanchissement β-Carotène :

La méthode de blanchiment β-carotène est basée sur la perte du jaune couleur de β-carotène en raison de sa réaction avec les radicaux formés par oxydation de l'acide linoléique dans une émulsion. Le taux de β-carotène le blanchiment peut être ralenti en présence d'antioxydants. Une méthode modifiée décrite par Koleva et al. (2002) a été utilisée. On a dissous du β-carotène (2 mg) dans 20 ml de chloroforme et à 4 ml de cette solution, l'acide linoléique (40 mg) et le Tween 40 (400 mg) ont été ajoutés. Le chloroforme a été évaporé sous vide à 40 ° C et 100 ml d'eau ultra-pure oxygénée ont été ajoutés, puis l'émulsion a été vigoureusement agitée. Composé de référence (BHT) et Des extraits d'échantillons ont été préparés dans du méthanol. L'émulsion (3 ml). a été ajouté à un tube contenant 0,2 ml d'extraits. L'absorbance a été immédiatement mesurée à 470 nm et l'émulsion testée incubé dans un bain d'eau à 50 °C pendant 120 min, lorsque l'absorbance a été mesurée à nouveau. BHT a été utilisé comme contrôle positif. Dans le contrôle négatif, l'extrait a été remplacé par un égal volume de méthanol. L'activité antioxydante (%) des extraits a été évalué en termes de blanchiment du β-carotène en utilisant la formule suivante:

5. Test Antibactérien:

La détermination de l'action antibactérienne des huiles et des polyphénols de la *Nigella sativa*, sur trois souches *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae*, est réalisée par les techniques de l'aromatogramme.

a. Principe :

La technique de l'aromatogramme a été réalisée selon la méthode de Vincent, c'est une méthode par diffusion sur milieu solide ou méthode des disques

L'aromatogramme est une technique simple qui consiste à noter le devenir d'un germe au contact d'un certain nombre d'huiles végétales et polyphénols.

Chapitre III

Cette méthode repose sur le pouvoir migratoire des extraits dans un milieu nutritif solide coulé en boîtes de pétrie

a- Mode opératoire :

Nous avons adopté cette technique, en raison de son large emploi dans ce domaine.

- Du milieu de culture **Mueller-Hinton** (M-H) maintenu en surfusion est coulé dans des boîtes de pétri avant chaque essai (**Annexe 15**)

- A partir d'une culture pure sur milieu d'isolement, on prend des colonies bien isolées à l'aide d'une pipette pasteur.

- La suspension de chaque souche est préparée dans l'eau physiologique stérile et ajustée à 10^8 UFC/ml.

- On prend 100µl de suspension bactérienne et on le met sur la surface M-H.

- Avec l'écouvillon frotter sur la totalité de la surface M-H, de haut en bas, en stries serrées (**Annexe 16**)

- Les disques papier whatmann, stériles de 6 mm de diamètre, sont déposés sur le milieu de culture.

- Met sur chaque disque 10µl extrait testé sur les boîtes ensemencées.

- La boîte est ensuite fermée.

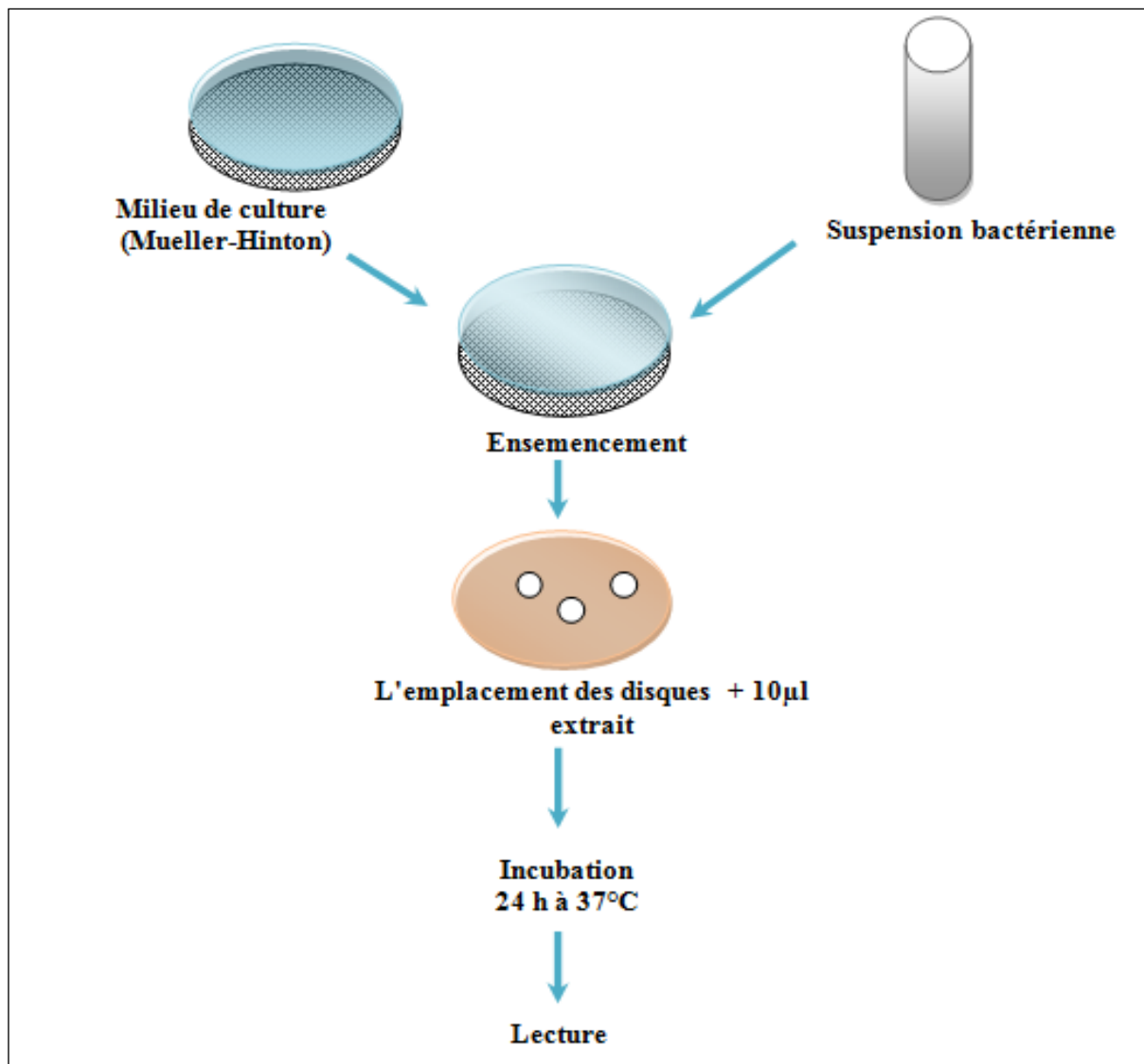
- pour l'incubation : placer les boîtes de pétrie en position renversée dans un étuve réglé à $T = 37^{\circ}\text{C}$ pendant 24 heures.

- Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse (**Annexe 17**).

La Figure 22 montre la méthode de l'aromatogramme.

Chapitre III

. Figure 22: Protocole expérimental de la méthode de l'aromatogramme



Chapitre IV :

Résultats et discussion

Chapitre IV

1. Résultats de L'analyse Quantitative :

1.1. Analyse Quantitative des Lipides :

a. Teneur en lipides

La teneur en huile dans les graines de la *Nigella sativa* ainsi l'aspect des huiles sont mentionnés dans le tableau 4 les huiles obtenues des graines ont une couleur jaune foncée. Ces huiles ont une odeur très agréable.

Tableau 8: La teneur en huile des échantillons des grains de la *Nigella sativa*

Echantillon	Couleur de l'huile	Teneur en huile %
Huile fixe	Jaune foncée	2.63

Si on compare notre résultat par rapport à ceux cités dans la littérature (30%), on trouve que ce résultat est très faible et ceci peut être dû à la mauvaise conservation de nos grains.

b. Caractérisation physico-chimique

Les résultats obtenus de la caractérisation physico-chimique de nos huiles étudiées sont représentés dans le tableau 9.

Tableau 9 : Caractérisation physico-chimique des huiles de la *Nigella sativa*.

Paramètre	I.A	I.I	I.S	Densité (mg/ml)	Indice de réfraction à 19.5°C
Nigelle sativa	3,90	175.26	140.25	0.805	1,4622

c. Compositions en acides gras de l'huile de la graine de la *Nigella sativa*

L'identification des pics représentatifs des esters méthyliques a été réalisée en utilisant l'huile d'olive comme substance de référence. Nous avons essayé de faire une comparaison entre les deux chromatogrammes (Figures 22 et 23) afin d'avoir une idée sur la composition de nos huiles.

Chapitre IV

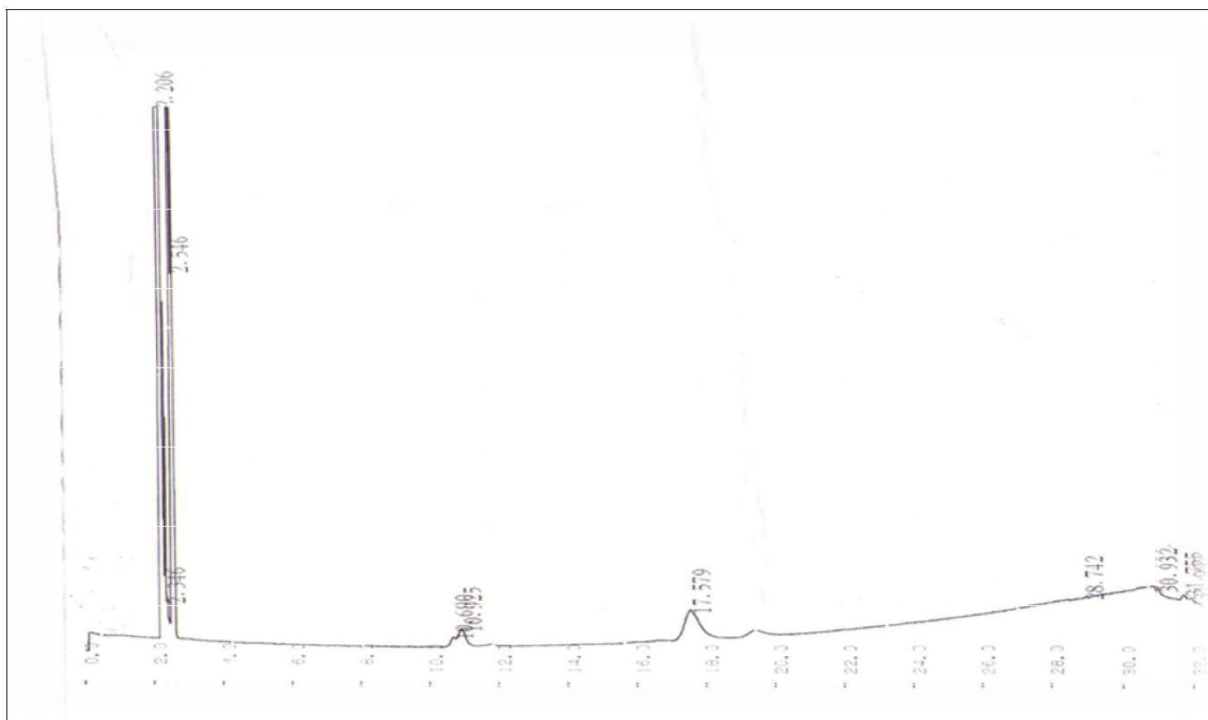


Figure 23: Chromatogramme des EMAG d'huile d'olive.

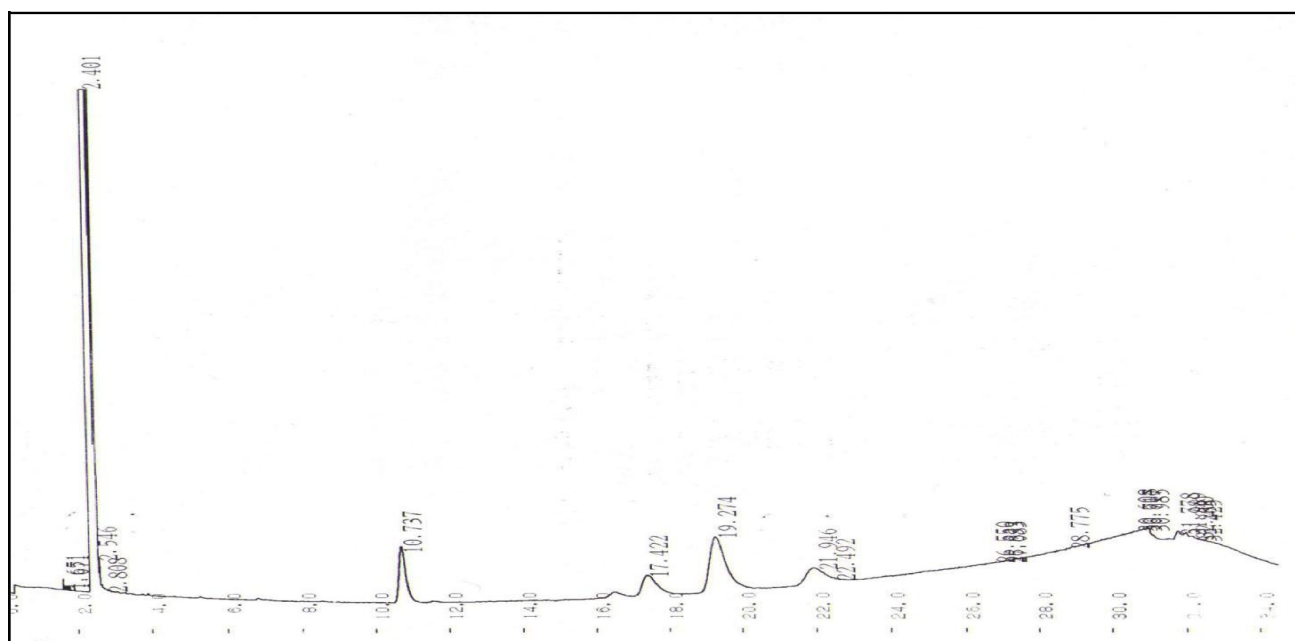


Figure 24: Chromatogramme des EMAG des huiles des grains de la Nigella sativa.

D'après les deux chromatogrammes il ressort la présence des acides gras de type C18 dans notre huile.

Chapitre IV

1.2. Composés Phénoliques :

Les extraits des composés phénoliques obtenus à partir des grains de notre plante présentent un aspect rouge jaunâtre pour les deux extraits des deux systèmes solvant méthanol/eau 80/20 et 70/30.

a. Teneur en Composés Phénoliques Totaux :

La teneur en composés phénoliques de chaque extrait a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (Annexe 8) et en milligrammes par gramme de la matière sèche en équivalent en acide gallique. Les résultats obtenus sont exprimés dans le tableau 6.

Tableau 10: Quantité en phénols totaux des différents extraits.

Extraits	Teneur en (mg/g)
Méthanol/eau (80/20)	0.55
Méthanol/eau (70/30)	0.44

On remarque d'après les résultats consignés dans le tableau 6 que la quantité des composés phénoliques dans les extraits des deux systèmes est importante. Ce résultat est en accord avec d'autres travaux sur des grains d'autres plantes déjà étudiées comme le pistachier de l'atlas. Du point de vue comparative, les extraits du système 80/20 méthanol/eau comporte une quantité (0.55 mg/g) supérieure à celle du système 70/30 méthanol/eau (0.44 mg/g), ce résultat renforce les résultats de la littérature sur le solvant idéal pour extraire les composés phénoliques.

b. Teneur en Flavonoïdes :

La quantité des flavonoïdes dans nos extraits a été déterminée à l'aide de la courbe d'étalonnage (Annexe 9) de la rutine prise comme flavonoïde étalon.

Les résultats obtenus exprimés en milligrammes par gramme de la matière sèche en équivalent de la rutine, ainsi que le pourcentage en flavonoïdes par rapport aux teneurs en phénols totaux, sont regroupés dans le tableau 11.

Chapitre IV

Tableau 11: Quantité en flavonoïdes de différents extraits.

Extraits	M(g/g)	Taux
Méthanol/eau 80/20	0.45	0.81
Méthanol/eau 70/30	0.15	0.34

L'analyse de l'ensemble des résultats obtenus montre clairement que les extraits méthanol/eau 80/20 sont plus riches en flavonoïdes que les extraits méthanol/eau 70/30.

Pour une meilleure représentation nous présentons nos résultats dans les histogrammes (figure 24). Nous présentons alors les différentes valeurs du contenu en phénols totaux et en flavonoïdes pour chaque extrait. Il est clair à partir de ces histogrammes que les quantités des phénols totaux et les flavonoïdes varient dans le même sens.

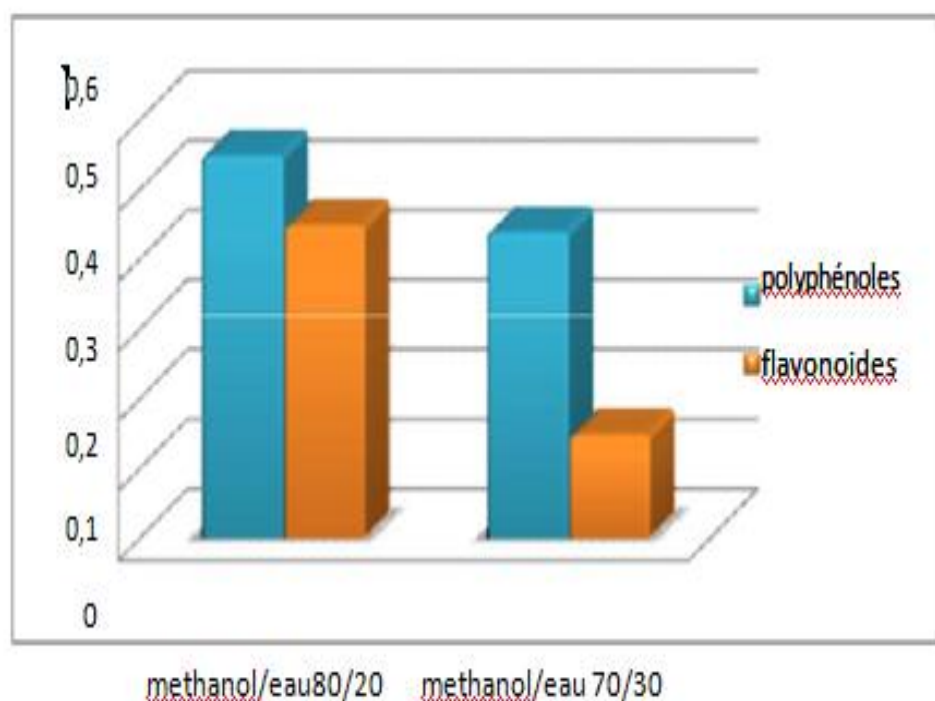


Figure 25 : Comparaison entre les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes des extraits phénoliques de graines de la *Nigella sativa*.

2. Résultats de L'étude du Pouvoir Antioxydant :

2.1. Test DPPH :

Les mesures de la diminution de l'absorbance du radical DPPH provoquée par la présence des extraits après 30 minutes ont permis de déterminer le pouvoir antioxydant des différents extraits. Le pouvoir d'inhibition (I) a été exprimé en présence de différentes dilutions (I% en fonction de la concentration après 30 min d'incubation à température ambiante). Les dilutions sont effectuées de sorte que le coefficient de corrélation (R^2) de ces deux tracés est supérieur à 0.90. Le pouvoir d'inhibition est calculé à partir de la relation suivante.

$$I\% = \frac{A_0 - A_i}{A_0} \times 100$$

Les courbes de la figure 25 représentent la variation du pourcentage du pouvoir antioxydant I(%) en fonction de la concentration de chaque extrait.

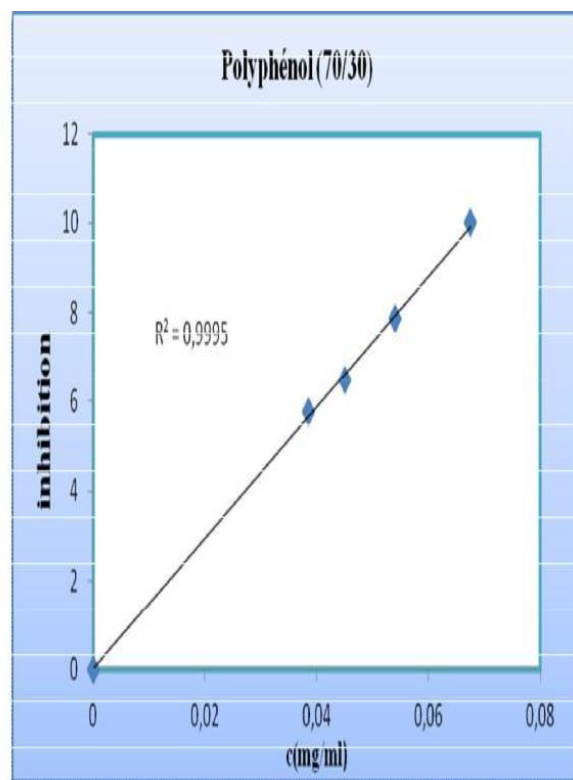
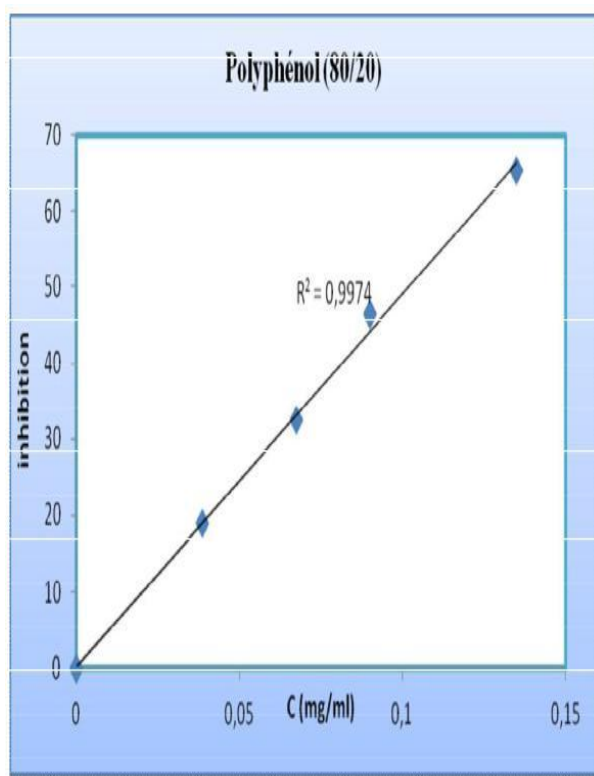


Figure 26 Courbe DPPH des extraits polyphénols.

Chapitre IV

L'efficacité antioxydante, des extraits phénoliques testés, est exprimée ensuite par le paramètre EC_{50} (concentration effective à 50 %), sachant que la concentration effective (EC_{50}) représente la concentration de l'inhibiteur nécessaire pour diminuer 50% des radicaux libres dans le milieu réactionnel. Les valeurs de l'efficacité EC_{50} sont déterminées pour chaque extrait phénolique à partir des représentations graphiques (figure 25).

De même nous avons calculé un autre paramètre qui exprime la puissance antiradicalaire et qui est calculé à partir du premier paramètre (EC_{50}) noté ARP. ARP est égal à $1/EC_{50}$. Nous avons calculé l' EC_{50} des antioxydants de référence la vitamine E et la vitamine C afin de le comparer avec ceux des extraits phénoliques. Les valeurs calculées d' EC_{50} (mg/g) pour les différentes concentrations des extraits sont regroupés dans le tableau 12.

Tableau 12: Les valeurs des paramètres EC_{50} et ARP des extraits par test DPPH.

Echantillons	EC_{50}	ARP
Méthanol/eau 80/20	0.10	10
Méthanol/eau70/30	0.34	2.94
Vitamine C	0.037	27.02
Vitamine E	0.28	3.57

Puisque les valeurs d' EC_{50} présentent les concentrations d'inhibiteurs nécessaires pour balayer 50% des radicaux libres et qui sont inversement proportionnelle à l'activité antioxydante, leur classement est schématisé dans les figures 27 et 28

Chapitre IV

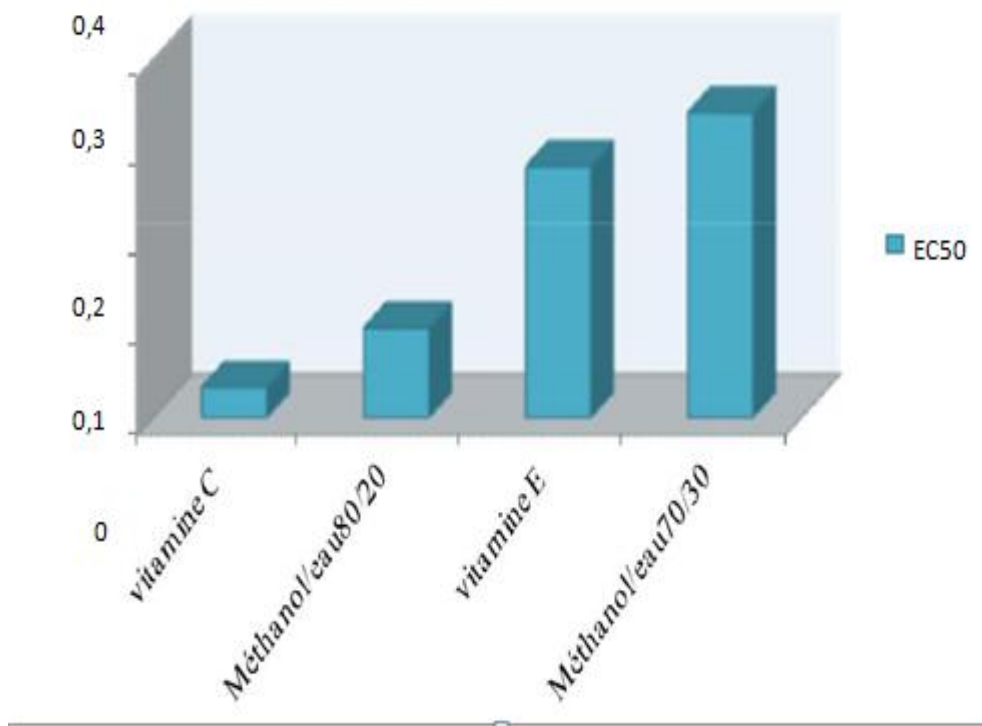


Figure 27 : Classement croissant des extraits phénoliques selon leur EC50.

On remarque que l'ensemble des extraits ont un pouvoir antioxydant très fort par rapport à la vitamine E mais inférieur à celui de la vitamine C.

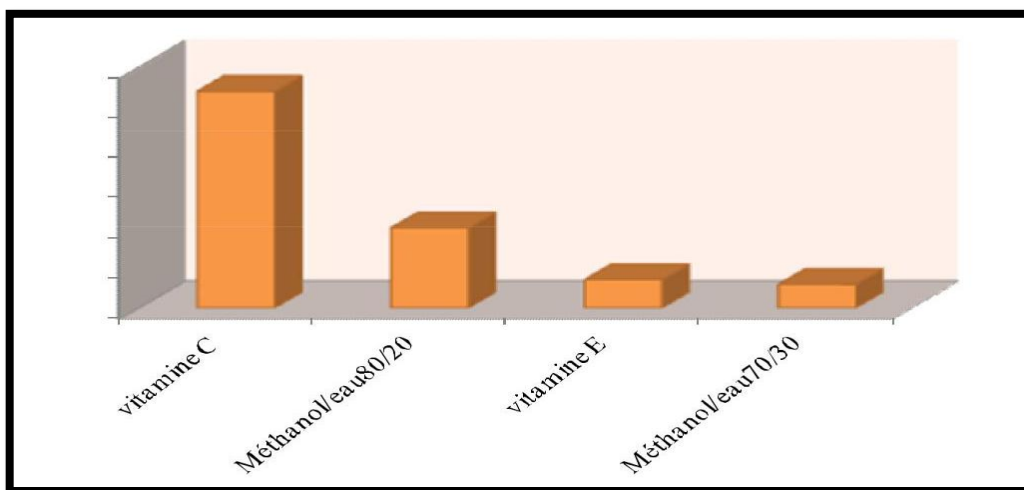


Figure 28 : Classement décroissant des extraits phénoliques selon leur ARP

Du point de vue comparative, l'extrait phénolique du système méthanol/eau 80/20 est classé premier comme antioxydant par rapport à l'extrait du système méthanol/eau 70/30 ceci est logique si on prend en considération la quantité des polyphénols existante dans chaque extrait.

Chapitre IV

Si on fait une comparaison de EC50 entre nos extraits et la vitamine C, on remarque qu'il y a une différence mais pas grande entre celle-ci et nos extraits surtout pour l'extrait méthanol/eau 80/20 donc on peut dire que cette partie de la plante étudiée est une source prometteuse de composés antioxydants.

2.2. Test Chimique de Molybdate Phosphate :

L'évaluation de l'activité antioxydante de nos extraits a été déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage de la vitamine E (Annexe 10) exprimée en VEAC (vitamine E equivalent antioxidant capacity) pour chaque extrait.

Les courbes donnent le pouvoir antioxydant exprimé en fonction de la variation de l'absorbance en fonction de l'inverse du nombre de dilution, des deux systèmes de solvants, pour les extraits phénoliques sont présentées dans les figures 29 et 30.

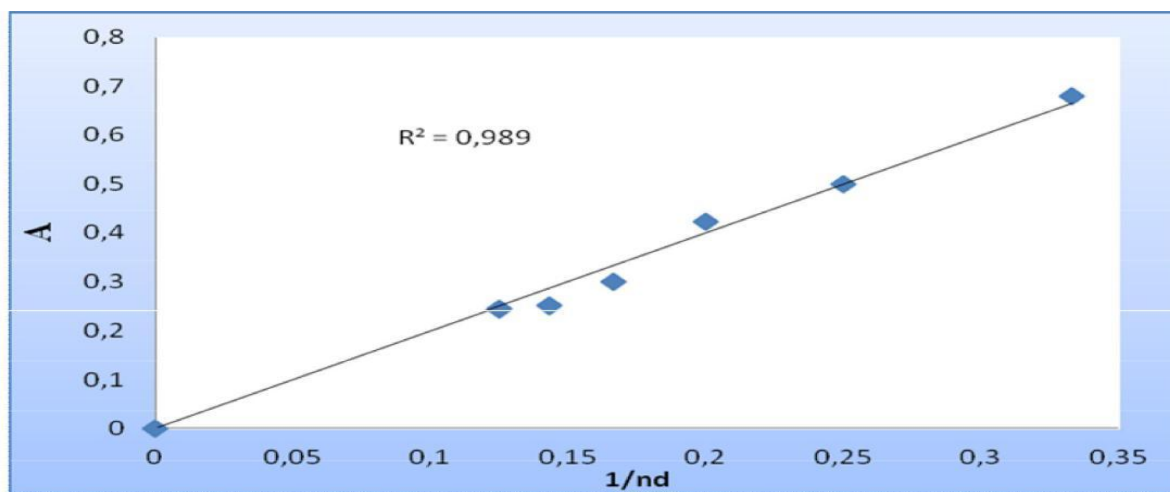


Figure 29: Courbe représentant l'activité antioxydante des extraits phénoliques
système solvant méthanol/eau 80/20

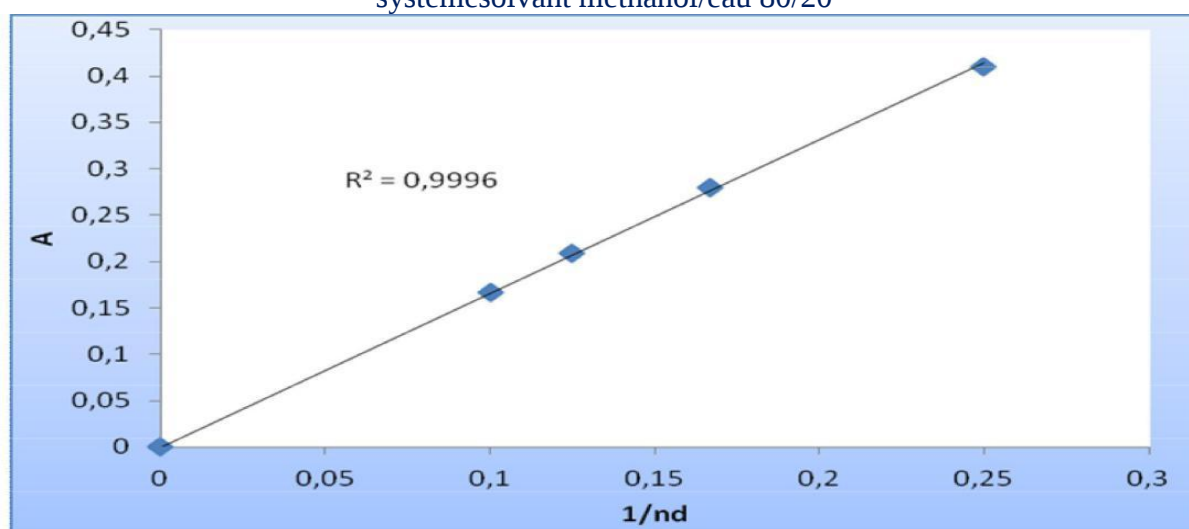


Figure 30: Courbe représentant l'activité antioxydante des extraits phénoliques système solvant
méthanol/eau 70/30.

Chapitre IV

Les pentes calculées de ces droites, nous aident à déterminer un paramètre appelé le VEAC. Ce paramètre est nécessaire pour estimer le pouvoir réducteur des extraits étudiés par rapport à la vitamine E qui est pris comme antioxydant de référence. Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau 9.

Tableau 13 : Les valeurs de VEAC.

Extrait	VEAC (mM)
Méthanol/eau 80/20	0.11
Méthanol/eau 70/30	0.09
Vitamine C	0.605

Les résultats de l'activité réductrice exprimés en VEAC, montrent clairement que l'extrait méthanolique 80/20 présente le pouvoir de réduire le cation Mo le plus intéressant. Par contre l'extrait méthanolique 70/30 montre un pouvoir réducteur moins fort d'où ces résultats pourront être expliqués par l'existence des molécules ayant un potentiel réducteur donneur d'électrons.

3. Résultats et Discussion de L'étude de L'activité Antibactérienne :

Cette étude est basée sur la mesure du diamètre des halos d'inhibition des extraits obtenus. Les résultats du pouvoir antimicrobien des extraits phénoliques méthanol/eau 80/20, méthanol/eau 70/30 et les huiles fixes de *Nigella sativa* sur les souches étudiées sont représentés dans le tableau 10.

Tableau 14: Activité antibactérienne des extraits phénoliques et les huiles fixes de *Nigella sativa*. Les chiffres indiquent les diamètres d'inhibition par mm.

Souches	Gram	Méthanol/eau 80/20	Méthanol/eau 70 / 30	Huile fixe
Escherichia coli	-	15 mm	0.00 mm	15 mm
Staphylococcus aureus	+	27.5 mm	15 mm	17 mm

Chapitre IV

E. coli est peu sensible à l'extrait méthanol/eau 80/20 et l'huile fixe, par contre elle est non sensible à l'extrait méthanol/eau 70/30 figure 30.

Staphylococcus aureus est sensible respectivement aux systèmes méthanol/eau 80/20, méthanol/eau 70/30 et l'huile fixe avec des degrés différents. Mais l'extrait le plus efficace est l'extrait phénolique du système méthanol/eau 80/20, ceci peut être expliqué par la grande concentration des composés phénoliques (figure 31).



Figure 31: Test antibiogramme avec les souches bactériennes *E. coli*.



Figure 32: Test antibiogramme avec les souches bactériennes *Staphylococcus aureus*.

Pour que la différence de l'efficacité de nos extraits soit claire, nous présentons nos résultats sous forme d'histogrammes (figure 32).

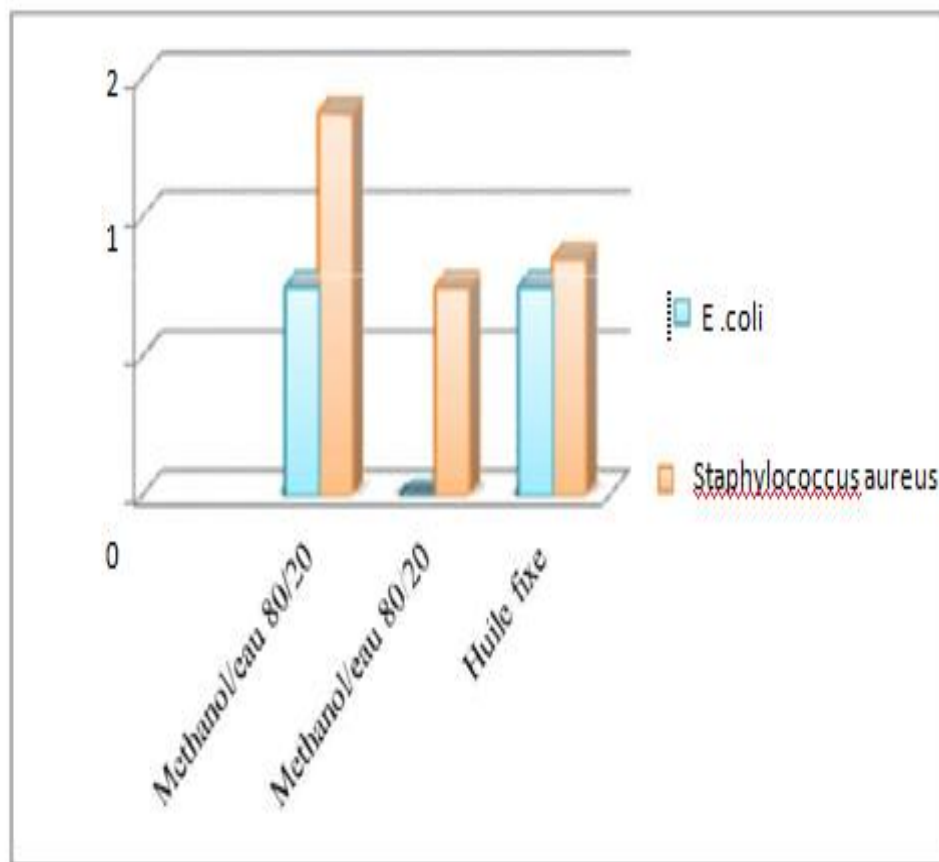


Figure 33 : Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibition Nigelle

Conclusion

Conclusion

Dans le cadre de ce travail, nous sommes intéressés de contribuer à la valorisation des potentialités des espèces des graines de *Nigella sativa*. Compte tenu des caractéristiques botaniques, physiologiques d'une part et de son intérêt économique, scientifique d'autre part.

Dans la première partie de cette étude, nous avons axé notre travail sur les extractions, quantification et identification des lipides et des phénols de l'espèce étudiée où on aura :

Pour l'extraction des lipides la teneur en huile est faible 2.63%, l'analyse des esters métalliques par CPG, nous a confirmé l'existence des acides gras de type C18 dans notre huile.

Les résultats d'extraction des composés phénoliques montrent que les grains de la *Nigella sativa* sont riches en phénols totaux, donc on peut dire que cette partie de la plante étudiée est une source prometteuse de composés phénoliques pour évaluer la teneur en phénols totaux dans les deux extraits en adaptant la méthode le réactif Folin Ciocalteu, les résultats nous ont confirmé que la quantité des composés phénoliques est évaluée entre 0.55 mg/g pour (80 /20) et 0.44 mg/g pour (70 /30) .

Dans la deuxième partie, nous avons consacré notre étude à l'évaluation du caractère antioxydant de nos extraits phénoliques. En appliquant deux tests chimiques à savoir le test DPPH et le test Molybdate phosphate :

Dans le test DPPH les extraits phénoliques sont les plus actifs surtout l'extrait du système méthanol/eau (80/20), ce résultat est prévu car les composés phénoliques présentent une activité antiradicalaire certaine.

En revanche dans le test de Molybdate de phosphate, montre clairement que les extraits du système solvant méthanol/eau (80/20) ayant un potentiel réducteur supérieur à ceux des extraits du système méthanol/eau (70/30).

Dans la dernière partie de cette étude, nous avons essayé de voir l'influence des extraits lipidiques et phénoliques de cette partie de la plante sur deux différents types de bactéries :

Les résultats ont montrés que la bactérie *Staphylococcus aureus* (gram +) est sensible aux trois extraits étudiés mais avec des degrés différents tandis que la bactérie

E. coli (gram -) est moins sensible aux extraits étudiés par rapport au *Staphylococcus*.

Ce travail a permis donc de mieux appréhender l'intérêt de l'étude des fractions lipidiques et phénoliques des grains de *Nigella sativa* ainsi d'évaluer le pouvoir antioxydant des différents extraits. Cette étude préliminaire nous confirme que :

*La plante *Nigella sativa* est une source importante des antioxydants, pour cela on peut dire que ces résultats importants nous encouragent de sélectionner cette partie de la plante pour des

Conclusion

études chimiques approfondies afin de caractériser les molécules naturelles responsables à cette activité.

De nombreuses recommandations peuvent être envisagées à savoir :

La multiplication du nombre d'essais *in vitro* vis-à-vis d'autres pathologies.

L'activité antioxydante issue des extraits naturels des plantes permettent d'isoler et de caractériser d'éventuelles nouvelles molécules, de plus la synthèse de ces nouveaux dérivés permettent de développer une étude plus approfondie et donc d'établir des relations structure et activité plus solide.

Référence Bibliographie

Référence Bibliographique

1. Rome **(1995)** Le sorgho et les mils dans la nutrition humaine Organisme des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture..
2. Williamson EM, Synergy and other interactions in phytomedecine.
3. Miura, K. et Nakatani, N. **(1964)**, Antioxidant activity of vegetal extracts I. Flavone aglycons, J. Food Sci., V29, 27-33.
- [4]. Ghedira, K. **(2006)** La nigelle cultivée : *Nigella sativa* L. (Ranunculaceae) Phytothérapie,
- [5] BITTKAU, C., & COMES, H.-P. **(2005)**. Evolutionary processes in a continental island system: molecular phylogeography of the Aegean *Nigella arvensis* alliance (Ranunculaceae) inferred from chloroplast DNA. *Molecular Ecology* (14), pp. 4065-4083.
- [6] SAIDI, B. **(2010)**. La graine de Nigelle : remède sacré ou sacré remède? Paris: Iqra et Les Quatres Sources.
- [7] CHAMSEDDINE, A. **(2006)**. La curation par la graine noire d'après la sunna Bonnier, G. **(1990)** La grande flore en couleur. Ed Belin, Paris. Tome 1. pp : 17.
- [8] ÖZEL, A., DEMIREL, U., GÜLER, I., & ERDEN, K. **(2009)**. Farkli sira araligi ve tohumluk miktarlarinin çörek otunda verim ve bazı tarımsal karakterlere etkisi. *Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 1 (13), 17-25.
- [9] ANTON, R., TEUSCHER, E., LOBSTEIN-GUTH, A., BAUERMANN, U., WERNER, M., ROHRNER, C., et al. **(2005)**. *Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles*. Paris: Médicales internationales.
- [10] AGGARWAL, B. B., & KUNNUMAKKARA, A. B. **(2009)**. Molecular Targets and Therapeutic Uses of Spices, Modern Uses for Ancient Medicine. Singapore: World Scientific Publishing.
- [11] AKHTAR, M., & ASLAM, M. **(1997)**. Anticestodal principles of *Nigella sativa* Linn. (Kolanji) seeds. *Pak J Pharmacol*, 14 (2), pp. 7-14.
- [12] HOUGHTON, P., ZARKA, R., DE LAS HERAS, B., & HOULT, J. **(1995)**. Fixed oil of *Nigella sativa* and eicosanoid generation in leukocytes and membrane lipid peroxidation derived thymoquinone inhibit. *Planta medica* (61), 33-36.
- [13] BASER, K., HONDA, G., & MIKI, W. **(1986)**. Herb drugs and herbalists in Turkey. Institute for the study of languages and cultures of Asia and Africa, Tokyo.
- [14] GREENISH, H. **(1880)**. Contribution to the Chemistry of *Nigella sativa* (Vol. 10). *Pharmac J Trans*.
- [15] ABDEL-AAL, E., & ATTIA, R. **(1993)**. Characterization of Black cumin (*Nigella sativa*) seeds. *Alexandria Sci Exch J*, (14), 497-482.

Référence Bibliographique

- [16] SETHI, G., AHN, K., & AGGARWAL, B. **(2008)**. Targeting nuclear factor-kappa B, activation pathway by thymoquinone : role in suppression of antiapoptotic gene products and enhancement of apoptosis. *Molecular Cancer Research* , 6 (6), 1059- 1070.
- [17] CHEIKH-ROUHO, S., BESBES, S., LOGNAY, G., BLECKER, C., DEROANNE, C., & H, A. **(2008)**. Sterol composition of black cumin (*Nigella sativa*) and Aleppo pine (*Pinus halepensis* Mill.) seed oils. *J Food Comp Analysis* (21), 162-168.
- (32) HAMROUNI-SELLAMI, I., KCHOUK, M., & MARRZOUK, B. **(2008)**. Lipid and aroma composition of black cumin (*Nigella sativa* L.) seeds from Tunisia. *J Food Biochem* (32) , 335-352.
- [20] MAHFOUZ, M., & EL-DAKHAKHNY, M. **(1960)**. The isolation of a crystalline active principle from *Nigella sativa* seeds. *J Pharm Sci UAR* (1), 9-19.
- [21] CANONICA, L., JOMMI, G., SCOLASTICO, C., & BONATI, A. **(1963)**. The pharmacologically active principle in *Nigella sativa*. *Gazzetta chimica italiana* (93), 1404-1407.
- [22] BURITS, M., & BUCAR, F. **(2000)**. Antioxydant activity of *Nigella sativa* L. essential oil. *Phytother Res*, 14 (5), 323-328.
- [23] ATTA-UR-RAHMAN, M., & ZAMAN, K. **(1992)**. Nigellimine : a new isoquinoline alkaloid from *Nigella sativa*. *J Nat Prod* (55), pp. 676-678.
- [24] ATTA-UR-RAHMAN **(1985A)**. Nigellimine-N-oxide-a new isoquinoline alkaloid from the seeds of *Nigella sativa*. *Heterocycles* (23), pp. 953-955.
- [25] ATTA-UR-RAHMAN, M., CUN-HENG, H., & CLARDY, J. **(1985B)**. Isolation and structure determination of nigellicine, a novel alkaloid from the seeds of *Nigella*. *Tetrahedron letters* (23), pp. 2759-2762.
- [26] ATTA-UR-RAHMAN, M., HASSAN, S., COUDHARY, M., NI, C., & CLARDY, J. **(1995)**. Nigellidine: a new indazole alkaloid from the seeds of *Nigella sativa*. *Tetrahedron letters* (36), pp. 1993-1996.
- [27] GREENISH, H. **(1880)**. Contribution to the Chemistry of *Nigella sativa* (Vol. 10). *Pharmac J Trans*.
- [28] ABDEL-AAL, E., & ATTIA, R. **(1993)**. Characterization of Black cumin (*Nigella sativa*) seeds. *Alexandria Sci Exch J*, (14), 497-482.
- [29] TASKIN, M., ALANKUS-CALISKAN, O., ANIL, H., ABOU-GAZAR, H., AKHAN, I., & BEDIR, E. **(2005)**. Triterpène saponins from *Nigella sativa* L. *Turkish J Chem* (29), 561-569.

Référence Bibliographique

- [30]MERFORT, I., WRAY, V., BARAKAT, H., HUSSEIN, S., NAWWAR, M., & WILLUHN, G. **(1997)**. Flavonoid triglycerides from seeds of *Nigella sativa*. *Phytochemistry* (46) , pp. 359-363.
- [31] AL-GABY, A. **(1998)**. Amino acid composition and biological effects of supplementing broad bean and corn proteins with *Nigella sativa* cake protein. *Die Nahrung* (42), pp. 290-294.
- [32] TUTER, M., AKSOY, H., USTUN, G., RIVA, S., SECUNDO, F., & IPEKLER, S. **(2003)**. Partial purification of *Nigella sativa* L. seed lipase and its application in hydrolytic reactions. Enrichment of γ -linolenic acid from borage oil. *J Am Chem Soc* (80), 273-241.
- [33] NERGIZ, C., & OTLES, S. **(2003)**. Some characteristics of *Nigella sativa* L. seed cultivated in Egypt and its lipid profile. *Food Chemistry* (83), pp. 63-68.
- [34] AL-SALEH, I., BILLEDIO, G., & EL-DOUSH, I. **(2006)**. Levels of selenium, DL- α -tocopherol, DL- γ -tocopherol, all-trans-retinol, thymoquinone and thymol in different brands of *Nigella sativa* seeds. *J Food Comp Analysis* (19), 167-175.
- [35] V.01/200 Fiche d'information .Généralités corps gras
- [36] Kessous .C. **(1987)**.Biochimie structurale, édition OPU. P9 -42
- [37] HENRY Stéphanie **(2003)**, L'huile d'olive, son intérêt nutritionnel, ses utilisation en pharmacie et en cosmétique; thèse de doctorat; université Henri Poincaré –NANCY 1; faculté de pharmacie.
- [38] Pr. A. Raisonnier **(2004)**, Lipides et lipoprotéines, Objectifs au cours de Biochimie, PCEM2 Biochimie Métabolique et Régulations.
- [39] Lavoisier, Paris. Lipides et corps gras alimentaires, édition technique et alimentaire.
- [40] Yacoub R. **(2009)**, Impact nutritionnel et sanitaire de la torréfaction des fruits et graines oléagineux ; Intérêt de la fluorescence comme outil de contrôle des composés néoformés ; thés de doctorat N° 2009 AGPT 0048 ;Institut des sciences et industriels du vivant et de l'environnement (agro paris tech.).
- [41] Joaquin Velasco,Dobarganes **(2002)**, Oxidative stability of virgin olive oil Eur. J. Lipids Technol. 104 661-676.
- [42] St Angelo. J. A **(1996)**, Lipid oxidation in foods Critical reviews in food science and nutrition 36 (3), 175- 224.
- [43] Judde. **(2004)**, A,Prévention de l'oxydation des acides gras dans un produit cosmétique : mécanismes, Conséquence, moyens de mesure, quels antioxydants pour quelles applications oclvol.11N° 6novembre- décembre.

Référence Bibliographique

- [44] Turrens. JF, Aleandre. A, Lehninger.AL (**1985**), Ubisemiquinone is the electron donor for superoxide formation by complex III of heat mitochondria .Arch BiochemBiophys, 237:408-414.
- [45] Halliwell .B. (**1999**), How to characterize a biological antioxidant, Free RadicaRes Commun, 9, 1-32.
- [46] Perrin J.L, (**1999**), Les composés mineurs et les anxiogènes naturels de l'olive et de son huile, Revue française des corps gras, N° 39, P 25-32.
- [47] Sebei .K,Boukhchima. S,Kallel. H (**2007**), Evolution des tocophérols en relation avec lesacides gras insaturés au cours de la maturation des grains de colza de printemps Brassicanapus L; C. R. Biologies 330 , 55-61.
- [48] Rock. E; stress oxydant, micronutriments et santé, INRA-CRNH, unité maladies métaboliques et micronutriments, 63122 et génés champanelle.
- [49] Ribéreau-Gayon P, (**1968**).Les composés phénolique des végétaux
- [50] Herbert R.B. (**1999**), The biosynthesis of secondary metabolites .2ème edition Chapman and Halle P 2, 11-115.
- [51] Bruneton J. (**1999**), Pharmacognosie, phytochimie : Plantes médicinales, Ed. Technique et documentation Lavoisier, Paris
- [52] Budic-Leto, T.Lovic, J. Food Technol.and Biotechnol, 200é. 40 (3), 221-225.
- [53] Puppo, A (**1992**). Effect of Flavonoids on Hydroxyl Radical Formation by Fenton-Type Reactions, Influence of the Iron Chelator. Phytochemistry, 31(1): 85-88.
- [54] Spencer J. P. E. et Vauzour D. (**2009**), Les effets des flavonoides sur la mémoire et l'apprentissage, molecular nutrition group, shool of chemistry, food and pharmacy, university of reading, janvier 2009.
- [55] Doat J. (**1978**), Les tanins dans les bois tropicaux. Revue bois et forets des tropiques, N° 182, novembre-décembre 1978.
- [56] Biochemical Soociety Transactions 24 (**1996**): 790-794.
- [57] Journai of Agricultural and food chemistry 44 (**1996**): 3426-3431.
- [58] Fatim B. Diallo Denis Bégin Michel Gérin (**2010**) La substitution des solvants par les esters méthyliques d'acides gras d'huiles végétales, Département de santé environnementale et santé au travail, Université de Montréal
- [59] Journal Officiel de la République Algérienne N° 68, 16 Décembre
- [60] Journal Officiel de la République Algérienne N° 09, 10 février 2013
- [61] Journal Officiel de la République Algérienne N° 64, 27 novembre 2011
- [62] Georgé, S., Brat, P., Alter, P., Amiot, J.M. (**2005**) Rapid determination of polyphénols

Référence Bibliographie

and vitamin C in plant-derived products. Journal of Agricultural and Food Chemistry. **53**: 1370-1373.

[63] Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunete, C., Dine, T., Vasseur, J., Gazin, J.C., Pinkas, M., Luycky, M., Gazin, M. **(1996)**, Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-Forschung*. 46: 1086-1089.

[64] M.E.Cuvelier, C, Berset, H.Hichard. Use for a new test for determining comparative antioxidant activity of butylated hydroxyanisole, butylated hydroxytoluene

[65] I.F.F.BENZIE.J.J STAIN. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay, *Anal Biochem*, 1996, 239, 70-76.

[66] R.Singh, A. M. Muftah Shuschni, A. Belkheir **(2001)**, (Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L), *Arabian journal of Chemistry*, Université, Benghazi, libye.

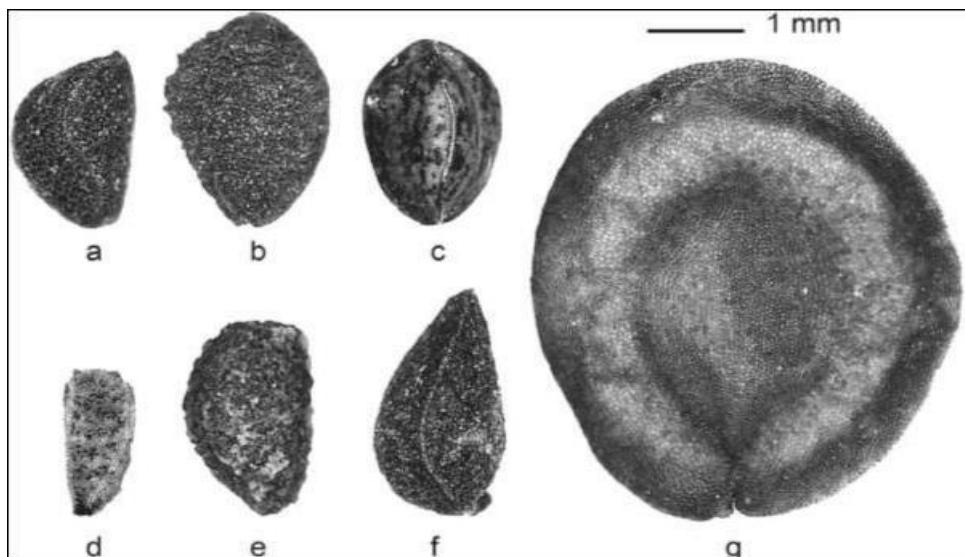
Annexe

Annexe

Annexe 1 : Les graines de la plante *N. sativa*.



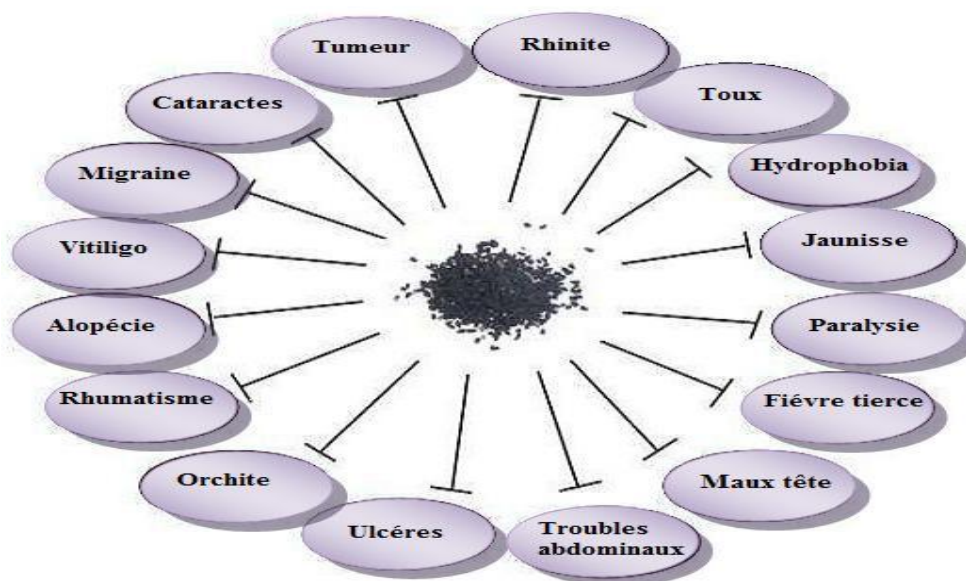
Annexe 2: Les graines de différentes espèces de *N. sativa*



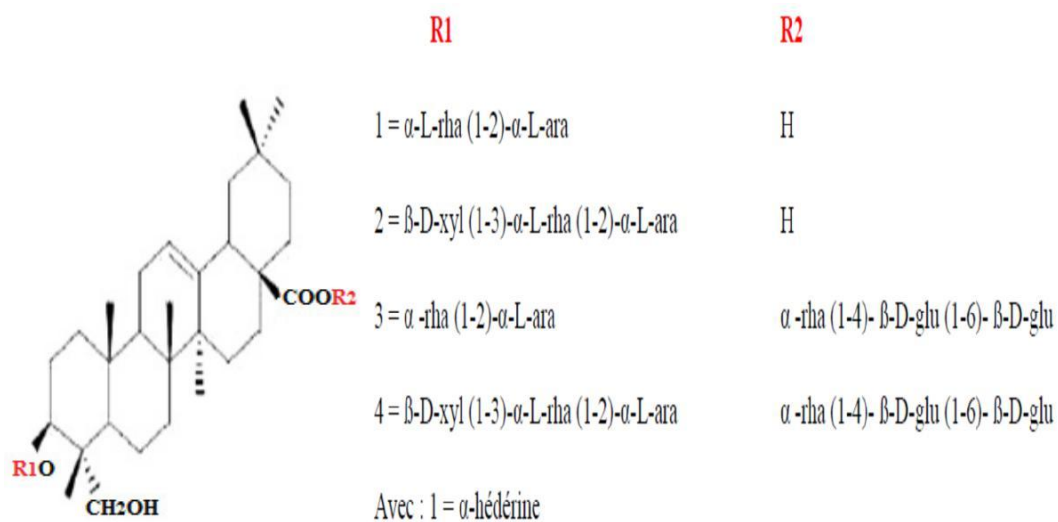
(a): *N. arvensis*, (b): *N. damascena* L, (c): *N. hispanica* L, (d): *N. integrifolia* Regel,
(e): *N. nigellastrum* Willk, (f): *N. sativa* et (g): *N. orientalis* L.

Annexe

Annexe 3 : Usage traditionnels de *N. sativa*.

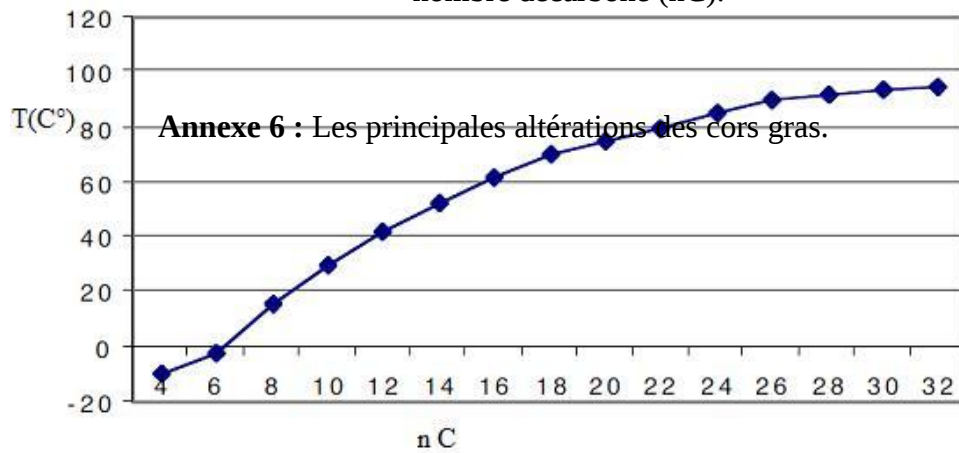


Annexe 4 : Structure des saponosides à hédéragénine isolés à partir des graines de *N. sativa*.



Annexe

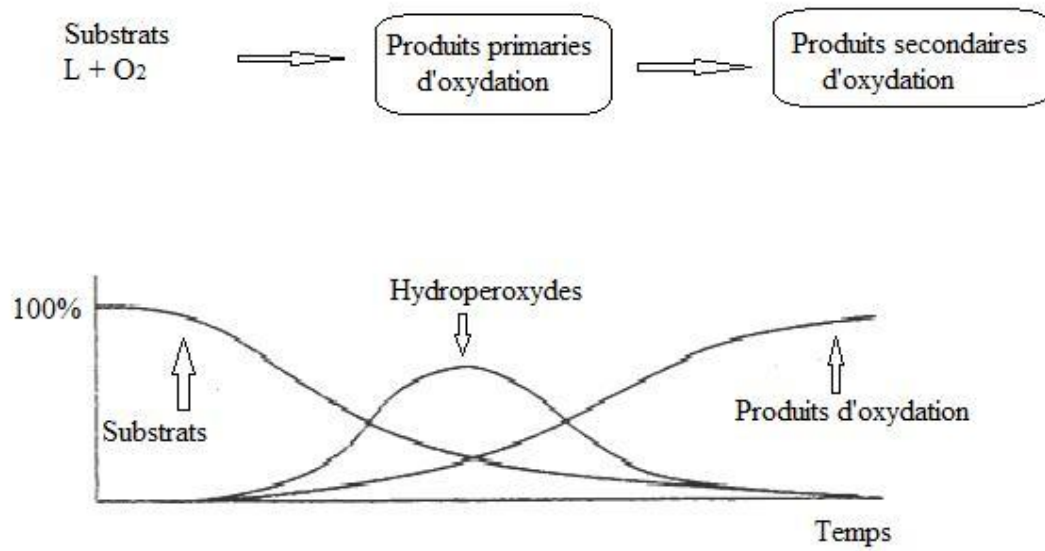
Annexe 5 : Evolution du point de fusion des acides gras en fonction du nombre decarbone (nC).



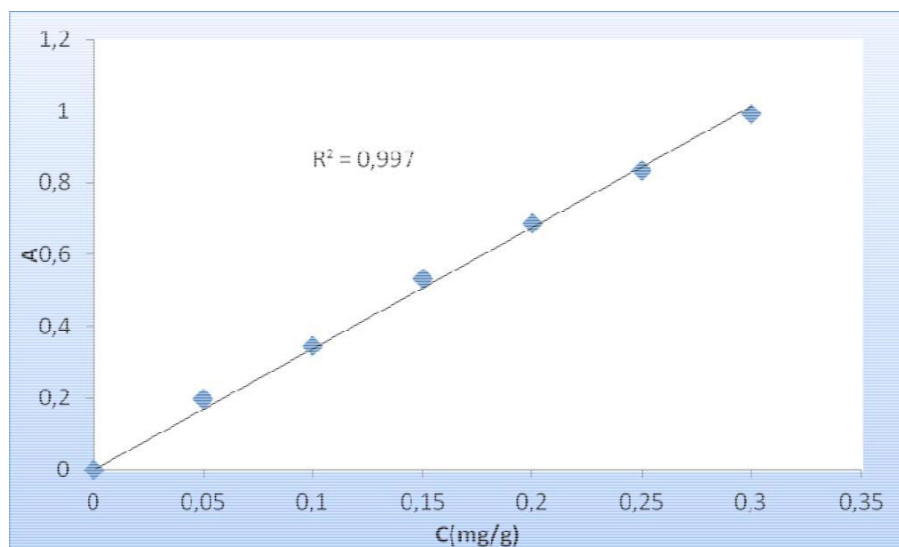
Altération	Facteurs déclenchant	Composés produits
Hydrolytique	Eau Enzymes	Formation de : Acide gras libres Glycérides partiels
Oxydative :la stabilité des corps gras à l'oxydation Est influencée négativement par l'air, la lumière et Plus précisément par l'énergie rayonnée par les radiations courtes (UV).les traces métallique (Fe et surtout Cu) sont des catalyseurs d'oxydation	Air	1. Formation de composés volatils responsables du Phénomène de rancissement 2. Formation de produits non volatils : composés polaires D'oxydation, polymérisés ou non polymérisés.
Thermique	Chauffage	Réaction de polymérisation, Cyclisation

Annexe

Annexe 7 : Représentation simplifiée de la cinétique de formation et de décomposition des hydroperoxydes et de la cinétique de formation des produits secondaires d'oxydation.

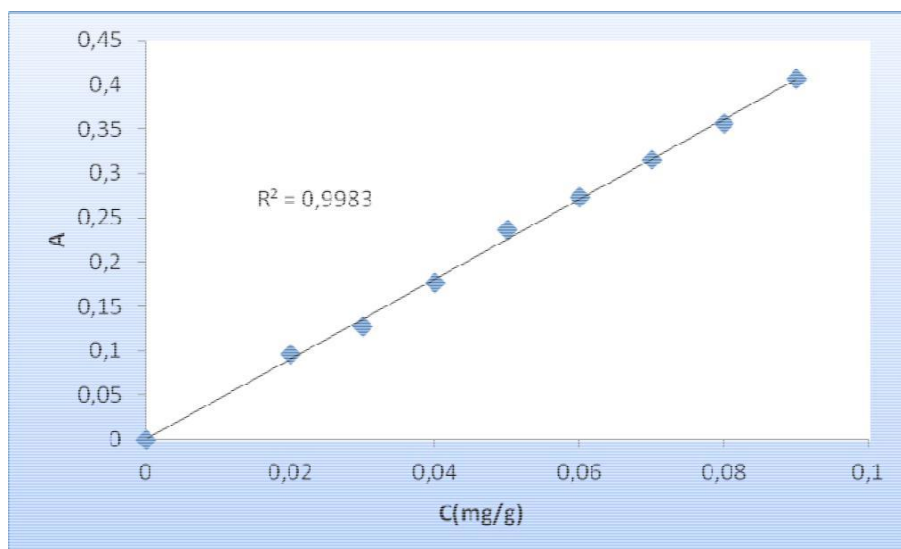


Annexe 8 : la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

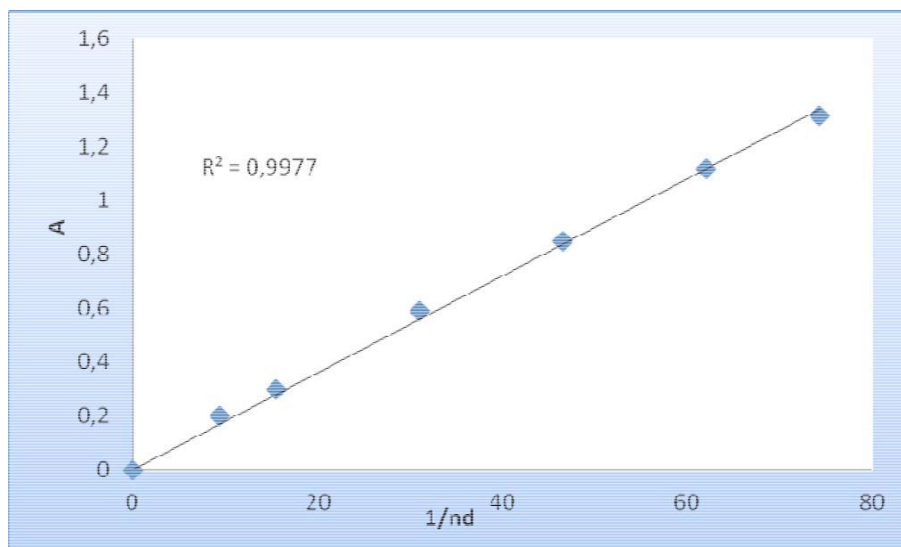


Annexe

Annexe 9 : la courbe d'étalonnage de la rutine.



Annexe 10 : Courbe d'étalonnage de la vitamine E.



الملخص: دراسة الزيوت الثابتة لبذور حبة البركة

الاسم : مادون وصال المشرف : د. مشراوي عمر

نبذة (حبة البركة) *Nigella Sativa L* هي شائعة الاستعمال في الطب العربي الإسلامي وخصوصا خلال عهد النبي محمد "صلى الله عليه وسلم" حبة البركة" دواء لكل داء إلا الموت"، وظلت هذه الكلمات لفترة طويلة لغزا محيرا للعلم حتى ظهور التقنيات الحديثة التي نجحت في إثبات الخصائص العلاجية للحبوب هذا النبات.

إن هذا العمل مكرّسا لدراسة الزيوت الثابتة للبذور وتتمين لكسب هذه البذور. وقد ركزنا في هذا العمل على دراسة التركيب الكيميائي لهذه الزيوت الثابتة (التوكوفيرولات والأحماض الدهنية والستيرولات، بوليفينول) والمستخلصات الفينولية باستخدام الكروماتوغرافيا والتقنيات اللونية. وكان الهدف الثاني هو معرفة مدى تأثير التخميص على التركيب الكيميائي للزيوت وفعاليتها البيولوجية. **النتائج المتحصلة:** أن الزيوت الثابتة غنية بالتوكوفيرولات (α -توكوفيرولات ($\beta + \gamma$) توكوفيرولات، α -توكوتريينولات) ويمثل حمض اللينوليك أكبر نسبة (60.8%). التخميص له تأثير كبير على التركيبة الكيميائية لزيوت *Nigella Sativa L* وعلى فعاليتها البيولوجية. **الكلمات المفتاحية:** نيجيلاساتيفا L، الزيوت الثابتة، بوليفينول، توكوفيرولات،

Résumé de ce mémoire :Etude phytochimique des grains de Nigella Sativa

Nom ;MadounWissal

Encadreur ;Dr Mechraoui Omar

Nigella sativa est une plante recommandée dans la thérapie arabo-musulmane est spécialement durant l'époque du prophète Mohamed «Sala Allah alliahi oua selem». « **El habbah sauda est un médicament pour toutes les maladies sauf la mort** », ces paroles sont restées pour longtemps un mystère pour la science jusqu'à l'arrivée des techniques modernes qui ont réussi à prouver les vertus thérapeutiques des grains de cette plante. Ce travail est consacré à l'étude des huiles fixes des graines et de la valorisation des tourteaux de ces graines. En premier lieu nous avons déterminé la composition chimique de ces huiles fixes (tocophérols, acide gras, stérols, polyphénols) et des extraits phénoliques, en utilisant des techniques chromatographiques et colorimétriques. Le deuxième objectif de ce travail est d'étudier l'effet de rôtissage sur la composition chimique des huiles et leur activité biologique. Les résultats obtenus montrent que les huiles sont riches en tocophérols (α -tocophérol, ($\beta + \gamma$) tocophérol, α -tocotrienol) et que l'acide linoléique représente le pourcentage le plus important (60.8%). Le rôtissage a un effet important sur la composition chimique des huiles et leur activité biologique.

Mots clés : *Nigella Sativa L*, les huiles fixes, les polyphénol, tocophérol, rôtissage, activité biologique.

Memory's title :Study phytochimique of grains Nigella Sativa

Name ;MadounWissal

Directed by ;Dr Mechraoui Omar

Nigella sativa is a plant recommended in Arab-Muslim therapy especially during the time of Prophet Muhammad "Sala Allah alliahi oua selem". "The black cumin is a Therapy for all diseases except death", these words remained for a long time a mystery for science until the arrival of modern techniques that have succeeded in proving the therapeutic virtues of the grains of this plant. This work is devoted to the study of the fixed oils of the seeds and the valorization of the cake of these seeds. In the first place we determined the chemical composition of these fixed oils (tocopherols, fatty acid, sterols, polyphenols) and phenolic extracts, using chromatographic and colorimetric techniques. the second objective of this work is to study the effect of roasting on the chemical composition of the oils and their biological activities. The results obtained show that the oils are rich in tocopherols (α -tocopherol, ($\beta + \gamma$) tocopherol, α -tocotrienol) and that linoleic acid represents the highest percentage (60.8%). Roasting has a significant effect on the chemical composition of the oils and their biological activity.

Key words: *Nigella Sativa L*, fixed oils, polyphenol, tocopherol, roasting, biological activity.
