



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA  
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

المدرسة الوطنية العليا للفلاحة - الحراش - الجزائر-

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE AGRONOMIQUE (ENSA)

EI - HARRACH – ALGER

*Thèse*

En vue de l'obtention du Diplôme de Doctorat en Agronomie

*par*

*Hadjadj Naima*

*Thème*

***Nigella sativa* : Optimisation de l'extraction  
d'huile par pressage et étude des fractions  
lipidique et phénolique**

**Jury**

<b>Président :</b> Abdelkrim Hacène	<b>Professeur</b>	(ENSA)
<b>Directeur de thèse :</b> Ferradji Ali	<b>Professeur</b>	(ENSA)
Mme Hammoudi Djelila	<b>Professeur</b>	(USTHB)
Mme Abrous-Belbachir Ouzna	<b>Professeur</b>	(USTHB)
Mme Doumandji Amel	<b>M. Conférence A</b>	(USDB)
Mr. Hazzit Mohamed	<b>M. Conférence A</b>	(ENSA)

**Soutenu le 19 /03/ 2015**

## *Remerciements*

*Je remercie Dieu le tout puissant de m'avoir donnée la force, le courage et la patience pour réaliser ce travail.*

*Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance et mon profond respect à mon promoteur, Monsieur **FERRADJI Ali**, Professeur à l'ENSA, pour avoir accepté d'encadrer ce travail et m'avoir dirigée, tout au long de ce travail.*

*J'adresse mes remerciements les plus sincères à Monsieur **ABDELKRIM Hacène**, Professeur à l'ENSA, d'avoir accepté d'assurer la présidence du jury.*

*J'exprime ma gratitude à Madame **HAMMOUDI Djelila**, professeur à l'université des sciences et de la technologie **HOUARI BOUMEDIENE** pour avoir spontanément et très aimablement accepté de juger et de corriger ce travail.*

*J'exprime toute ma gratitude également à Madame **ABROUS-BELBACHIR Ounza** professeur à l'université des sciences et de la technologie **HOUARI BOUMEDIENE** d'avoir accepté de faire partie du jury et examiner ce travail.*

*Mes remerciements les plus profonds vont à Madame **DOUMANDJI Amel** Maître de conférences A. à l'université de Blida pour ses encouragements durant tout mon travail et surtout durant les moments difficiles, et pour avoir bien voulu examiner ce travail.*

*Ma gratitude et reconnaissance profondes et sincères vont à Monsieur **HAZZIT Mohamed** Maître de conférences A. à l'ENSA pour sa perpétuelle disponibilité ses pertinents conseils, son aide et son encouragement, et pour avoir bien voulu examiner ce travail.*

*Je ne saurai jamais remercier assez Monsieur et Madame **DOUMANDJI** pour m'avoir ouvert les portes du département Zoologie Agricole et pour m'avoir fait sentir que je suis des leurs ainsi que tous le personnel.*

*Je tiens à remercier Mes dames **ISOLAH Rosa et BOUDOUMA Dalila**, professeurs à l'ENSA, pour leur aide et soutien moral durant les moments les plus difficiles.*

*Mes remerciements vont également à tous mes enseignants et tout le personnel du département de Technologie Alimentaire. Je tiens à remercier particulièrement **Djahida, Soumia, Ferial et Djamila** pour leur soutien, et leur aide.*

*Mes remerciements les plus amicaux sont pour particulièrement, mes amies **OUTTAR fahima et BERRAI Sabrina** de m'avoir donnée le courage de finaliser ce travail, ainsi qu'aux formidables et serviables étudiants ; Djamel, Oussama, (Mohamed)<sup>2</sup>, (Abd Rahmane)<sup>2</sup>, (Mounir)<sup>2</sup>, Tayeb, Aymene, Samir, Lamouri, Hamza, Djaafar, pour leur aide.*

*Je tiens également à exprimer ma reconnaissance aux personnes qui ont contribué à la réalisation de l' HPLC :*

***BENKACI Ali** Professeur à l'USTHB pour son aide.*

*Madame **ALIM chafia** pour m'avoir toujours soutenue et encouragée.*

*Madame **BETTACHE** ingénieur à L'école Nationale de la Police Scientifique de Château Neuf, pour son aide et sa disponibilité.*

*Monsieur **LATROUCHE El Hadj** chef du laboratoire central de l'intendance de l'Armée Nationale (LCI) de Beaulieu, et l'équipe du laboratoire d' HPLC, **Fouzia, Rachida, et Naima** pour leur coopération scientifique.*

*Madame **KRIMAT Soumia** enseignante à l'ENS de KOUBA d'être disponible à chaque fois que je la sollicite.*

*Je remercie également Mademoiselle **REGUEM Hanane** et son équipe du laboratoire ONAB de Gue de Constantine pour leur aide et particulièrement Madame **ELLA** de m'avoir donné beaucoup de son temps.*

*Ma reconnaissance va à Mme **BOUDOUR Ahlem** du laboratoire du CACQE de m'avoir aidée et encouragée.*

*Je remercie mes amies **DJATOU Dalila** et **SEID Nacéra** pour être toujours présentes à mes côtés.*

*Je ne saurai jamais remercier assez le personnel de tous les départements de l'ENSA, que je ne saurai énumérer, pour leur coopération et encouragements tout au long de ces années, qu'il me soit permis de leur exprimer ma profonde reconnaissance.*

*Enfin Je remercie très sincèrement toute ma famille et toutes les personnes qui d'une façon ou d'une autre, ont participé à l'élaboration de ce travail.*

## ***Dédicaces***

*Je dédie ce travail :*

*A la mémoire de mon père*

*A ma très chère formidable mère*

*A ma chère fille **Safia** qui a suivi mon travail avec attention, curiosité  
et patience et m'a accordée beaucoup de son temps.*

*A ma très chère et aimable nièce **Hanane**.*

*A toute la famille **HADJADJ**.*

*A tous ceux que j'aime.*

***Naima***

# Sommaire

<b>Introduction</b> .....	1
---------------------------	---

## *1<sup>ère</sup> Partie : Etude bibliographique*

<b>Chapitre I : Généralités sur la graine de nigelle</b> .....	3
1.1. Origine et description de la plante de <i>Nigella sativa</i> .....	3
1.1.1. Origine.....	3
1.1.2. Description.....	3
1.2. Place du genre <i>Nigella</i> dans la systématique.....	4
1.2.1. Autres espèces cultivées dans le monde.....	5
1.2.2. Noms vernaculaires.....	6
1.3. Aspects économiques.....	6
1.3.1. Les principaux pays producteurs.....	6
1.3.2. Les principaux pays exportateurs.....	6
1.3.3. Production des graines de nigelle en Algérie.....	6
<b>Chapitre II : Composition biochimique globale des graines de <i>Nigella sativa</i></b> .....	8
2.1. Composition biochimique des graines de <i>Nigella sativa</i> .....	8
2.1.1. L'huile fixe.....	9
2.1.1.1. Caractéristiques physico-chimiques.....	9
2.1.1.2. Fractions lipidiques.....	10
2.1.1.2.1. Acides gras des fractions lipidiques.....	10
2.1.1.2.2. Le profil en phospholipides et glycolipides.....	11
2.1.1.2.1.3. Le profil en stérols.....	12
2.1.1.2.1.4. Le profil en acides gras de l'huile de nigelle.....	13
2.1.2. L'huile essentielle.....	15
2.1.3. Les alcaloïdes.....	15
2.1.4. Les saponosides.....	16
2.1.5. Les protéines.....	16
2.1.5.1. Profil en acides aminés.....	17
2.1.6. Les vitamines et les sels minéraux.....	18
2.1.6.1. Les vitamines.....	18
2.1.6.2. Les sels minéraux.....	19
2.1.7. Composés phénoliques.....	19
<b>Chapitre III : Les polyphénols</b> .....	20
3.1. Définition.....	20
3.1.2. Biosynthèse des polyphénols.....	20

3.1.3. La structure.....	20
3.1.3.1. Les composés phénoliques simples.....	22
3.1.3.1.1. Les acides phénoliques.....	22
3.1.3.1.2. Les flavonoïdes.....	23
3.1.3.1.2.1. Structure et classification des flavonoïdes.....	23
3.1.3.1.2.2. Biosynthèse des flavonoïdes.....	24
3.1.3.1.2.3. Localisation et distribution des flavonoïdes.....	24
3.1.3.1.3. Les composés phénoliques condensés.....	26
3.1.3.1.3.1. Les tanins.....	26
3.1.5. Biodisponibilité des composés phénoliques.....	26
3.1.6. Rôle des composés phénoliques.....	26
3.1.6.1. Rôle des polyphénols dans la plante.....	26
3.1.6.2. Rôle biologiques des composés phénoliques.....	26
3.1.7. Les antioxydants phénoliques.....	27
3.1.7.1. Pouvoir antioxydant.....	27
3.1.7.2. Mécanisme antioxydant.....	27
3.1.7.3. Activité antioxydante des flavonoïdes.....	28
3.1.7.3.1. Pouvoir de piégeage des radicaux libres.....	29
3.1.7.3.2. Inhibition enzymatique.....	30

## **Chapitre IV : Propriétés pharmacologiques des graines et de l'huile de**

<b><i>Nigella sativa</i></b> .....	31
4.1. Propriétés de la graine entière.....	31
4.1.1. Usages comme épice.....	31
4.1.2. Usage en médecine traditionnelle.....	32
4.1.2.1. Graines.....	32
4.1.2.2. Huile.....	32
4.2. Propriétés pharmacologiques des extraits des graines de <i>Nigella sativa</i> .....	33
4.2.1. Activité anti-inflammatoire et analgésique de l'huile fixe et essentielle.....	33
4.1.2. Activité antibactérienne, antifongique et anti virale des extraits de graines, de l'huile fixe et de l'huile essentielle.....	33
4.1.2.1. Extrait des graines.....	33
4.1.2.2. Huile essentielle.....	34
4.1.2.3. Huile fixe.....	34
4.1.3. Activité antioxydante des graines et de l'huile fixe et essentielle.....	34
4.1.3.1. Activité antioxydante des graines.....	34
4.1.3.2. Activité antioxydante de l'huile essentielle.....	35
4.1.3.3. Activité antioxydante de l'huile fixe.....	35
4.1.4. Toxicité de <i>Nigella sativa</i> .....	36

## **Chapitre V : Extraction de l'huile des graines oléagineuses.....**

5.1. Procédé d'extraction de l'huile des graines oléagineuse.....	37
5.2. Prétraitements des graines.....	37

5.3. Pressage hydraulique des graines oléagineuses.....	37
5.3.1. Paramètres influençant le taux d'extraction d'huile.....	38
5.3.1.1. Influence de la température.....	38
5.3.1.2. Influence de la granulométrie.....	38
5.3.1.3. Influence de la pression.....	39
5.3.1.4. Effet de la teneur en eau.....	39
5.3.1.5. Effet du temps de pressage.....	39
5.3.1.6. Effet de l'épaisseur de l'échantillon et de la vitesse de pressage.....	40
5.4. Méthodologie de surface de réponse.....	40
5.4.1. Utilisation de la méthodologie des surfaces de réponse dans les procédés des sciences alimentaires.....	41

## *2<sup>ème</sup> Partie : Etude expérimentale*

<b>Chapitre I : Matériel et méthodes.....</b>	<b>42</b>
1.1. Matériel végétal.....	42
1.2. Méthodes analytiques.....	42
1.2.1. Caractéristiques physiques de la graine de nigelle.....	42
1.2.1.1. Densité des graines.....	42
1.2.1.2. Poids de 1000 graines .....	43
1.3. Localisation des sites producteurs d'huile.....	43
1.4. Analyses biochimiques de la graine de nigelle.....	43
1.4.1. Teneur en eau.....	43
1.4.2. Teneur en cendre.....	43
1.4.2.1. Expression des résultats.....	44
1.4.3. Dosage de l'azote total.....	44
1.4.4. Teneur en sucres.....	44
1.5. Dosage des composés phénoliques.....	44
1.5.1. Préparation de l'extrait brut.....	44
1.5.1.1. Préparation de l'extrait de l'acétate d'éthyle.....	45
1.5.2. Analyse de l'extrait de graines de <i>Nigella sativa</i> .....	45
1.5.2.1. Dosage des composés phénoliques.....	45
1.5.2.1.1. Dosage des phénols totaux.....	45
1.5.2.1.1.1. Principe.....	45
1.5.2.1.1.2. Mode opératoire.....	46
1.5.2.1.2. Dosage des flavonoïdes.....	46
1.6. Méthodes de détermination de l'activité antioxydante.....	46
1.6.1. Activité de piégeage du radical DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl) .....	47
1.6.1.1. Principe.....	47
1.6.1.2. Mode opératoire.....	48
1.6.1.3. Détermination de la concentration inhibitrice de 50% des radicaux (IC50).....	48
1.6.2. Pouvoir réducteur.....	48

1.6.2.1. Principe.....	48
1.6.2.2. Mode opératoire.....	49
1.6.2. Analyse statistique.....	50
1.7. Méthodes d'extraction de l'huile de nigelle.....	50
1.7.1. Préparation de l'échantillon.....	50
1.7.2. Extraction de l'huile par solvant .....	50
1.7.2.1. Expression des résultats.....	50
1.7.3. Extraction par presse hydraulique.....	51
1.7.4. Plan expérimental et analyse statistique.....	51
1.8. Méthodes de détermination des caractéristiques physico-chimiques de l'huile de graines de nigelle.....	53
1.8.1. Indices physico-chimiques de l'huile de graines de nigelle.....	53
1.8.1.1. Densité relative à 20°C.....	53
1.8.1.2. Indice de réfraction à 20°C.....	53
1.8.1.2.1. Expression des résultats.....	54
1.8.1.3. Dosage de l'acidité totale.....	54
1.8.1.3.1. Principe.....	54
1.8.1.3.4. Expression des résultats.....	54
1.8.1.4. Indice de peroxyde.....	54
1.8.1.4.1. Expression des résultats.....	55
1.8.1.5. Indice de saponification.....	55
1.8.1.5.1. Expression des résultats.....	55
1.8.1.6. Indice d'iode.....	56
1.8.1.6.1. Expression des résultats.....	56
1.8.1.7. Extraction de l'insaponifiable.....	56
1.8.1.7.1. Expression des résultats.....	56
1.8.1.8. Indice peroxydabilité.....	57
1.8.1.8.1. Expression des résultats.....	57
1.8.2. Dosage des acides gras de l'huile de graines de nigelle par chromatographie en phase gazeuse.....	57
1.8.2.1. Conditions opératoires.....	57
1.9. Analyse des polyphénols par chromatographie liquide à haute pression (HPLC).....	58
1.9.1. Principe.....	58
1.9.2. Mode opératoire.....	58
<b>Chapitre II : Résultats et discussion</b> .....	60
2.1. Localisation et répartition des sites producteurs d'huile dans la graine de nigelle.....	60
2.2. Caractéristiques morphologiques et physico-chimiques de la graine de nigelle.....	61
2.2.1. Caractéristiques morphologiques de la graine de nigelle.....	61
2.2.2. Caractéristiques physiques de la graine de nigelle.....	61
2.3. Caractéristiques biochimiques des graines.....	61
2.4. Caractéristiques physico-chimiques de l'huile des graines de nigelle extraite par solvant et par presse hydraulique à 25 °C.....	62

2.5. Composition en acides gras de l'huile de graines de nigelle extraite par presse à 25 °C.....	64
2.6. Les composés phénoliques extraits des graines de <i>Nigella sativa</i> .....	67
2.6.1 Rendement d'extrait sec contenant les composés phénoliques.....	67
2.6.2. Polyphénols totaux.....	67
2.6.3. Flavonoïdes.....	68
2.6.4. Activité anti antioxydante.....	69
2.6.4.1. Pouvoir de piégeage du radical DPPH.....	70
2.6.4.1.1. Concentration inhibitrice (IC <sub>50</sub> ) .....	71
2.6.4.2. Pouvoir réducteur.....	71
2.6.5. Identification des composés phénoliques des graines de <i>Nigella sativa</i> par chromatographie liquide à haute pression.....	72
2.6.5.1. Composés phénoliques identifiés dans les graines de <i>Nigella sativa</i> .....	73
2.6.5.1.1. Les acides benzoïques.....	76
2.6.5.1.2. Les acides cinnamiques.....	77
2.6.5.1.3. Les flavonoïdes.....	77
2.6.5.2. Intérêt physiologiques des composés phénoliques identifiés.....	78
2.6.5.2.1. Acides phénoliques.....	78
2.6.5.2.2. Les flavonoïdes.....	79
2.7. Optimisation des paramètres influençant l'extraction de l'huile de graines de nigelle par presse hydraulique en utilisant la Méthodologie des Surfaces de Réponse .....	79
2.7.1. Ajustement du modèle.....	79
2.7.2. Effet sur le rendement d'huile.....	81
2.7.3. Analyse des surfaces de réponse.....	82
2.7.3.1. Effets combinés de la pression et de la température sur le rendement en huile.....	83
2.7.3.2. Effets combinés de la température et de l'épaisseur de l'échantillon sur le rendement en huile.....	84
2.7.3.3. Effets combinés de la pression et de l'épaisseur de l'échantillon sur le rendement en huile.....	85
<b>Conclusion</b> .....	87

## **Références bibliographiques**

## **Annexes**

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1 :</b> Répartition des autres espèces de <i>Nigella</i> dans le monde.....	5
<b>Tableau 2 :</b> Composition biochimique de graines de nigelle cultivées dans différentes régions (g/100g MS).....	8
<b>Tableau 3:</b> Caractéristiques physicochimiques de l'huile de graines de nigelle cultivées dans différentes régions.....	9
<b>Tableau 4 :</b> Fractions lipidiques de l'huile de graines de nigelle en g/100g MS, influencées par la méthode d'extraction.....	10
<b>Tableau 5 :</b> Profil glyceridique des acides gras de l'huile de graines de nigelle en g/100gMS.....	11
<b>Tableau 6 :</b> Taux des principaux stérols identifiés par CG-MS dans l'huile fixe de nigelle algérienne.....	12
<b>Tableau 7 :</b> Teneur en stérols de l'huile de la graine de nigelles (%) cultivées dans différents pays.....	13
<b>Tableau 8 :</b> Composition en acides gras de l'huile de graines de nigelle cultivées dans différentes régions.....	14
<b>Tableau 9 :</b> Répartition en acides aminés des protéines de graines de <i>Nigella sativa</i> .....	17
<b>Tableau 10 :</b> Concentration en tocophérols et tocotriénols de quelques huiles végétales.....	18
<b>Tableau 11 :</b> Classe des composés phénoliques dans les plantes.....	21
<b>Tableau 12:</b> Structure des acides hydroxybenzoïques.....	22
<b>Tableau 13:</b> Structure des acides hydroxycinnamique.....	23
<b>Tableau 14 :</b> Niveaux des variables indépendantes influençant l'extraction de l'huile des graines de nigelle.....	52
<b>Tableau 15 :</b> Forme générale des résultats de l'analyse de la variance.....	52
<b>Tableau 16 :</b> Caractéristiques physiques de la graine de nigelle.....	61
<b>Tableau 17 :</b> Composition biochimique de la graine de nigelle (g/100g MS).....	62
<b>Tableau 18 :</b> Caractéristiques physico-chimiques de l'huile de graines de nigelle extraite par solvant et par presse à 25 °C comparées à la bibliographie.....	63
<b>Tableau 19 :</b> Composition en acides gras de l'huile de graines de nigelle étudiée et de celle des graines cultivées dans différentes régions.....	65
<b>Tableau 20:</b> Comparaison de la composition en acides gras de l'huile de nigelle étudiée à celle d'autres huiles végétales.....	66
<b>Tableau 21:</b> Teneur des polyphénols totaux (mg Equivalent d'Acide gallique/g d'extrait), des graines <i>Nigella sativa</i> .....	68

<b>Tableau 22:</b> Teneur en flavonoïdes (mg Equivalent de Quercétine/g d'extrait) des graines <i>Nigella sativa</i> .....	69
<b>Tableau 23 :</b> Concentration inhibitrice (mg/l) de 50% des radicaux DPPH (IC <sub>50</sub> ).....	71
<b>Tableau 24 :</b> Etalons des composés phénoliques avec leurs $\lambda$ max. et temps de rétention.....	73
<b>Tableau 25 :</b> Caractéristiques chromatographiques des différents acides benzoïques.....	77
<b>Tableau 26 :</b> Caractéristiques chromatographiques des différents acides cinnamiques.....	77
<b>Tableau 27 :</b> Caractéristiques chromatographiques des flavonoïdes.....	78
<b>Tableau 28 :</b> Conditions expérimentales et valeurs de réponses observées du CCD.....	80
<b>Tableau 29 :</b> Analyse de la variance (ANOVA) pour le modèle quadratique de surface de réponse pour le rendement d'huile extraite par presse hydraulique.....	82

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Dessin représentant la plante entière et ses annexes.....	4
<b>Figure 2</b> : Classification botanique.....	5
<b>Figure 3</b> : Structure chimique des principaux alcaloïdes de <i>Nigella sativa</i> .....	15
<b>Figure 4</b> : Structure des saponosides à hédéragénine isolés à partir des graines de <i>Nigella sativa</i> .....	16
<b>Figure 5</b> : Structure générale du noyau des flavonoïdes.....	23
<b>Figure 6</b> : Voie de biosynthèse des flavonoïdes.....	25
<b>Figure 7</b> : Schéma des réactions d'oxydation des lipides et niveau d'action des antioxydants (flèches bleues).....	28
<b>Figure 8</b> : Réaction des flavonoïdes avec les espèces oxygénées réactives.....	29
<b>Figure 9</b> : Flavonoïdes et leurs sites proposés pour la chélation des radicaux libres.....	30
<b>Figure 10</b> : Graine de <i>Nigella sativa</i> L.....	42
<b>Figure 11</b> : Forme libre (violette) et réduite (jaune) du DPPH.....	47
<b>Figure 12</b> : Schéma du protocole expérimental de l'évaluation du pouvoir réducteur.....	49
<b>Figure 13</b> : Presse hydraulique .....	51
<b>Figure 14</b> : Coupes transversales de la graine de nigelle, I et II, A : Huile de l'enveloppe de la graine, B : Endosperme, C : gouttelette d'huile).....	60
<b>Figure 15</b> : Chromatogramme des esters méthyliques de l'huile de graines de nigelle extraite par presse à 25 °C obtenu par CPG.....	66
<b>Figure 15</b> : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	68
<b>Figure 15</b> : Courbe d'étalonnage de la quercétine.....	69
<b>Figure 18</b> : Pouvoir de piégeage du radical DPPH (%) par l'extrait de graine de nigelle et par les antioxydants de synthèse (BHT, vitamine E, et acide ascorbique) à différentes concentrations.....	70
<b>Figure 19</b> : Evolution du pouvoir réducteur de l'extrait de graine de nigelle et des antioxydants de synthèse testés en fonction de la concentration.....	72
<b>Figure 20</b> : Composés phénoliques identifiés à 220 (nm) .....	74
<b>Figure 21</b> : Composés phénoliques identifiés à 254(nm).....	74
<b>Figure 22</b> : les composés phénoliques identifiés à 280 (nm).....	75
<b>Figure 23</b> : Composés phénoliques identifiés à 300 (nm).....	75
<b>Figure 24</b> : Composés phénoliques identifiés à 365 (nm).....	76
<b>Figure 25</b> : Valeurs prédites en fonction des valeurs observées du rendement d'huile des graines de <i>Nigella sativa</i> .....	84
<b>Figure 26</b> : Diagramme de la surface de réponse des effets combinés de la pression et de la température sur le rendement en huile.....	83

<b>Figure 27 :</b> Contour de diagramme des effets combinés de la pression et de la température sur le rendement en huile.....	84
<b>Figure 28 :</b> Diagramme de la surface de réponse des effets combinés de la température et de l'épaisseur de l'échantillon sur le rendement en huile.....	84
<b>Figure 29 :</b> Contour de diagramme des effets combinés de la température et de l'épaisseur de l'échantillon sur le rendement en huile.....	85
<b>Figure 30 :</b> Diagramme de la surface de réponse des effets combinés de la pression et de l'épaisseur de l'échantillon sur le rendement en huile.....	85
<b>Figure 31 :</b> Contour de diagramme des effets combinés de la pression et de l'épaisseur de l'échantillon sur le rendement en huile.....	86

## Liste des abréviations

AA.	Acide aminé
AAE.	Acide aminé essentiel
AANE.	Acide aminé non essentiel
AAE.	Acides aminés essentiels
AANE.	Acides aminés non essentiels
ADN.	Acide désoxyribonucléique
AG.	Acides gras
Ac.	Acide
AGL.	Acides gras libres
AGPI.	Acides gras polyinsaturés
ALAT.	Alanine aminotransférase
ASAT.	Aspartate aminotransférase
ASG.	Acylate steryl glucoside
ASG.	Acylate steryl glucoside
BHA.	Butyl hydroxy anisol
BHT.	Butyl hydroxy toluène
CCl <sub>4</sub> .	Tétrachlorure de carbone
CCM.	Chromatographie sur couche mince
CER.	Glucocerebrosides
CER.	Glucocérébroside
CG-MS.	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
CPG.	Chromatographie en phase gazeuse
DG.	Diglycérides
DGD.	Digalactosyl diacyl glycérol
DGD.	Diglucoyldiacylglycérol
DHA.	DocosaHexanoique Acide (C22 : 6 ω-3)
DPPH	Diphenylpicrylhydrazyl
EAG.	Equivalent acide gallique

EPA.	EcosaPentanoic Acide (C20 : 5 ω-3)
EQ.	Equivalent de quercitine
ES.	Ester de stérols
GGT.	γ-glutamyl transférase
HDL.	Hight density lipoprotéine
HPLC.	Chromatographie en phase liquide haute pression
I/S.	Total acides gras insaturés / total acides gras saturés
Inos.	Nitrique oxyde synthase inductible
KBrO <sub>3</sub> .	Bromate de potassium
LDL.	Low density lipoprotéine
LPS.	Lipopolysaccharide
M.	Masse
MG.	Monoglycérides
mg.	Milligramme
MGD.	Monogluosyldiacylglycerol
MGD.	Monogluosyldiacylglycerol
min.	Minute
MPa.	Mégapascale
MS.	Matière sèche
N.	Normale
ND.	Non détecté
nm.	Nanomètre
Ø.	Diamètre
ODS.	Octadécylsilice
OMS.	Oraganisation Mondiale de la Santé
PL.	Phospholipides
<i>PRESS.</i>	<i>Predicted residual sum of squares</i>
RDT.	Rendement
SDS-PAGE.	Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis
SG.	Sterylglucoside
SL.	Stérols libres
SQD.	Sulfoquinovosyl diacylglycérol
TAI.	Total acides gras insaturés
TAMI.	Total acides gras monoinsaturés
TAPI.	Total acides gras polyinsaturés

TAS.	Total acides gras saturés
TBHQ.	Tert-butylhydroquinone
TG.	Triglycerides
THQ.	Thymohydroquinone
Tot.	Total
TQ.	Thymoquinone
Tr.	Temps de rétention
tr.	Trace
TS	Total sterols
TSO.	Total oxysterols
UV.	Ultraviolet
$\alpha$ .	Alpha
$\beta$ .	Bêta
$\gamma$ .	Gamma
$\delta$ .	Delta
$\omega$ .	Oméga

# *Introduction*

## Introduction

L'oxydation est une des principales causes à l'origine du vieillissement cellulaire, des maladies neurodégénératives (Alzheimer, Parkinson) des maladies cardiovasculaires, le cancer ainsi que de l'altération des produits alimentaires et cosmétiques. L'utilisation d'antioxydants de synthèse s'avère souvent une alternative indispensable. Mais, les composés synthétiques utilisés sont critiqués en raison des problèmes qu'ils peuvent engendrer sur la santé.

Le recours à des phyto-nutriments doués d'activités antioxydantes s'avère très avantageux et d'actualité. Ainsi, les extraits de fruits et légumes et les extraits de plantes tels que l'extrait de graines de nigelle ont focalisé ces dernières années un intérêt accru comme source potentielle de molécules naturelles bioactives pouvant constituer une alternative aux produits de synthèse **Macheix et al.**,(2006). A cet effet les extraits des graines de nigelle comptent parmi les plus étudiés.

En effet plusieurs travaux de recherche ont été menés sur les effets bénéfiques des graines de nigelle et de leurs extraits dans plusieurs domaines médicaux (**Goreja**, 2003), tels que l'activité gastrique (**El Dakhakhny** 1965), l'activité anti-inflammatoire, analgésique, antipyrétique et antifongique (**Bourel et al.**, 1993; **Al Ghamdi**, 2001 ), la toxicologie (**Daba et Abdel Rahman**, 1998; **Badary et al.**, 2000 ), la cancérologie (**Badary**, 2000), la cytogénétique (**Aboul-Ela**, 2002), l'hématologie (**Zaoui et al.**, 2002; **Aljishi et Abou Hozaifa**, 2003), la neuropharmacologie (**Al Naggar et al.**, 2003), l'insulinotropie (**Fararh et al.**, 2002; **Benhaddou Andaloussi et al.**, 2004), activité gastro-protectrice (**Fararh et al.**, 2004), le diabète (**Meral et al.**, 2004), et la bactériologie (**Manoj Nair**, et al., 2005).

Les graines de nigelle ont été recommandées par le prophète Mohamed (QSSL) pour ses bienfaits sur la santé dans le Hadith Sahih: « *Soignez-vous en utilisant la graine de nigelle, c'est un remède contre tous les maux à l'exception de la mort* ». Ce qui a constitué une tradition chez les musulmans en se référant à cette graine et à son huile pour guérir un bon nombre de maladies.

Depuis 1963 jusqu'à nos jours plusieurs travaux de recherches ont confirmé les propriétés pharmacologiques des graines de nigelle et de son huile pour la santé humaine.

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail dont l'objectif est double :

D'une part il vise l'étude des propriétés anti oxydantes de l'extrait non volatil des graines de nigelle qui sont connues pour leur richesse en composés phénoliques et celle de la qualité nutritionnelle des acides gras que renferme l'huile.

Et d'autre part : contribuer à l'étude d'une méthode d'extraction de l'huile des graines de nigelle par presse, en optimisant l'effet de certains paramètres tels que ; la température, la pression et l'épaisseur de l'échantillon sur le rendement en huile par la Méthodologie des Surfaces de Réponse.

Le travail réalisé s'articule sur quatre parties :

- 1- Détermination des propriétés physico-chimiques des graines de nigelle et de son huile.
- 2- Détermination des propriétés antioxydantes de la graine de nigelle.
- 3- Identification des composés phénoliques de la graine de nigelle par Chromatographie Liquide à Haute Pression (*HPLC*).
- 4- Optimisation de l'extraction de l'huile par pressage en utilisant la Methodologie des Surfaces de Réponse (*MSR*).

*1<sup>ère</sup> Partie*

*Etude*

*bibliographique*

*Chapitre I*  
*Généralités sur la*  
*graine de Nigelle*

# CHAPITRE I

## Généralités sur la graine de nigelle

### 1.1. Origine et description de la plante de *Nigella sativa*

#### 1.1.1. Origine

*Nigella sativa* est originaire de l'Asie occidentale. Sa culture s'est propagée depuis l'Asie jusqu'en Afrique et en Amérique. Elle est très répandue en Inde, en Iraq et dans certains pays de la méditerranée, notamment la Syrie, la Turquie et les pays d'Afrique du nord (Mokkedem, 2004 ; Teuscher et al., 2005).

#### 1.1.2. Description

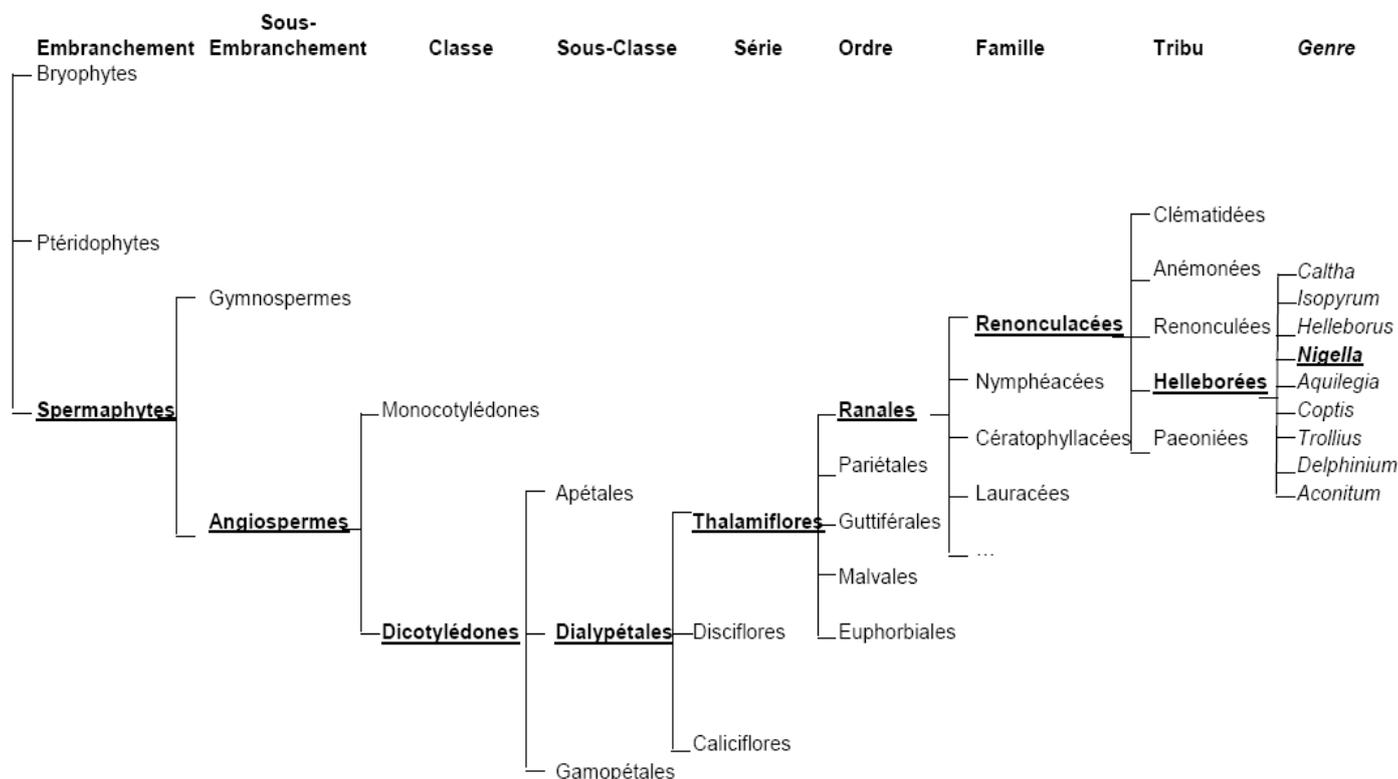
*Nigella sativa* est une plante annuelle herbacée d'une hauteur moyenne de 30 à 60 cm, de croissance rapide, qui possède des feuilles très découpées avec des rameaux serrés entre eux et un port dressé. Les fleurs sont de couleur blanche en forme étoilée très riches en nectar. La plante est hermaphrodite à reproduction autonome dont le fruit est une capsule formée de 3 à 6 carpelles soudées entre eux jusqu'à la base. Chaque capsule contient plusieurs graines qui sont blanches après la nouaison et prennent une couleur noire à maturité. Les graines sont aromatiques, triangulaires, anguleuses, d'un noir intense, de 2 à 3 mm de longueur (Figure 1) (Quezel et Santas, 1962; Gaussen et al., 1982; Teuscher et al., 2005).



**Figure 1** : Dessin représentant la plante entière et ses annexes.

## 1.2. Place du genre *Nigella* dans la systématique

Les taxons (*ensemble d'individus reels*) ont été définis en se basant sur la séparation ou non des pétales entre elles : apétales, dialypétales, gamopétales (**Bentham** et **Hooker**, 1862-1883). La classification de **Hutchinson**, (1973) a été établie par la subdivision des dicotylédones en deux grands phylums : les plantes herbacées et les plantes ligneuses qui ont été chacune subdivisées en ordres. Le genre *Nigella* qui fait partie du phylum des herbacées appartient à l'ordre des Renonculaire, famille de Renonculacées et tribu des Helleborées. Plusieurs espèces ont été identifiées dans le genre *Nigella*. Parmi les espèces les plus étudiées en plus de *Nigella sativa* on cite trois, décrites selon **Negre** (1962), *Nigella hispanica*, *Nigella arvensis*, *Nigella damascena*, et deux décrites selon **D'antuono** et *al.*, (2002), *Nigella gallica*, *Nigella orientalis*. La place du genre *Nigella* dans la systématique est indiquée dans le schéma de la Figure 2(**Ozenda**, 2000).



**Figure 2** : Classification botanique selon **Bentham et Hooker** (1862-1883).

### 1.2.1. Autres espèces cultivées dans le monde

Le Tableau 1 présente la répartition des autres espèces de cultivées de *Nigella* dans le monde.

Espèce de <i>Nigella</i>	Répartition dans le monde
<i>Nigella cretica</i> Miller	Crète
<i>Nigella degenii</i> Vierth	Iles Cyclades, Carpates, Crète et Grèce
<i>Nigella segetalis</i> Bieb	Sud de l'Ukraine et Russie
<i>Nigella fumariifolia</i> Kotschy	Carpates, Crète et Chypre
<i>Nigella elata</i> Boiss	Asie mineure et Chypre
<i>Nigella doerfleri</i> Vierth	Crète
<i>Nigella nigellastrum</i>	Ensemble de la méditerranée à l'exception du Nord de l'Afrique
<i>Nigella ciliaris</i>	Chypre et Palestine

**Tableau 1** : Répartition des autres espèces de *Nigella* dans le monde (**Tuttin**, 1964 ; **Fournier**, 2001).

### 1.2.2. Noms vernaculaires

Les appellations de la nigelle dans les différentes langues sont les suivantes:

Arabe	Sinouj, Sanouz, Shunez, Habbah sauda Habbet el beraka, Kamun aswad
Français	Cheveux de Vénus, Nigelle, Poivrette Cumin noir
Anglais	Fennel flower, Onion seed, Black Cumin Black Caraway, Black seed
Allemand	Zwiebelsame, Nigella, Schwarzkümmel
Grec	Melanthion
Italien	Nigella, Grano nero
Espagnol	Niguilla, Pasionara
Norvégien	Svartkarve
Suédois	Svartkummin
Hébreux	HébreuKatzah, Qetsach, Qetsah
Turque	Corekotu siyah
Indienne	Kalounji, Munga reala.

## 1.3. Aspects économiques

### 1.3.1. Les principaux pays producteurs

Les principaux pays producteurs de la nigelle sont : les USA, l'Inde, le Pakistan, l'Irak, l'Iran, le Yémen, la Syrie, la Jordanie, l'Ethiopie, le Soudan et l'Egypte (**Jansen**, 1981 ; **Teuscher** et *al.*, 2005).

### 1.3.2. Les principaux pays exportateurs

Les principaux pays exportateurs de la nigelle sont l'Inde, l'Egypte, le Moyen-Orient et le sud de l'Europe (**Teuscher** et *al.*, 2005).

### 1.3.3. Production des graines de nigelle en Algérie

En Algérie la culture de nigelle est limitée à l'échelle traditionnelle dans les régions suivantes : Ouargla, Biskra, Timimoun, Adrar, Médéa et Skikda (**Mokkedem**, 2004; **Benkaci**, 2007 et 2012). Il convient de souligner que *Nigella sativa* est de loin la plus abondante et la

plus cultivée à l'échelle mondiale et locale, *Nigella arvensis* et *Nigella damascena*, sont pratiquement indisponibles sur le marché et dans les champs de culture. Elles sont plutôt localisées dans des endroits isolés à l'état sauvage (**Benkaci**, 2007). L'Algérie importe la nigelle principalement de l'Inde, de la Chine et de la Syrie. Les importations globales en graines et fruits oléagineux (dont la nigelle) ont été estimées en 2007 à 1 737 804 kg (Tableau 1, annexe).

*Chapitre II*

*Composition biochimique  
globale des graines de  
Nigella sativa*

**CHAPITRE II****Composition biochimique globale des graines de  
*Nigella sativa*****2.1. Composition biochimique des graines de *Nigella sativa***

La composition biochimique des graines de *Nigella sativa* rapportée par la littérature est présentée par le Tableau 2. Les valeurs montrent que les graines de *Nigella sativa* sont riches en lipides totaux (36,8 % MS) suivis de protéines (25,09 % MS) et de glucides (23,81% MS). Ces teneurs indiquent que les graines de nigelle constituent une excellente source d'huile, de protéine et de glucides pour l'alimentation humaine (Atta, 2003 ; Cheikh Rouhou, 2006 ; Hadjadj, 2008).

**Tableau 2 :** Composition biochimique de graines de nigelle cultivées dans différentes régions (g/100g MS).

Constituants	Egypte <sup>a</sup>	Tunisie <sup>b</sup>	Algérie <sup>c</sup>
Teneur en eau	7,0	8,65	10,48
Teneur en protéines	20,8	26,7	25,09
Teneur en cendres	3,7	4,86	4,60
Sucre totaux (par différence)	33,7	40,05	23,81
Lipides totaux	34,8	28,48	36,8
Lipides totaux des téguments	ND	ND	34,59

(a : Atta, 2003; b: Cheikh Rouhou, 2006 ; c : Hadjadj, 2008), ND: non déterminée.

**2.1.1. L'huile fixe**

La graine de nigelle renferme une teneur en huile qui varie de 28 à 40g/100g MS. L'huile est constituée principalement de lipides neutres (97,2% -93.2%), de lipides polaires (3% - 3,2%) et de phospholipides (1,05% - 2,1%) (**Ramadanet Mörsel**, 2002a ; **Abbas Ali** et *al.*, 2012).

**2.1.1.1. Caractéristiques physico-chimiques**

Le Tableau 3 rapporte les valeurs des différents indices physicochimiques de l'huile extraite de graines de *Nigella sativa* cultivées dans différentes régions. On constate que les teneurs en huile varient de 32 à 40,35 %. Une indication sur la siccativité d'une huile est donnée par son indice d'iode plus il est élevé et plus l'huile contient de molécules insaturées (plus il y a de doubles liaisons C=C) donc est susceptible de se réticuler à l'air. On parle d'huiles siccatives si l'indice d'iode est supérieur à 150, semi-siccatives s'il est compris entre 110 et 150 et non siccatives si cet indice est inférieur à 110. Ainsi on constate que selon les valeurs des indices d'iode indiquées par le Tableau 3 en fonction de la teneur des acides gras insaturés, l'huile de nigelle peut être semi siccative ou non siccative (**Atta**, 2003 ; **Cheikh-Rouhou** et *al.*, 2006 ; **Abbas Ali** et *al.*, 2012).

**Tableau 3:** Caractéristiques physicochimiques de l'huile de graines de nigelle cultivées dans différentes régions.

Propriétés	Egypte <sup>a</sup>	Tunisie <sup>b</sup>	Iran <sup>c</sup>	Bangladesh <sup>d</sup>
Huile extraite (%)	34,78	28,48	40,35	32,00
Densité	0,9210±0,0002	ND	ND	0.9071±0,0041
Indice de réfraction (à 22°C)	1.4721±0,0002	1.47± 0,01	1,46±0,01	1.4683±0,003
Acidité exprimée en % d'acide oléique	6,7±0,4	ND	ND	ND
Indice de peroxyde (mEq O <sub>2</sub> /kg d'huile)*	10,7±0,4	5.65±1,87	4.35±1,38	12.7±0,1
Indice d'iode (g I <sub>2</sub> /100 g huile)	128±21	119±3,45	101± 2,72	115±0,8
Indice de saponification (mg KOH / g huile)	203±3,0	211±5,32	218± 8,24	204±2
Matières Insaponifiables (%)	1,8±0,3	ND	ND	1.2±0,7

(a : **Atta**, 2003; b et c : **Cheikh Rouhou** et *al.*, 2006 ; d : **Abbas Ali** et *al.*, 2012), ND : non déterminée .

**2.1.1.2. Fractions lipidiques**

**Atta**, (2003) a signalé que l'huile extraite par pressage et par solvant contient les monoacylglycérols, les diacylglycérols, les triacylglycérols, les stérols libres, les esters de stérol, et les acides gras libres, avec une dominance des triacylglycérols et les acides gras libres (Tableau 4).

**Tableau 4** : Fractions lipidiques de l'huile de graines de nigelle en g/100g MS, influencées par la méthode d'extraction (**Atta**, 2003).

Classe lipidique	Extraction par presse	Extraction par solvant
<b>Lipides polaires</b>	3,7 ± 0,2	4,8 ± 0,8
<b>Monoacylglycerols</b>	4,8 ± 0,7	5,7 ± 0,5
<b>Acides gras libres</b>	<b>14,2 ± 0,5</b>	<b>8,3 ± 0,2</b>
<b>Diacylglycerols</b>	5,1 ± 0,7	4,1 ± 0,8
<b>Triacylglycerols</b>	<b>57,5 ± 2</b>	<b>63,2 ± 2,2</b>
<b>Ester de sterols</b>	2,5 ± 0,4	4,4 ± 0,4
<b>Stérols libres</b>	3,0 ± 0,8	5,0 ± 0,6
<b>Inconnus</b>	5,4 ± 0,5	4,5 ± 0,3

**2.1.1.2.1. Acides gras des fractions lipidiques**

L'acide linoléique (C18 :2) est le principal acide gras essentiel identifié dans les fractions lipidiques suivantes : les triglycérides, les diglycérides et les acides gras libres, respectivement dans les proportions de ; 44,0%, 37% et 30,7%. Le même auteur a constaté que l'acide myristique a des teneurs élevées dans la fraction des monoglycérides (37,8%) et des esters de stérol (48,7%), (Tableau 5) (**Atta**, 2003).

**Tableau 5** : Profil glyceridique des acides gras de l'huile des graines de nigelle en g/100g MS (Atta, 2003).

Acides gras	AGL	MG	DG	TG	ES
<b>C14 : 0</b>	9,4	<b>37,8</b>	17,4	5,3	<b>48,7</b>
<b>C16 : 0</b>	11,7	12,6	15,1	17,5	11,5
<b>C16 : 1</b>	-	-	0,9	1,7	-
<b>C18 : 0</b>	8,3	3,3	3,9	6,5	4,8
<b>C18 : 1</b>	28,4	10,3	14,1	15,1	7,2
<b>C18 : 2</b>	<b>30,7</b>	32,0	<b>37,2</b>	<b>44,0</b>	17,1
<b>C18 : 3</b>	0,7	0,5	0,7	1,9	1,1
<b>C20 : 0</b>	3,5	-	0,9	1,1	4,3
<b>C22 : 0</b>	-	-	1,3	0,9	-
<b>C22 : 1</b>	6,6	-	4,9	2,8	2,1
<b>Inconnu</b>	0,7	3,6	3,6	3,2	3,2

(-) : absence

#### 2.1.1.2.2. Le profil en phospholipides et glycolipides

**Ramadan** et **Morsel**, (2003) ont rapporté que les composants majeurs des fractions lipidiques de l'huile de graines de nigelle sont des lipides neutres, principalement les triglycérides qui sont évalués à 97,2%, suivis par les lipides polaires évalués à 3% entre phospholipides et glycolipides. L'analyse des phospholipides (PL) par chromatographie liquide à haute pression (HPLC) a permis d'identifier principalement 7 constituants ; phosphatidyl choline (46% des PL), phosphatidyl éthanolamine (25%), phosphatidyl sérine (12%), phosphatidyl inositol (9,56%), lysophosphatidyl choline (4,23%), phosphatidyl glycérol (1,51%) et lysophosphatidyl éthanolamine (1,2%) (**Ramadan** et **Mörsel**, 2002a).

Une étude complémentaire sur les glycolipides de *Nigella sativa* a permis de séparer et d'identifier six composés dont le plus abondant est le digalactosyl diacyl glycérol (DGD) qui forme 55,6% des glycolipides totaux suivi par le glucocérobroside (CER) avec 11,9%. L'acylate steryl glucoside (ASG), le monoglucosyl diacylglycerol (MGD) et le sterylglucosyde (SG) sont trouvés à des quantités égales et représentent ensemble environ 30% du total du glycolipide. Cependant, les sulfoquinovosyl diacylglycérol (SQD) ne représentent que 5,08 % (**Ramadan** et **Mörsel**, 2003).

Il est admis que les lipides complexes surtout les phospholipides et glycolipides occupent une place fondamentale dans la structure des tissus nerveux et de ses enveloppes. Les glycolipides sont impliqués directement dans le transfert d'information qui contrôle l'activité métabolique cellulaire, ils sont également impliqués en tant que récepteurs de virus, de métabolites régulateurs (hormones, interféron, anticorps, antigènes ...) (**Louisot**, 1980). Du point de vue nutritionnel **Sugawara et Miyazawa**, (1999) ont mentionné que la moyenne journalière d'apport en glycolipides est de 140 mg d'ASG, 65 mg de SG, 50 mg de CER, 90 mg de MGD, et 220 mg de DGD. Par conséquent, l'huile de graines de nigelle constitue une excellente source de glycolipides dans l'alimentation humaine (**Ramadan et Morsel**, 2003). Les fractions glycolipidiques et leur profil en acides gras sont rapportés dans les Tableaux 2 et 3, annexe.

### 2.1.1.2.1.3. Le profil en stérols

**Benkaci et al.**, (2012) en étudiant la composition en stérols par CG et CG-MS de l'huile fixe de *Nigella sativa* issue de quatre régions d'Algérie (Ouargla, Timimoun, Adrar, et Medea) ont confirmé la dominance de  $\beta$ -sitostérol (53.16%) suivi par le stigmastérol (21.48%), l'avenastérol (15.71%), et le campestérol (15.65%) (Tableau 6).

**Tableau 6** : Taux des principaux stérols identifiés par CG-MS dans l'huile fixe de nigelle algérienne (**Benkaci**, 2012).

Stérols	Ouargla	Timimoun	Adrar	Medea
<b>Cholestérol</b>	1,01	1,08	1,68	1,44
<b>Campesterol</b>	12,51	15,65	13,62	13,00
<b>Desmosterol</b>	1,01	-	0,48	1,61
<b>Stigmasterol</b>	18,22	21,48	18,79	16,18
<b><math>\gamma</math>-Sitosterol</b>	0,59	-	1,09	1,55
<b><math>\beta</math>-sitostérol</b>	53,00	44,41	52,12	53,16
<b><math>\Delta 5</math>- Avenasterol</b>	12,22	15,71	11,57	11,26
<b>Hydroxy-stérol</b>	0,54	0,81	-	0,57
<b><math>\Delta 7</math>-Cholestérol</b>	0,81	0,86	0,65	-
<b>TS. mg/g huile</b>	0,983	0,812	0,810	1,053
<b>TSO. mg/g huile</b>	0,988	0,819	0,812	1,059

TS: total stérols, TSO: total oxysterols, (-): absence

Les phytostérols sont des composés naturels présents dans les plantes, les graines oléagineuses, le germe de blé et les huiles non raffinées. Les stérols végétaux se présentent principalement sous forme de stérols libres ou estérifiés dans les huiles et les graisses (**Piironen** et *al.*, 2000). Les sources naturelles en stérols sont l'huile de maïs (830 à 968 mg/100g), l'huile de colza (584 mg/100g) et l'huile d'olive (225 à 258 mg/100g). L'huile de graines de nigelle est riche en  $\beta$  sitostérol qui a la propriété d'inhiber l'absorption du cholestérol alimentaire. De nombreuses études ont montré que la consommation d'environ 2g par jour de  $\beta$ -sitostérol abaisse le LDL-cholestérol d'environ 10% (**Moghadasian** et **Frohlich**, 1999; **Ostlund** et *al.*, 2004). La teneur en stérols de l'huile la graine de nigelle cultivée dans différentes régions est présentée par le Tableau 7.

**Tableau 7 :** Teneur en stérols de l'huile la graine de nigelles (%) cultivées dans différents pays.

Stérols	Tunis <sup>a</sup>	Iran <sup>b</sup>	Algérie <sup>c*</sup>	Maroc <sup>d</sup>	Turquie <sup>e</sup>
Cholestérol	1,28	0,93	1,68	0,8	-
Campestérol	13,76	12,09	15,65	12,8	14,71
Stigmastérol	20,92	16,57	21,48	18 $\pm$ 1	18,70
$\beta$ -sitostérol	44,53	53,95	53,16	51,3	57,41
$\Delta$ 5-Avenastérol	-	-	15,71	8	7,34
$\Delta$ 7-Stigmastérol	2,22	1,60	-	0,7	0,89
$\Delta$ 7-Avenastérol	2,24	1,17	-	1,3	1,58

(a et b : **Cheikh Rouhou** et *al.*, 2007; c : **Benkaci** et *al.*, 2012, \* meilleur taux des 4 régions Algériennes ; d: **Gharby** et *al.*, 2013; e: **Kiralan** et *al.*, 2014), (-) : trace.

#### 2.1.1.2.1.4. Le profil en acides gras de l'huile de nigelle

L'analyse de l'huile des graines *Nigella sativa* 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, eicosenoique, behénique, a été également rapportée (**Cheikh Rouhou** et *al.*, 2006 ; **Abbas Ali** et *al.*, 2012 ; **Benkaci** et *al.*, 2012 ; **Kiralan** et *al.*, 2014) (Tableau 8).

**Tableau 8** : Composition en acides gras de l'huile de graines de nigelle cultivées dans différentes régions.

Acide gras (%)	Egypte <sup>a</sup>	Tunis <sup>b</sup>	Iran <sup>c</sup>	Maroc <sup>d</sup>	Bangladesh <sup>e</sup>	Turkie <sup>f</sup>
<b>Myristic</b> C <sub>14:0</sub>	9,8	0,35	0,41	0,2	1,7	0,14
<b>Myristoleic</b> C <sub>14:1</sub>	-	-	-	-	-	-
<b>Palmitic</b> C <sub>16:0</sub>	9,9	17,2	18,4	11,9	16	11,84
<b>Palmitoleic</b> C <sub>16:1</sub>	0,7	1,15	0,78	0,2	-	0,24
<b>Stéaric</b> C <sub>18:0</sub>	3,3	2,84	3,69	3,2	4	2,81
<b>Oléic</b> C <sub>18:1</sub>	20,1	25	23,7	24,9	23,5	23,85
<b>Linoléic</b> C <sub>18:2</sub>	49,0	50,31	49,15	56,5	52,6	57,52
<b>Linolenic</b> C <sub>18:3</sub>	2,7	0,34	0,32	0,2	2,3	0,27
<b>Arachidic</b> C <sub>20:0</sub>	0,7	0,14	0,22	0,2	-	0,16
<b>Eicosenoic</b> C <sub>20:1</sub>	-	0,32	0,34	-	-	0,31
<b>Béhénic</b> C <sub>22:0</sub>	0,8	1,98	2,60	-	-	-
<b>C22:1</b> Erucique	1,0	-	-	-	-	-
<b>C24:0</b> Lignocéric	0,3	-	-	-	-	0,26
<b>Tot. AG connus</b>	98,3	99,63	99,61	97,3	100	97,4
<b>Tot. AGI inconnus</b>	1,7	0,37	0,39	2,7	-	2,6
<b>TAS</b>	24,8	22,7	25,5	15,5	21,7	15,21
<b>TAI</b>	73,5	77,12	74,29	82,1	78,4	82,19
<b>TAMI</b>	21,8	26,6	25,0	25,1	23,5	24,4
<b>TAPI</b>	51,7	50,7	49,8	56,7	54,9	57,79
<b>I/S</b>	3,0	3,0	3,0	5,0	3,0	5,0

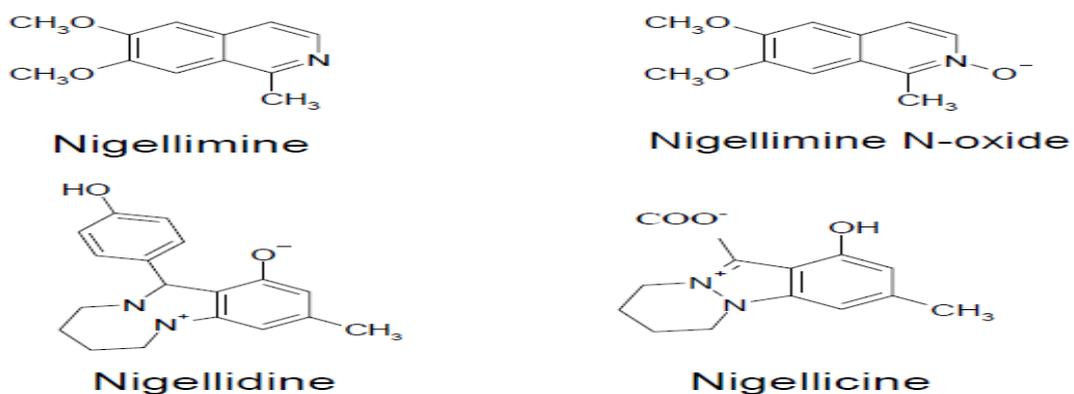
(a :Atta 2003; b et c: **Cheikh Rouhou et al.**, 2006;d : **Gharby et al.**, 2013 ; e : **Abbas Ali et al.**, 2012 ; f : **Kiralan et al.**, 2014,(-) : non detectée

### 2.1.2. L'huile essentielle

**Mahfouz** et *al.*, (1960) ont montré que la plupart des activités pharmacologiques attribuées à *Nigella sativa* provenaient de son huile essentielle. **El Dakhakhny**, (1963) et **Canonica** et *al.*, (1963) ont isolé la thymoquinone et d'autres constituants dans l'huile essentielle de nigelle. La teneur en huile essentielle des graines est de 0,50 g/ 100 g MS, (**Benkaci** et *al.*, 2007 ; **Kolahdooz** et *al.*, 2014). L'analyse de l'huile par GC-MS réalisée par **Burits** et **Bucar**, (2000) a permis d'identifier 32 composants, dont la majorité d'entre eux sont des monoterpènes ; la thymoquinone (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*-anethol (0,25-4,28%). En 2007, **Benkaci** et *al.*, ont extrait l'huile essentielle de *Nigella sativa* cultivée au Sahara Algérien (Timimoun et Adrar) par deux méthodes différentes : l'hydrodistillation classique et l'hydrodistillation assistée par micro-ondes. Ces huiles ont été analysées par GC et GC-MS, 112 composés ont été identifiés et caractérisés, le *p*-cymène représente toujours le composé le plus abondant suivi de la thymoquinone. Ces résultats ont été confirmés par une étude récente effectuée sur huile de nigelle cultivée en Iran (**Kolahdooz** et *al.*, 2014).

### 2.1.3. Les alcaloïdes

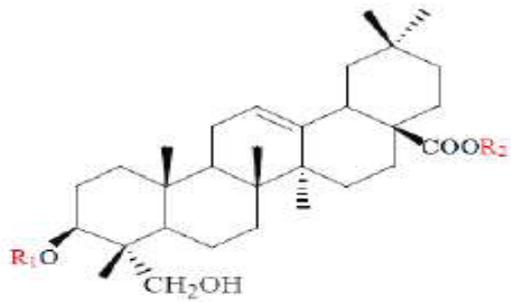
Les alcaloïdes sont des substances présentant un caractère alcalin, contenant de l'azote, le plus souvent inclus dans un hétérocycle. Les alcaloïdes ont, pour la plupart, des actions physiologiques et thérapeutiques à faibles doses. Ils deviennent cependant très toxiques à fortes doses. Les plus importants alcaloïdes isolés à partir des graines de *Nigella sativa* sont : la nigellicine, la nigellidine, l'isoquinone nigellimine et la nigellimine N-oxyde (**Atta Ur Rahman** et **Zaman**, 1992 ; **Atta Ur Rahman** et *al.*, 1985a, 1985b, 1995) (Figure 3).



**Figure 3** : Structure chimique des principaux alcaloïdes de *Nigella sativa*.

### 2.1.4. Les saponosides

Les saponosides sont des hétérosides de stérols ou de triterpènes 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 à partir des graines de *Nigella sativa* est la mélianthine, dont l'aglycone est l'hédéragénine (**Greenish**, 1880). Récemment, d'autres saponosides ont pu être isolés à partir d'un extrait éthanolique des graines de *Nigella sativa* dont le 3-O-(beta-D-xylopyranosyl-(1-3)-alpha-L-rhamnopyranosyl-(1-2)-alpha-L-arabinopyranosyl)-2 (**Ansari et al.**, 1975). Les graines de *Nigella sativa* contiennent un saponoside triterpénique appelé l' $\alpha$ -hederine caractérisé par des propriétés antitumorales, (**Kumara et Huat**, 2001). **Taskin et al.**, (2005) ont identifié dans l'extrait méthanolique trois autres saponosides apparentées à l' $\alpha$ -hederine, avec l'élucidation de leurs structures par des méthodes chimiques et spectrales (Figure 4).



#### R1

- 1 =  $\alpha$ -L-rha (1-2)- $\alpha$ -L-ara
- 2 =  $\beta$ -D-xyl (1-3)- $\alpha$ -L-rha (1-2)- $\alpha$ -L-ara
- 3 =  $\alpha$ -rha (1-2)- $\alpha$ -L-ara
- 4 =  $\beta$ -D-xyl (1-3)- $\alpha$ -L-rha (1-2)- $\alpha$ -L-ara

#### R2

- H
- H
- $\alpha$ -rha (1-4)-  $\beta$ -D-glu (1-6)-  $\beta$ -D-glu
- $\alpha$ -rha (1-4)-  $\beta$ -D-glu (1-6)-  $\beta$ -D-glu

Avec : 1 =  $\alpha$ -hédérine

**Figure 4** : Structure des saponosides à hédéragénine isolés à partir des graines de *Nigella sativa*, (**Taskinet et al.**, 2005).

### 2.1.5. Les protéines

Les graines de *Nigella sativa* ont des teneurs élevées en protéines variant de 16 à 26,7% (**Al Gaby et al.**, 1998 ; **Cheikh Rohou et al.**, 2006 ; **Abbas Ali et al.**, 2012). Ces teneurs montrent que les graines de nigelle constituent une source importante en protéines.

**2.1.5.1. Profil en acides aminés**

**Al Jassir**, (1992) a rapporté la présence de 17 acides aminés y compris les 8 acides aminés essentiels (**Tableau 9**). L'acide aminé majeur est l'acide glutamique, suivi par l'arginine, l'acide aspartique, la leucine et la glycine. Ces constituants majeurs représentent plus de 54% des acides aminés totaux. La cystine et la méthionine sont les plus mineurs. Le tryptophane, autre acides aminés essentiel, n'a pas été mis en évidence. **Al Gaby**, (1998) en utilisant la CPG a dosé dans les graines de nigelle, (9,96%) de méthionine et (7,26%) d'arginine représentant les acides aminés dominants pour les acides aminés essentiels. En ce qui concerne les acides aminés non essentiels ils ont dosé (17,62%) d'acide glutamique, (17,52%) de cystéine et (6,14%) d'acide aspartiques.

**Tableau 9** : Répartition en acides aminés des protéines de graines de *Nigella sativa* (**El Jassir**, 1992).

Acides aminés	Teneur en mg/100g de protéines	% de contribution à l'apport protéique
<b>Acides aminés essentiels</b>		
<b>Leucine</b>	665	5,82
<b>Valine</b>	527	4,61
<b>Lysine</b>	462	4,04
<b>Thréonine</b>	417	3,65
<b>Phénylalanine</b>	413	3,61
<b>Isoleucine</b>	395	3,46
<b>Histidine</b>	383	3,35
<b>Méthionine</b>	188	1,65
<b>Total AAE</b>	3450	30,19
<b>Acides aminés non essentiels</b>		
<b>Acide glutamique</b>	2829	24,74
<b>Arginine</b>	1051	9,19
<b>Acide aspartique</b>	1022	8,94
<b>Glycine</b>	642	5,61
<b>Proline</b>	560	4,90
<b>Sérine</b>	493	4,31
<b>Alanine</b>	427	3,73
<b>Tyrosine</b>	411	3,59
<b>Ammonium</b>	325	2,84
<b>Cystéine</b>	224	1,96
<b>Total AANE</b>	7984	69,81
<b>Total AA</b>	11434	100
<b>Rapport AAE/AANE</b>	0.43	-

**2.1.6. Les vitamines et les sels minéraux****2.1.6.1. Les vitamines**

**Ramadan** et **Mörsel**, (2002b) ont rapporté que l'huile de nigelle renferme 0,05% tocophérols totaux, constitués d' $\alpha$ -tocophérol (48%) et de  $\gamma$ -tocophérol (28%). **Al Saleh** et son équipe (2006) en utilisant la chromatographie liquide à haute pression ont rapporté que la graine de nigelle renferme 11,39 mg d' $\alpha$ -tocophérols et 6,95 mg de  $\gamma$ -tocophérols par kilogramme de graine. Récemment **Kiralan** et *al.*, (2014) ont rapporté des teneurs en  $\gamma$ -tocophérols,  $\beta$ -tocophérols,  $\alpha$ -tocophérols et  $\delta$ -tocophérol qui sont respectivement de 8.57, 7.80, 5.33 et 1.63 mg/kg. Ces mêmes auteurs ont également signalé la présence de vitamines liposolubles telles que le  $\beta$ -carotène (0,05%) et la vitamine K (0,1%). Les vitamines B1, B2, B6, et de l'acide folique ont été aussi identifiés dans les graines de nigelle (**Nergiz** et **Ötles**, 1993). La concentration de tocophérols de quelques huiles végétales est rapportée dans le Tableau 10.

**Tableau 10** : Concentration en tocophérols et tocotriénols de quelques huiles végétales.

Huile végétale	Tocophérols ( $\mu\text{g/ml}$ )			Tocotriénols ( $\mu\text{g/ml}$ )			
	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta$	$\alpha$	$\gamma$	$\delta$
Huile de palme	198	-	-	11	210	408	87
Huile de tournesol	765	-	-	-	-	-	-
Huile de noix	12	-	517	61	-	-	-
Huile de noix de coco	3	-	-	13	8	32	Nd
Huile de noisette	425	-	68	17	-	-	-
Huile de maïs	263	-	1365	88	-	-	-
Huile de graines de nigelle <sup>1</sup>	284	40	225	48	-	-	-

(Source : **Bonvehi** et *al.*, 2000, (1) **Ramadan** et **Mörsel**, 2002, (-) Absence)

### 2.1.6.2. Les sels minéraux

**Chiekh Rouhou et al.**, (2006) en étudiant la composition minérale de la graine de *Nigella sativa* ont rapporté une teneur importante en potassium (783 mg/kg de MS), suivie par les teneurs en calcium et en phosphore qui sont respectivement de 572 et 48.9 mg/kg de MS. Les autres éléments sont donnés dans l'ordre décroissant suivant : Mg, Na, Fe, Zn, Mn et Cu. **Abbas Ali et al.**, (2012) ont rapporté que la graine de nigelle constitue une source importante en fer (10.2 mg/100 g de MS) pour les femmes enceintes. La teneur en sélénium (micro élément) est de 0,54 mg/kg des graines de nigelle (**Al Saleh et al.**, 2006).

Les principaux composés isolés et identifiés dans les graines de *Nigella sativa* ainsi que leurs natures et origines sont résumés dans le Tableau 4, annexe.

### 2.1.7. Composés phénoliques

**Khattak et al.**, (2008) ont rapporté que des graines de nigelle renferment une teneur en polyphénols de 4,1, mg EAG/g d'extrait méthanolique. Cependant la teneur rapportée par **Mariod et al.**, (2009) est de 27,8 mg EAG/g d'extrait méthanolique. Ulterieurement **Mezitiet et al.**, (2012) ont trouvé une teneur plus élevée en polyphénols et en flavonoïdes totaux de gaines nigelle qui sont respectivement de 33.64 mg EAG/g et 3.8 mg EQ/g.

Trois flavonoïdes triglycosylés ont été isolés à partir des graines de *Nigella sativa*; la quercétine 3-glycosyl (1→2) galactosyl (1→2) glucoside, kampférol 3-glycosyl (1→2) galactosyl (1→2) glucoside et quercétine 3- (6-feruloglucosyl) (1→2) galactosyl (1→2) glucoside (**Merfort et al.**, 1997).

L'analyse des polyphénols par HPLC a révélé la présence des 14 composés phénoliques suivants : l'acide gallique, l'acide parahydroxybenzoïque, l'acide chlorogénique, l'acide vanillique, l'acide para-coumarique, l'acide férulique, l'acide trans-2-hydroxycinnamique, l'acide trans-hydroxycinnamique, l'épicatéchine, la catéchine, la quercétine, l'apigénine. L'amentoflavone est la flavone majeur. l'acide vanillique représente le composé phénolique majeur dans les deux parties de la plante avec un taux de 66% suivi de l'acide gallique (**Bourgou et al.**, 2008). Les composés phénoliques des graines de nigelle cultivées en Algérie, identifiés par **Benkaci et al.**, (2012) sont comme suit : la (+)-catechine, épicatéchine, la rutine, la quercitrine dihydro, la narginine, la quercimirtine, la quercitine et la qualistiphine avec une dominance de la (+)-catechine suivi de l'épicatéchine et la rutine.

***Chapitre III***  
***Les polyphénols***

## CHAPITRE III

### Les polyphénols

#### 3.1. Définition

Les composés phénoliques des végétaux correspondent à un vaste ensemble de plus de 8000 molécules qui ont toutes en commun un noyau benzénique portant un ou plusieurs hydroxyles libres ou engagés dans une autre fonction (**Hennebelle et al.**, 2004).

Ce sont des molécules issues du métabolisme secondaire et qui sont ubiquitaires du règne végétal. Les composés phénoliques interviennent dans différents aspects de la vie de la plante, ils sont ainsi impliqués dans la physiologie, dans les mécanismes de défense, ou encore dans la coloration des fleurs (**Macheix et al.**, 2006).

#### 3.1.2. Biosynthèse des polyphénols

D'un point de vue biosynthétique, les composés phénoliques synthétisés à partir des hydrates de carbone peuvent être engendrés par deux voies métaboliques : la voie de l'acide shikimique, la plus courante, qui conduit entre autre à la formation des acides phénoliques, flavonoïdes et lignanes; et la voie des polyacétates qui est à l'origine de composés polycycliques tels que les coumarines, les xanthones et les quinones (**Bruneton**, 2008).

#### 3.1.3. La structure

La structure des composés phénoliques va du simple noyau aromatique de faible poids moléculaire jusqu'aux tanins complexes de très haut poids moléculaire. Ils peuvent être classés selon le nombre et l'arrangement des atomes de carbone les composants, et en fonction de la longueur de la chaîne aliphatique liée au noyau benzénique (**Cheyrier et al.**, 1997).

Les composés phénoliques peuvent être liés aux glucides, lipides, aux protéines, et aux acides organiques (**Harborne et al.**, 1999; **Chira et al.**, 2008). De ce fait, on peut les

retrouver très souvent présents sous ces formes (**Hennebelle** et *al.*, 2004 ; **Macheixet** *al.*, 2006).

Cependant une telle diversité structurale a comme conséquence l'éventail de composés phénoliques qui se produisent dans la nature, ces composés phénoliques peuvent fondamentalement être classés par catégorie dans plusieurs classes selon leur squelette de carbone : acides phénoliques, flavonoïdes, stilbènes moins communs, et liganes. Les acides phénoliques sont abondants dans les aliments. Les plus fréquents sont l'acide caféique et, à un degré moindre, l'acide férulique. De ces classes les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins sont considérés comme les principaux composés phénoliques alimentaires (**Harborne** et *al.*, 1999 ; **King** et **Young**, 1999) (Tableau 11).

**Tableau 11** : Classe des composés phénoliques dans les plantes (**Harborne** et *al.*, 1999).

Classe	Structure
Polyphénols simples, benzoquinones	C6
Acides hydroxybenzoïques	C6-C1
Acétophénone, acides phénylaétiques	C6-C2
Acides hydroxycinnamique, phénylpropanoïdes (coumarine, isocoumarines, chromones, chromènes)	C6-C3
Naphtoquinones	C6-C4
Xantones	C6-C1-C6
Stilbènes, anthraquinones	C6-C2-C6
Flavonoïdes, isoflavonoïdes	C6-C3-C6
Ligane, neoligane	(C6-C3) <sub>2</sub>
Biflavonoïdes	(C6-C3-C6) <sub>2</sub>
Lignines	(C6-C3) <sub>n</sub>
Tanins condensés (proanthocyanidines ou flavolanes)	(C6-C3-C6) <sub>n</sub>

### 3.1.3.1. Les composés phénoliques simples

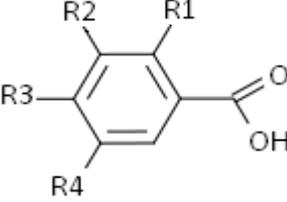
Les formes phénoliques les plus simples présentent des structures chimiques du simple phénol en C6 (non présent naturellement chez les végétaux) aux flavonoïdes en C15 (Macheix et al., 2006).

#### 3.1.3.1.1. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques font partie des formes les plus simples des composés phénoliques, ils se séparent en deux grands groupes distincts que sont les acides hydroxybenzoïques (C6-C1) et les acides hydroxycinnamiques (C6-C3).

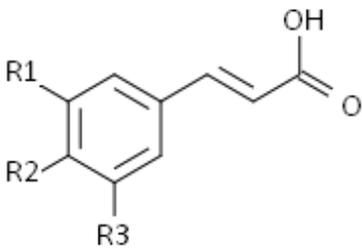
Les dérivées de l'acide benzoïque existent fréquemment sous formes d'esters ou de glucosides et peuvent également être intégrés dans des structures complexes comme certains tanins (Macheix et al., 2006 et Liu, 2007) et des lignines (Liu, 2007) (Tableau 12).

**Tableau 12 :** Structure des acides hydroxybenzoïques (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

Structure générale	R1	R2	R3	R4	Nom
	H	H	H	H	Acide benzoïque (non phénolique)
	H	H	OH	H	Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque
	H	OH	OH	H	Acide protocatéchique
	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

Les dérivés de l'acide cinnamique (les acides hydroxycinnamiques) représentent une classe très importante dont la structure de base est (C6-C3) dérive de celle de l'acide cinnamique. Se sont des composés aromatiques, présents sous forme liée à des composés structurels de la paroi cellulaire telles que la cellulose, la lignine et les protéines par le biais des liaisons esters (Bravo, 1998 ; Liu, 2007) (Tableau 13).

**Tableau 13** : Structure des acides hydroxycinnamiques (**Sarni-Manchadoet Cheynier**, 2006).

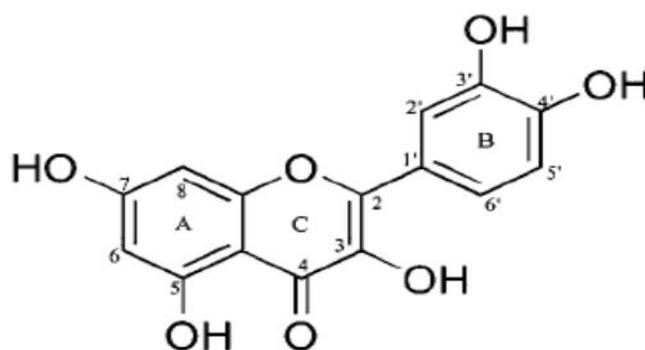
Structure générale	R1	R2	R3	Nom
	H	H	H	Acide cinnamique (non phénolique)
	H	OH	H	Acide <i>p</i> -coumarique
	OH	OH	H	Acide caféique
	OCH3	OH	OH	Acide férulique
	OCH3	OCH3	OH	Acide sinapique

Bien que les fruits et légumes contiennent beaucoup d'acides phénoliques libres, dans les grains et les pépins, les acides phénoliques sont souvent sous forme liée. Ces acides phénoliques peuvent seulement être libérés par hydrolyse acide ou alcaline, ou par des enzymes (**Tsao**, 2010).

### 3.1.3.1.2. Les flavonoïdes

#### 3.1.3.1.2.1. Structure et classification des flavonoïdes

De nos jours, plus de 8000 flavonoïdes ont été identifiés. Ils ont une origine biosynthétique commune et par conséquent, possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbones, constitué de deux unités aromatiques; deux cycles en C6 (A et B), reliés par un hétérocycle en C3 (**Bruneton**, 1999 ; **Pietta**, 2000) (Figure 5).

**Figure 5** : Structure générale du noyau des flavonoïdes (**Heimet al.**, 2002).

Structuralement les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules selon le degré d'oxydation et la nature des substituants portés sur le cycle C (**Pietta**, 2000). Quatorze groupes différents ont été identifiés dont six sont particulièrement les plus répandus et les

mieux caractérisés ; flavones, isoflavones, flavanones, flavanols, flavonols, anthocyanidines (**Heim** et *al.*, 2002 ; **Hendrich**, 2006).

Les composés de chaque classe se distinguent entre eux par le nombre, la position et la nature des substituants (groupements hydroxyles, méthoxyles et autres. . .) sur les deux cycles aromatiques A et B (**Heim** et *al.*, 2002).

#### **3.1.3.1.2.2. Biosynthèse des flavonoïdes**

Sur le plan cellulaire, les flavonoïdes sont synthétisés dans les chloroplastes puis migrent et se dissolvent dans les vacuoles. Les composés de départ de la biosynthèse des flavonoïdes sont le malonyl CoA, le cinnamoyl CoA et les dérivés CoA de l'acide cinnamique (**Gerhard**, 1993). Ces composés sont formés suite à deux voies complémentaires, voie acétate malonate et voie shikimate (**Hollman** et *al.*, 1999 ; **Middleton**, et *al.*, 2000). La voie shikimate conduit à la synthèse de l'acide cinnamique et donc au cycle B et à la chaîne en C3 qui formera le cycle oxygéné C de la structure de base des flavonoïdes. La voie acétate malonate constitue la voie de synthèse du noyau A. Ce système aromatique est formé par condensation répétée d'unités d'acétate (**Gerhard**, 1993) (Figure 6).

#### **3.1.3.1.2.3. Localisation et distribution des flavonoïdes**

La répartition des flavonoïdes 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).

Les flavonoïdes ont été identifiés dans presque toutes les parties de la plante. Les feuilles, les racines, les tiges, les fleurs, les graines et l'écorce (**Lee** et *al.*, 1994). Ils sont trouvés dans les fruits, les légumes, les herbes, les épices, aussi bien que dans le thé et le raisin rouge. Ils sont consommés régulièrement par l'alimentation à raison d'environ 75 mg de flavonoïdes par jour (**Schewe** et **Sies**, 2003).

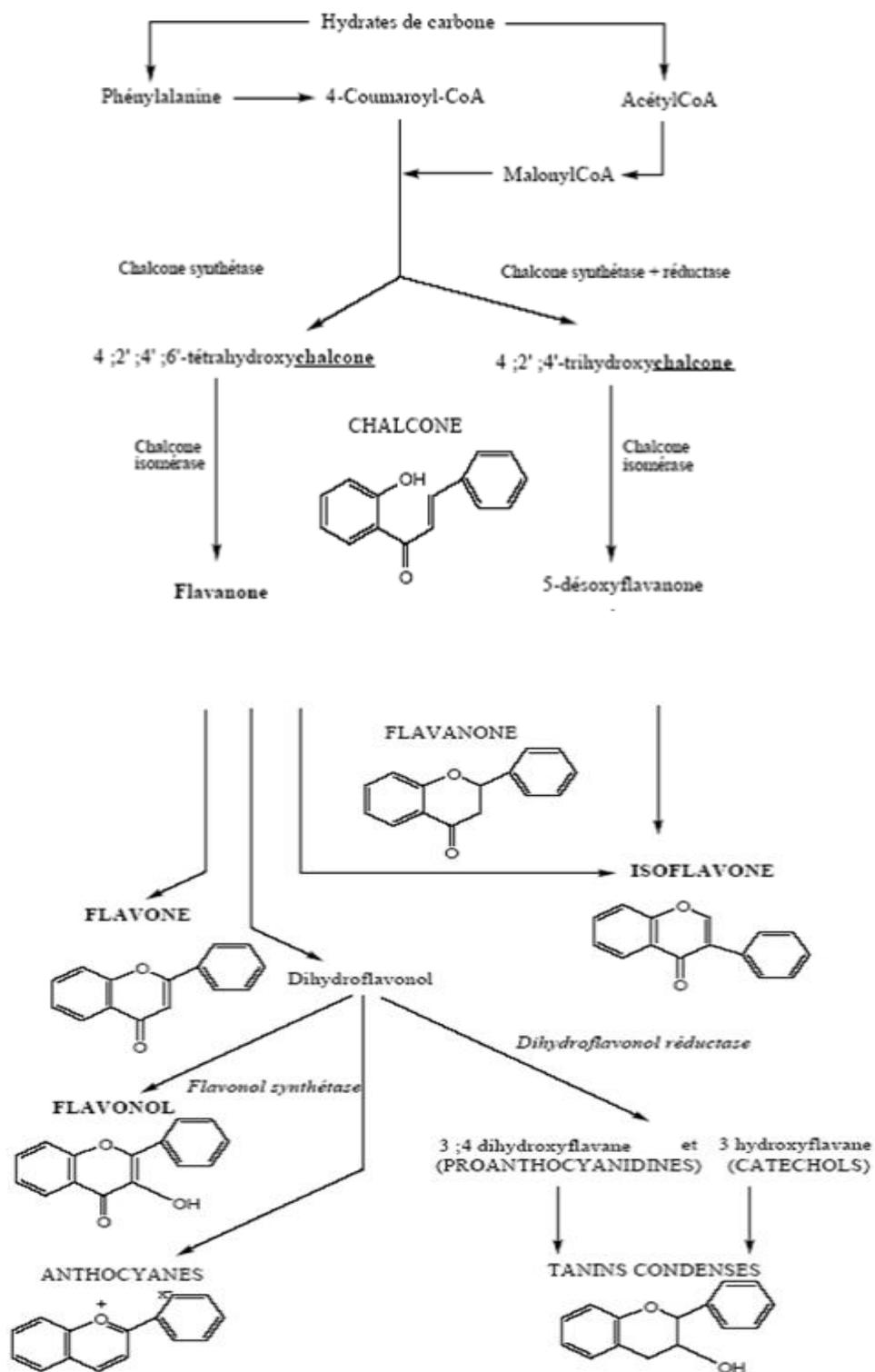


Figure 6 : Voie de biosynthèse des flavonoïdes (Gerhard, 1993).

### 3.1.3.1.3. Les composés phénoliques condensés

Ces composés résultent principalement de la condensation de certaines des formes simples précédemment évoquées.

#### 3.1.3.1.3.1. Les tanins

Les tanins constituent le troisième groupe important des composés phénoliques. Ce sont des molécules complexes caractérisées par une teneur élevée en polyphénols selon leurs structures, ils sont formés de plusieurs monomères de flavane 3-ol (**Macheix et al.**, 2006).

### 3.1.5. Biodisponibilité des composés phénoliques

La plupart des polyphénols sont présents sous forme d'esters, de glycosides ou de polymères qui peuvent souvent ne pas être absorbés tels quels. Ces composés vont être hydrolysés en aglycones par des enzymes intestinales ou par la microflore avant d'être absorbés. Dans les entérocytes et par la suite au niveau hépatique, les polyphénols sont conjugués à des acides glucuroniques et des sulfates. Les métabolites circulant au niveau du sang sont des dérivés conjugués fortement liés à l'albumine (**Manach et al.**, 2006). Ensuite les polyphénols peuvent pénétrer dans les tissus.

### 3.1.6. Rôle des composés phénoliques

#### 3.1.6.1. Rôle des polyphénols dans la plante

Les composés phénoliques participent activement aux interactions de la plante avec son environnement en jouant soit le rôle des signaux de reconnaissance entre les plantes et les symbioses, ou bien lui permettant de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes. Ils participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux à des stress variés, ils sont impliqués dans les processus de défense contre les UV, la pigmentation, la stimulation des nodules de fixation de l'azote et la résistance aux maladies (**Chira et al.**, 2008). Ces composés jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel (**Macheix et al.**, 2006).

#### 3.1.6.2. Rôle biologiques des composés phénoliques

Les composés phénoliques sont apparentés au groupe des antioxydants naturels. Leurs propriétés antioxydantes, mais aussi antibactériennes, antifongiques, antivirales, ..., ont été démontrées *in vitro* (**Ren et al.**, 2003; **Rodrego**).

Quel que soit leur degré de purification, la plupart des composés phénoliques présentent des propriétés antioxydantes responsables, pour une grande part, de leurs propriétés biologiques et de leur utilisation dans les industries alimentaires, cosmétiques et pharmacologiques (Macheix *et al.*, 2006).

### 3.1.7. Les antioxydants phénoliques

#### 3.1.7.1. Pouvoir antioxydant

Les composés phénoliques possèdent la chimie de structure idéale pour les activités de piégeage des radicaux libres parce qu'ils renferment :

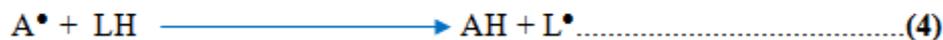
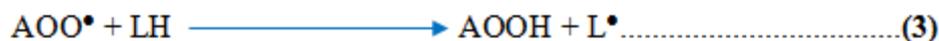
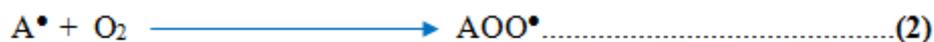
1. Des groupes hydroxyles phénoliques sont susceptibles de donner un atome d'hydrogène ou un électron à un radical libre ;
2. Un Système aromatique étendu conjugué pour délocaliser un électron non apparié (Berset, 2006).

#### 3.1.7.2. Mécanisme antioxydant

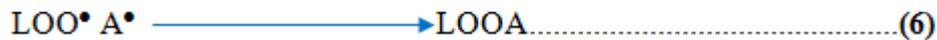
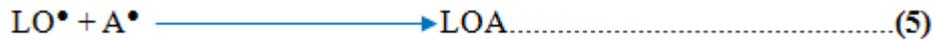
Grâce aux propriétés précédentes, les composés phénoliques peuvent céder un hydrogène aux peroxydes lipidiques pour les stabiliser sous formes d'hydroperoxydes LOOH et bloquer les réactions de propagation de la chaîne d'oxydation.



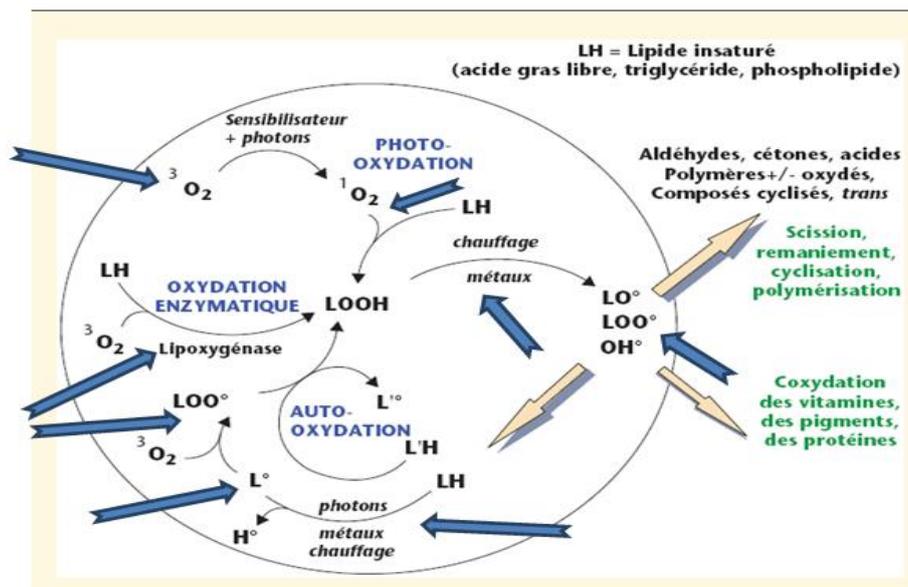
Ladélocalisation de l'électron non apparié sur le cycle aromatique et l'absence de site d'attaque de l'oxygène empêchent la propagation de nouvelles réactions radicalaires car les étapes suivantes ne sont pas favorisées :



Les antioxydants sous forme  $\text{A}\cdot$  peuvent également freiner la phase de propagation en formant un produit chimiquement stable (adduit) avec les radicaux lipidiques formés.



L'action de l'antioxydant se traduit par l'allongement de la phase d'initiation et un retard du démarrage de l'oxydation. Cet effet est limité dans le temps puisque l'oxydant est progressivement consommé. Les réactions d'oxydation reprennent ensuite, souvent avec la même vitesse qu'en absence d'antioxydant. Tous les composés phénoliques n'ont pas la même efficacité antioxydante. En effet, l'activité antioxydante est d'autant plus élevée que les composés phénoliques possèdent un potentiel redox faible. Les polyphénols peuvent aussi inhiber les oxydations de façon indirecte, en désactivant l'oxygène singulet, oxydant très puissant des acides gras insaturés, ou en chélatant les métaux de transition ( $\text{Fe}^{++}$ ,  $\text{Cu}^{++}$ ) qui accélèrent fortement l'auto-oxydation des lipides. Enfin, certains sont des inhibiteurs des enzymes d'oxydation, en particulier la lipoxygénase ou de la cyclo-oxygénase. La Figure 7 schématise le mode d'action des antioxydants.



**Figure 7 :** Schéma des réactions d'oxydation des lipides et niveau d'action des antioxydants (flèches bleues) (**Berset, 2006**).

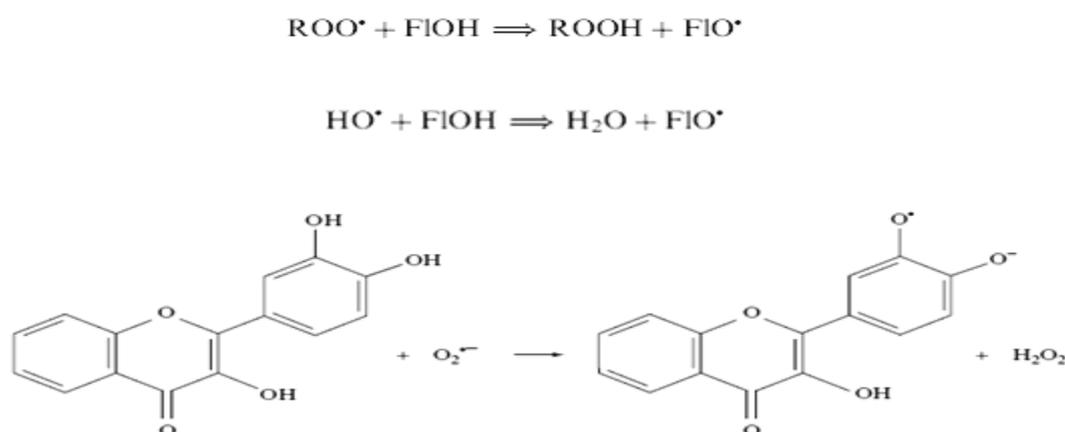
### 3.1.7.3. Activité antioxydante des flavonoïdes

Ces dernières années, une importance particulière a été accordée aux propriétés antioxydantes des flavonoïdes qui sont attribuées à leur capacité de :

- piéger directement les radicaux libres ;

- chélater les ions métalliques impliqués dans la production des espèces oxygénées réactives ;
- inhiber quelques enzymes en particulier les oxydases ;
- activer les enzymes antioxydantes ;
- réduire les radicaux  $\alpha$ -tocophéryl (Cotelle, 2001; Lin et Weng, 2006 ; Heim *et al.*, 2002).

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 Berset, (2006) les flavonoïdes peuvent aussi désactiver les espèces oxygénées réactives, comme l'ion superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ), le radical hydroxyle ( $OH^{\bullet}$ ), le radical peroxy ( $ROO^{\bullet}$ ) ou l'oxygène singulet ( $O_2$ ) et inhiber la lipoxygénase (Figure 8).

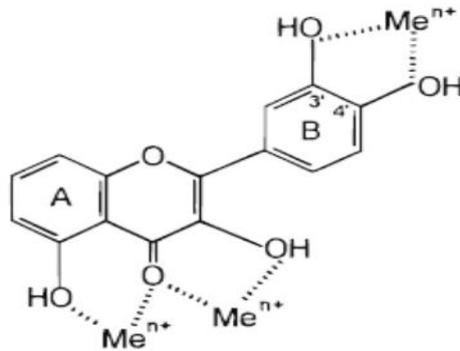


**Figure 8** : Réaction des flavonoïdes avec les espèces oxygénées réactives (DensiovetAfanas'ev, 2005).

### 3.1.7.3.1. Pouvoir de piégeage des radicaux libres

De nombreuses études ont établi la relation entre les structures chimiques des flavonoïdes et leur pouvoir piégeur (scavenger) des radicaux libres. La structure ortho-dihydroxy 3', 4', sur le cycle B (groupement catéchol) confère la stabilité au radical flavonoxy et participe à la délocalisation des électrons. La double liaison C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub> en conjugaison avec la fonction 4-oxo sur le cycle C responsable de la délocalisation des électrons, augmente la capacité radicale scavenger des flavonoïdes. Les groupements hydroxyles libres en C<sub>3</sub> et C<sub>5</sub> augmentent

également la capacité radicale scavenger des flavonoïdes (**Jovanovic**, 1994; **Rice Evans**, 2001; **Pietta**, 2000 ; **Hendrich**, 2006) (Figure 9).



**Figure 9** : Flavonoïdes et leurs sites proposés pour la chélation des radicaux libres (**Pietta**, 2000).

### 3.1.7.3.2. Inhibition enzymatique

Les flavonoïdes sont capables d'inhiber une large gamme d'enzymes génératrices du  $O_2^\bullet$  et d'autres espèces oxygénées réactives, comme la xanthine oxydase, la protéine kinase C, la cyclooxygénase, lipooxygénase, et la monooxygénase microsomal. Les flavonoïdes ayant une moitié catéchol sur le cycle B inhibent la succinoxidase mitochondriale et la NADH oxydase (**Pietta**, 2000 ; **Densiov et Afanas'ev**, 2005).

*Chapitre IV*

*Propriétés*

*pharmacologiques des*

*graines et de l'huile de*

*Nigella sativa*

## CHAPITRE IV

# Propriétés pharmacologiques des graines et de l'huile de *Nigella sativa*

### 4.1. Propriétés de la graine entière

#### 4.1.1. Usages comme épice

Les graines de nigelle entières ou moulues sont utilisées comme épice. Elles servent à saupoudrer le pain, le *Naan* (pain de régions d'Asie centrale et du sud) et les pâtisseries, les plats sucrés, les fromages, les sauces et les soupes pour les rendre plus appétissants. Elles sont également utilisées en accompagnement des graines de sésame dans la cuisine traditionnelle d'Asie, et sont ajoutées à différents plats.

Dans la région du Bengale, entre l'Inde et le Bangladesh, le cumin noir entre dans les recettes de légumes secs et dans la composition de certains mélanges d'épices comme le *panch phoron*, composé de cinq épices : le cumin, le fenouil, la moutarde, le fenugrec et la nigelle.

En Afrique du nord, la graine de nigelle moulue entre dans la composition du *ras el hanout*, un mélange de 24 à 27 épices. En Égypte, les graines pulvérisées aromatisent le café à raison de 6 cuillères à café pour une cuillère de nigelle. En France, on l'utilise au même titre que le poivre. En Algérie, le pain et les produits boulangers sont aromatisés avec la nigelle et au Sud, principalement dans la région d'Adrar, elle constitue l'épice principale dans la préparation de soupes. Grâce à son arôme citronné et légèrement piquant, la graine de nigelle reste présente dans de nombreuses cuisines, comme épice.

#### 4.1.2. Usage en médecine traditionnelle

##### 4.1.2.1. Graines

Les Orientaux et les Egyptiens en font une grande consommation, car ils pensent qu'en plus de son effet carminatif et diurétique, la graine de nigelle renforce le système immunitaire et stimule la lactation. En Égypte, elle est utilisée contre l'asthme (Atta, 2003). En usage externe sous forme de pommade, les graines sont utilisées dans le traitement d'abcès, d'hémorroïdes, d'inflammation des testicules et de pédiculose (Akhtar et Aslam, 1997).

En Extrême-Orient, la nigelle constitue un remède contre les maladies respiratoires, l'asthme bronchique, le rhumatisme, les maladies inflammatoires, les problèmes digestifs et parasitaires en cas de raideurs de douleurs articulaires et d'eczéma. En Indonésie, les graines sont ajoutées à des médicaments astringents pour lutter contre les désordres intestinaux. En Malaisie, des cataplasmes de graines sont utilisés pour soigner les maux de tête, les abcès, les ulcères nasaux, l'orchite et le rhumatisme. Les femmes arabes utilisent la graine de *Nigella sativa* comme galactogène (Teuscheret *al.*, 2005).

En Europe, la nigelle remplaçait les épices trop coûteuses pour certaines bourses au moyen âge, elle servait comme aromate de boulangerie (Delaveau, 1987). Actuellement, elle est utilisée comme plante ornementale pour ses fleurs. En Algérie, elle est employée en médecine traditionnelle comme emménagogue cholagogue, carminatif, vermifuge, diurétique, stimulant de la sécrétion du lait, décontractant des muscles lisses (Mokkedem, 2004). Les indications médicales traditionnelles dans certains pays du bassin méditerranéen, sont résumées dans le Tableau 5, annexe.

##### 4.1.2.2. Huile

En Turquie, l'huile de graine est employée par voie orale pour ses vertus carminatives, bronchodilatatrices, expectorantes, antihypertensives, diurétiques, diaphorétiques, stomachiques et pour lutter contre l'indigestion. En friction elle est préconisée contre les spasmes musculaires, la sciatique et les rhumatismes (Baser *et al.*, 1986). En Arabie Saoudite, l'huile est utilisée en usage externe en cas de raideur et de douleurs articulaires, ainsi qu'en cas d'asthme et d'eczéma (Houghton *et al.*, 1995). La graine et l'huile, prises seules ou associées à d'autres médicaments, sont efficaces contre l'alopecie, le vitiligo et d'autres problèmes dermatologiques (Aggarwal et Kunnumakkara, 2009).

## 4.2. Propriétés pharmacologiques des extraits des graines de *Nigella sativa*

La graine de nigelle possède un très large spectre d'utilisations en médecine traditionnelle récemment prouvé par des études pharmacologiques et biologiques. La haute teneur en composés actifs et en antioxydants tels que les polyphénols, les tocophérols et la thymoquinone, a amené les chercheurs à tester son effet dans plusieurs domaines médicaux. Durant les vingt dernières années, plusieurs travaux ont porté sur l'étude de *Nigella sativa*, notamment sur les effets dus aux extraits de la graine de cette espèce ainsi qu'aux principaux constituants (l'huile fixe et l'huile essentielle) sur divers systèmes. Plusieurs travaux ont fait l'objet d'étude des propriétés anti-inflammatoires et analgésiques, activité antibactérienne, antifongique, anti virale et activité antioxydante (**Goreja**, 2003; **Benkaci**, 2007 ; **Ramadan et Morsel**, 2002 et 2012).

### 4.2.1. Activité anti-inflammatoire et analgésique de l'huile fixe et essentielle

Plusieurs auteurs ont étudié l'éventuelle activité analgésique et anti-inflammatoire d'extraits ou de composés purs issus de *Nigella sativa*. **Al Ghamdi**, (2001) ont montré que les polyphénols de *Nigella sativa* disposent de propriétés anti-inflammatoires chez le rat et la souris dans le test de l'oedème de la pâte induit par le carragénane, et montrent des propriétés analgésiques dans le test de la fomaline et de l'acide acétique. Le mécanisme par lequel l'huile fixe de *Nigella sativa* et la thymoquinone exercent leurs effets anti-inflammatoires a été étudié ; la thymoquinone s'est avérée être un puissant inhibiteur de la synthèse des eicosanoïdes notamment la thromboxane B2 et leucotriène B4 par l'inhibition respective des cycloogénase et lipoxygénase. Cependant, l'activité de l'huile fixe sur ces deux enzymes est plus importante que la thymoquinone elle-même ; l'activité anti-inflammatoire n'est pas donc entièrement due à la présence de la thymoquinone ; et selon **Houghton et al.**, (1995) ; **Gilani et al.**, (2001) des acides gras insaturés de type C20 :2 (acide ecosadiéique) semblent être impliqués.

### 4.1.2. Activité antibactérienne, antifongique et anti virale des extraits de graines, de l'huile fixe et de l'huile essentielle

#### 4.1.2.1. Extrait des graines

De nombreuses études *in vitro* ont montré que l'extrait par le diéthyle éther de graines de *Nigella sativa* a entraîné, d'une manière dépendante de la concentration, une inhibition de

*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et la levure pathogène *Candida albicans* (**Hanafy** et **Hatem**, 1991 ; **Harzallah** *et al.*, 2011).

#### 4.1.2.2. Huile essentielle

L'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Nigella sativa* a été également démontrée sur 37 souches de *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei* et *Shigella boydii* ainsi que 10 souches de *Vibrio cholerae* et *Escherichia coli* (**Ferdous** *et al.*, 1992).

#### 4.1.2.3. Huile fixe

En plus des activités antibactériennes et antifongiques, l'huile de *Nigella sativa* possède aussi un effet antiviral vis-à-vis de virus de l'herpès : cytomégalovirus murin (MCMV) (**Salem**, 2005), des propriétés anti-cestodales et anti-nématiques comparables à celles de la pipérazine (antiparasitaire) (**Agrawal** *et al.*, 1979). L'activité anti microbienne de l'huile fixe sur vingt souches de *L. monocytogenes* a été démontrée (**Manoj Nair** *et al.*, 2005). Une étude récente menée par **Piras** *et al.*, (2013) sur l'huile fixe et l'huile essentielle des graines de nigelle rapporte que ces deux huiles manifestent une activité antituberculeuse, antifongique et antimicrobienne intéressante.

#### 4.1.3. Activité antioxydante des graines et de l'huile fixe et essentielle

Parmi les différents travaux qui ont été effectués pour évaluer les effets des graines de *Nigella sativa*, la majorité d'entre eux sont focalisés sur ses propriétés antioxydantes *in vitro* et *in vivo* (**Meziti** *et al.*, 2012).

##### 4.1.3.1. Activité antioxydante des graines

Une étude sur l'auto-oxydation de l'huile de maïs a permis de déterminer le pouvoir antioxydant des graines de *Nigella sativa*. En effet, les extraits éthanolique et aqueux ont retardé l'oxydation des triglycérides de l'huile de maïs à 100°C, l'extrait éthanolique ayant un pouvoir antioxydant plus fort que l'extrait aqueux. L'activité antioxydante de l'extrait éthanolique est comparable à celle de la tert-butylhydroquinone (la TBHQ), un antioxydant utilisé dans les cosmétiques, et utilisé comme conservateur des acides gras insaturés dans l'alimentation (**Atta** et **Imaizumi**, 1998).

Les travaux de **Thippeswamy** et **Akhilender**, (2005) se sont intéressés aux propriétés antioxydantes de *Nigella sativa*. L'extrait aqueux et méthanolique de ces graines ont montré une activité antioxydante dans trois systèmes; effet (scavenger) du radical DPPH, effet scavenger des hydroperoxydes lipidiques et inhibition de la peroxydation lipidique lipooxygénase dépendante, inhibition de la peroxydation lipidique non enzymatique au niveau des microsomes hépatiques. Une étude plus récente de **Khattak** et *al.*, (2008) rapporte que l'extrait méthanolique des graines de nigelle manifeste une activité anti radicalaire élevée et une teneur importante en polyphénols. **Meziti** et son équipe (2012), étudiant l'effet antioxydant des extraits de graines de nigelle, ont conclu que les graines de *Nigella sativa* ont une activité antioxydante considérable *in vitro* et *in vivo*, cette activité est accrue dans les extraits de chloroforme, d'acetate d'éthyle et d'hexane. L'activité de l'extrait chloroformique et celui de l'acétate d'éthyle est probablement lié à leur teneur élevée en polyphénols et l'activité de l'extrait hexanique pourrait être attribuée aux huiles essentielles.

#### 4.1.3.2. Activité antioxydante de l'huile essentielle

L'huile essentielle de *Nigella sativa*, ainsi que ses fractions ont été testées pour leur activité antioxydante. En effet la thymoquinone, le carvacrol, le t-anthenol, et le 4-terpineol ont une propriété de piégeage des radicaux libres remarquable. Cette propriété antioxydante a été confirmée par d'autres tests (Essai du DPPH (Diphenylpicrylhydrazyl), peroxydation lipidique non enzymatique et l'essai du désoxyribose) (**Burits** et **Bucar**, 2000).

**Viuda** et *al.*, (2011) ont signalé que les huiles essentielles des graines de nigelle et du thym cultivés en Egypte peuvent être considérées comme une bonne source de composés naturels ayant une importante activité antioxydante. Ces auteurs ont conclu que les huiles essentielles pourraient avoir un grand intérêt dans l'industrie agroalimentaire, cosmétologique et pharmaceutique en vue de remplacer les conservateurs synthétiques.

#### 4.1.3.3. Activité antioxydante de l'huile fixe

L'huile fixe de *Nigella sativa* ainsi que la thymoquinone inhibent la peroxydation lipidique non enzymatique dans les liposomes (**Houghton** et *al.*, 1995). Les travaux de **Ramadan** et **Mörsel**, (2003) sur l'huile fixe des graines de nigelle et ses fractions, ont montré qu'elle présente une activité antioxydante vis-à-vis des deux radicaux libres stables (le radical DPPH et le radical glavinoyl). Cette activité antiradicalaire est dûe, selon ces auteurs, à une action combinée des différents antioxydants endogènes contenus dans l'huile est corrélée avec

la teneur en acides gras polyinsaturés, en composés insaponifiables et en phospholipides, de même que la valeur peroxyde initiale de l'huile. **Mohamadin** et *al.*, (2010) ont rapporté que le traitement avec l'huile de graines de nigelle diminue significativement la toxicité et le stress oxydatif induits par le propoxur dans toutes les régions testées des cerveaux des rats, grâce au mécanisme de piégeage de radicaux libres. **Solati** et *al.*, (2012) ont confirmé l'effet antioxydant de l'huile de nigelle et sa capacité de piéger le radical DPPH.

#### 4.1.4. Toxicité de *Nigella sativa*

La toxicité de la nigelle est bien connue par la plupart des herboristes. En effet, elle n'est utilisée qu'à faible dose. Un surdosage des graines de *Nigella sativa* peut être mortel. **Bellakhdar**, (1978) a rapporté dans son ouvrage que le surdosage thérapeutique peut provoquer des d'avortements. **Teuscher** et *al.*, (2005) rapportent qu'une prise de 20g de graines provoque chez la femme enceinte des vomissements et est susceptible d'entraîner l'avortement. Les propriétés toxiques de la thymoquinone (TQ) et de la thymohydroquinone (THQ) ont été signalées par **El Dakhkhny**, (1965) ; **Vahdati Mashhadian** et *al.*, (2005) ; **Al Ali** et *al.*, (2008). Dans une étude récente **Zaghlol** et *al.*, (2012) ont aussi confirmé l'effet toxique de surdosage de l'huile végétale de *Nigella sativa*.

Il est à signaler qu'aux doses usuelles l'usage de la nigelle comme épice ne représente, à notre connaissance, aucun risque de toxicité ni aigu ni chronique.

## *Chapitre V*

# *Extraction de l'huile des graines oléagineuses*

## CHAPITRE V

### Extraction de l'huile des graines oléagineuses

#### 5.1. Procédé d'extraction de l'huile des graines oléagineuse

L'huile des graines oléagineuses est extraite par des procédés mécaniques et chimiques. Le procédé mécanique consiste à extraire l'huile par des presses hydrauliques et à vis sans fin. Pour le procédé chimique l'extraction est utilisée pour extraire l'huile à partir des graines oléagineuses qui renferment des teneurs en huile inférieures à 20%. Plusieurs travaux de recherche ont montré que le rendement d'huile par pressage est influencé par plusieurs paramètres tels que ; la température, la pression, la durée de pressage, l'épaisseur de l'échantillon, et aussi sa granulométrie (**Mountasser et El Hadek**, 1999 ; **Ferradji et al.**, 2001 ; **Acheheb et al.**, 2012 ; **Ye** , 2012 ; **Santoso et al.**, 2014).

#### 5.2. Prétraitements des graines

Le prétraitement est indispensable et permet d'accroître les performances du pressage mécanique. Le prétraitement des graines oléoprotéagineuses qui vise à faciliter l'extractibilité d'huile comprend le plus souvent des prétraitements physiques et thermiques tels que le nettoyage, le séchage, le décorticage, le broyage et l'aplatissage (**khan et Hanna**, 1983; **Laisney**, 1992).

#### 5.3. Pressage hydraulique des graines oléagineuses

L'utilisation des presses hydrauliques pour l'extraction des huiles des graines oléagineuses permet d'étudier l'influence de nombreux paramètres : La pression appliquée, la vitesse de descente du piston ou vitesse de compression, l'épaisseur caractéristique de pressage, la durée de pressage, la température du gâteau et la teneur en eau, pour de nombreuses graines brutes ou prétraitées (**Lanoiselle et Bouvier**, 1994). Divers travaux de recherche ont été menés pour analyser l'influence des paramètres opératoires (température, pression appliquée et durée de pressage) sur le taux d'extraction en matière grasse de graines

de coton, de colza, de ricin, de lin, de tournesol (**Mrema, McNulty**, 1985 ; **Abu Arabi et al.**, 2000). Ces études ont montré qu'il était possible d'améliorer le rendement d'extraction de ces oléagineux en optimisant les paramètres opératoires.

### **5.3.1. Paramètres influençant le taux d'extraction d'huile**

#### **5.3.1.1. Influence de la température**

**Norris**, (1974) a rapporté que le traitement thermique coagule les protéines des parois cellulaires pour les rendre perméables à l'huile. Cette opération diminue les interactions entre l'huile et la surface solide des graines permettant l'augmentation du rendement en huile lors du pressage. L'augmentation de la température permet l'accroissement de la solubilité et de la diffusivité du soluté et la diminution de la viscosité et facilite par conséquent l'écoulement et l'extraction du substrat sous l'effet de la pression (**Lanoiselle et Bouvier**1994). Cependant cette augmentation doit être limitée pour éviter les risques de la dégradation thermique du soluté (**Leybros et Fremeaux**, 1990).

Plusieurs travaux de recherche ont porté sur l'effet de la température au cours de l'extraction de l'huile par pressage. **Mrema et McNulty** (1979), **Mountasseret El Hadek**(1999), **Ferradji et al.**, (2001), **Ye et al.**, (2007) qui ont travaillé respectivement sur le colza, les graines d'argan, les amandes d'abricot et le beurre du karité, ont confirmé que le rendement de l'huile par pressage est amélioré avec l'augmentation de la température. **Zhang et al.**,(2012) en étudiant l'extraction de l'huile par le CO<sub>2</sub> supercritique ont également constaté que le rendement augmente pour les températures élevées.

#### **5.3.1.2. Influence de la granulométrie**

Le broyage a pour objet de réduire la dimension des graines oléagineuses, afin de faciliter le travail de la presse ou du solvant. En effet **Singh et al.**, (1984), ont montré que le pressage du tournesol, à partir de graines broyées permet un meilleur rendement d'extraction que les graines entières ou décortiquées. **Ferradji et al.**, (2001), en étudiant l'extraction d'huile des amandes d'abricots par pressage hydraulique, ont constaté qu'une granulométrie de 1 mm a nettement amélioré le rendement d'huile (55,23%). **Ye et al.**, (2007) ont rapporté que pour les échantillons du karité finement broyés le taux d'extraction du beurre augmente de 73 % à 84 %. **Hadjadj** (2008) rapporte que pour une granulométrie inférieure à 2 mm le taux d'extraction d'huile à partir des graines de nigelle, effectué à 120 bars et 50 °C, passe de 43 % à 66 %.

### **5.3.1.3. Influence de la pression**

**Hammonds** et *al.*, (1991), ont montré qu'une augmentation de la pression permettait d'accroître le rendement d'extraction en huile. **Ye**, et *al.*, (2007) ont montré l'effet favorable des pressions élevées à savoir que lorsqu'on augmente la pression de 7 MPa de 25 MPa, le taux d'extraction du beurre de karité passe de 40 % à 80 %. Ces résultats sont similaires à ceux rapportés par **Hadjadj** (2008), **Solati** et *al.*,(2012) et **Acheheb** et *al.*, (2012), qui ont étudié respectivement l'optimisation de l'huile à partir des graines de nigelle et du pistachier d'Atlas. L'augmentation du taux d'extraction d'huile serait dû à l'action des forces mécaniques qui fragilisent et fragmentent les cellules lipidiques. **Sivala** et *al.*,(1991) ; **Mountasser** et **El Hadek**, (1999) ont rapporté que lorsque la pression croît, le taux d'huile extraite augmente jusqu'à épuisement total pour des pressions de 400 kg/cm<sup>2</sup>.

### **5.3.1.4. Effet de la teneur en eau**

Plusieurs études ont montré l'effet de la teneur en eau sur le rendement d'huile extraite des graines oléagineuses par pressage. Les premières observations ont été rapportées par **Taylor** (1937) qui a signalé que le rendement d'huile des graines de coton par pressage est nettement amélioré pour des teneurs en eau fixées à environ 8 %. L'influence simultanément du couple traitement thermique teneur en eau a été confirmée par plusieurs travaux (**Hammonds** et *al.*, 1991 ; **Lanoiselle** et **Bouvier**, 1994; **Ferradji** et *al.*,2001).

### **5.3.1.5. Effet du temps de pressage**

**Singhet** *al.*, (1984) ont étudié l'effet des caractéristiques de pressage du tournesol sur la teneur résiduelle en huile dans le tourteau. Ils ont testé 31 combinaisons des facteurs comprenant la pression (14, 28, 42, 56 et 70 Mpa), le temps de pressage (4, 5.5, 7, 8.5 et 10 mn) et la température (20, 35, 50, 65 et 80 °C) pour les graines décortiquées et finement broyées. L'étude statistique a permis de hiérarchiser les effets. Ainsi le facteur le plus influant s'est avéré être la pression, suivi du temps de pressage puis de la température. Les études d'**Adeeko** et **Ajibola**, (1990) montrent l'existence d'une corrélation entre le taux d'extraction et la durée de pressage avec un ralentissement progressif de l'écoulement en raison de l'obstruction des pores sous l'effet du drainage. **Ye** et *al.*, (2007), en vue de déterminer le temps de pressage nécessaire pour atteindre une stabilisation du taux d'extraction du beurre de Karité, ont montré que le taux d'extraction est stable aux environs de 75% dès les cinq premières minutes.

### **5.3.1.6. Effet de l'épaisseur de l'échantillon et de la vitesse de pressage**

Plusieurs études relatives à l'effet de la vitesse de pressage et de l'épaisseur de l'échantillon sur le taux d'extraction d'huile, montrent qu'une réduction de la vitesse et de l'épaisseur de l'échantillon tend à accroître le rendement en huile, tous les autres paramètres étant gardés constants. **Hickos**, (1953) et **Khan**, (1999) ont rapporté que le rendement en huile des graines oléagineuses augmente avec la réduction de la vitesse de pressage et de l'épaisseur de l'échantillon.

Cependant, **Ye et al.**, (2012) ont rapporté des résultats controversés selon lesquels le taux d'extraction est d'autant meilleur que la vitesse de compression est élevée pour les amandes entières de *neem* (*Azadirachta indica* A.Juss). Cette observation pourrait être expliquée par le fait que la compression rapide ne laisse pas suffisamment de temps aux amandes de se repositionner pour combler les vides existants, si bien que la structure reste poreuse et favorise l'écoulement de l'huile.

## **5.4. Méthodologie de surface de réponse**

En statistiques la méthode des surfaces de réponses (MSR) a pour but d'explorer les relations entre les variables dépendantes et indépendantes impliquées dans une expérience. Elle résulte des travaux de **Box et Wilson** en 1951.

L'idée principale de leur méthode repose sur l'utilisation d'une séquence d'expériences. **Box et Wilson**, (1951) suggèrent d'utiliser un modèle à polynôme de second degré, mais concèdent que ce modèle n'est qu'une approximation. Toutefois, ce dernier a l'avantage d'être facile à estimer et à appliquer, même lorsque l'information disponible sur les processus en cours est minime. En statistique, un plan factoriel est une expérience qui consiste à choisir des valeurs pour chacun des facteurs en faisant varier simultanément tous les facteurs, de façon exhaustive ou non. Le nombre d'essais peut alors devenir très important. Une telle expérience permet l'étude de l'effet de chaque variable sur le processus, ainsi que l'étude de la dépendance (interaction) entre les variables.

#### **5.4.1. Utilisation de la méthodologie des surfaces de réponse dans les procédés des sciences alimentaires**

**Lee, et al.**,(2000) ont utilisé la MSR pour optimiser le procédé d'extraction de la vitamine E dans la tomate et les choux fleurs. Cette méthodologie a fait l'objet d'une étude pour optimiser les conditions d'extraction de l'huile de baies d'argousier par CO<sub>2</sub> supercritique **Xu et al.**, (2007). Dans le même contexte **Özkal** (2009) ont étudié l'optimisation des effets de la taille des particules, pression, température, et du débit du CO<sub>2</sub> sur le rendement de l'huile de lin extraite par le CO<sub>2</sub> supercritique. De même **Zhang et al.**, (2012) ont optimisé l'effet des paramètres de pressage (température, pression et le débit de CO<sub>2</sub>) sur le rendement de l'huile de graines de *Nigella glandulifera*.

**Piras et al.**, (2013) ont utilisé la MSR pour l'étude de la composition chimique et l'activité biologique *in vitro* de l'huile volatile et fixe de *Nigella sativa* extraite par CO<sub>2</sub> supercritique. Recemment **Santoso et al.**, (2014), ont étudié l'optimisation des effets de température, pression, prétraitements thermiques et la durée de pressage sur l'extraction d'huile des graines du rubber par presse hydraulique en utilisant la Methodologie des Surfaces de Réponse. La MSR a également été utilisée pour déterminer les conditions optimales (température, concentration en méthanol et durée d'extraction) pour l'extraction des antioxydants de la pelure de pomme de terre (**Amado et al.**, 2014). Quant à **Chen et al.**, (2015), ont optimisé par cette méthodologie, les conditions d'extraction par ultrasons des composés phénoliques et en anthocyanes à partir des mélasses de sucres de betterave.

*2<sup>ème</sup> Partie*

*Etude*

*expérimentale*

*Chapitre I*  
*Matériel*  
*et*  
*méthodes*

## Matériel et méthodes

### 1.1. Matériel végétal

Les graines de nigelle variété (*Nigella sativa*), sont achetées du marché local durant l'année 2012 (Figure 10).



**Figure 10** : Graine de *Nigella sativa* L.

### 1.2. Méthodes analytiques

#### 1.2.1. Caractéristiques physiques de la graine de nigelle

##### 1.2.1.1. Densité des graines

La densité apparente, appelée aussi poids spécifique est la masse d'un hectolitre de graines exprimée en kilogrammes et déterminée par l'appareil de mesure appelé le «Nilema-litre» ou « hectolitre » (Godon et Loisel, 1997).

### **1.2.1.2. Poids de 1000 graines (NF V 03-703)**

La masse des 1000 graines, exprimée en grammes est déterminée par un appareil de mesure appelé « le Numigral ».

## **1.3. Localisation des sites producteurs d'huile**

La localisation des sites producteurs d'huile est déterminée sur des graines entières. Les étapes suivies pour leur détermination sont les suivantes :

- 1- Une coupe à main levée en utilisant comme support la moelle de sureau ;
- 2- Un prétraitement dans une solution d'hypochlorite de sodium à 12° afin de pouvoir vider les cellules de leur contenu pendant 20 minutes ;
- 3- Un rinçage dans de l'eau distillée durant 1 à 5 min, puis dans de l'acide acétique à 5% pendant 5 min ;
- 4- Une coloration des coupes en utilisant le carmino-vert qui donne une coloration rose pour les parois celluloses et une coloration verte pour les parties lignifiées.

Un montage des coupes dans une goutte d'eau distillée entre lame et lamelle est observé immédiatement au microscope photonique doté d'un appareil photo de marque Aus Jena Jenalumar. Plusieurs coupes ont été observées et les plus intéressantes ont été photographiées.

## **1.4. Analyses biochimiques de la graine de nigelle**

### **1.4.1. Teneur en eau**

La teneur en eau de graines de nigelle est déterminée par séchage infrarouge par un analyseur d'humidité SARTORIUS MA, à une température de 130°C, en quelques secondes.

### **1.4.2. Teneur en cendre (NF 503-720)**

Le principe consiste en l'incinération d'une prise d'essai dans une atmosphère oxydante à une température de  $550 \pm 25^\circ\text{C}$  jusqu'à la combustion complète de la matière organique et en la pesée du résidu obtenu.

### 1.4.2.1. Expression des résultats

Le taux de cendre (Tc) exprimé en pourcentage ou en gramme, rapporté à la matière sèche, est égal à :

$$Tc = \frac{M_1 \times 100}{M_0} \times \frac{100}{100 - H} \dots\dots(7)$$

Où :

M<sub>0</sub> : Masse en gramme de la prise d'essai ;

M<sub>1</sub> : Masse en gramme du résidu ;

H : Humidité de l'échantillon exprimé en pourcentage.

### 1.4.3. Dosage de l'azote total (NF V 03-050)

Le principe consiste en la transformation de l'azote organique en sulfate d'ammonium, sous l'action de l'acide sulfurique concentré à chaud et en présence d'un catalyseur approprié selon la méthode de KJELDAHL réalisée en trois étapes :

- Minéralisation avec l'acide sulfurique pur ;
- Alcalinisation des produits de réaction ;
- Distillation de l'ammoniac libre et titrage.

Les résultats sont multipliés par un facteur de conversion (5,7 pour les graines).

### 1.4.4. Teneur en sucres

La teneur en sucres (%) a été déterminée selon l'équation suivante : **Teneur en sucres = 100 - (% eau + % protéines + % lipides + % cendre).**

## 1.5. Dosage des composés phénoliques

### 1.5.1. Préparation de l'extrait brut

Les graines de *Nigella sativa* préalablement nettoyées et broyées sont mises à macérer dans un mélange méthanol/eau (7:3 V/V) à un rapport de 1/10 (P/V), sous agitation douce pendant 48h à température ambiante. L'extraction est refaite trois fois avec renouvellement du solvant et filtration à chaque fois, afin d'épuiser totalement la matière végétale. L'extrait hydroalcoolique est récupéré dans un premier temps après filtration du mélange sur verre fritté (entonnoir N°03), le méthanol est éliminé du filtrat par évaporation sous pression réduite

dans un évaporateur rotatif de marque BÜCHI. L'extrait obtenu caractérisé de couleur brune foncée, est considéré comme étant l'extrait brut (EBr) des graines de *Nigella sativa*.

#### **1.5.1.1. Préparation de l'extrait d'acetate d'éthyle**

L'extrait brut est préparé selon la méthode de **Gilani et al.**, (2001) modifié légèrement où 5g d'extrait brut sont mis à macérer dans 50ml d'eau distillée bouillante pendant 72 heures. L'extrait brut est mélangé avec l'acetate d'éthyle (V/V). Après décantation, la phase organique supérieure est récupérée. Cette étape est refaite plusieurs fois avec renouvellement du solvant jusqu'à ce qu'il devient transparent. L'acetate d'éthyle est par la suite évaporé et l'extrait obtenu est lyophilisé et conservé à -20°C jusqu'à son utilisation pour les analyses d'HPLC.

#### **1.5.2. Analyse de l'extrait de graines de *Nigella sativa***

##### **1.5.2.1. Dosage des composés phénoliques**

###### **1.5.2.1.1. Dosage des phénols totaux**

Le dosage des phénols totaux par la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu a été décrit en 1999 par **Singleton et al.** Depuis, son utilisation s'est largement répandue pour caractériser les extraits végétaux d'origines diverses.

###### **1.5.2.1.1.1. Principe**

Le réactif de Folin-Ciocalteu (FCR) ou réactif de phénol de Folin ou également réactif de Folin-Denis, est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ). En milieu basique, le réactif de Folin-Ciocalteu oxyde les groupements oxydables des composés polyphénoliques présents dans l'échantillon. Les produits de réduction (oxydes métalliques  $W_8O_{23}/Mo_8O_{23}$ ) de couleur bleue, présentent un maximum d'absorption (à 725 nm), dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de phénols présents dans l'échantillon.

Le taux de polyphénols totaux des extraits nos échantillons, a été calculé à partir d'une courbe d'étalonnage linéaire ( $y = ax + b$ ), établie avec des concentrations précises d'acide gallique (0-140 mg/l) comme standard de référence, dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait de graines de nigelle (mg EAG/g extait).

#### 1.5.2.1.1.2. Mode opératoire

Les phénols totaux des graines de nigelle sont déterminés par colorimétrie à 765 nm selon la méthode de **Folin-ciocalteu** décrite par **Singleton et al.**, (1999) utilisant l'acide gallique comme standard.

A 0,25 ml d'extrait (dilué convenablement dans la solution méthanol-eau, 7 : 3) est ajouté 1,25 ml de réactif de Folin (dilué 10 fois dans l'eau distillée), après trois mn de réaction, 1 ml de carbonate de sodium (75g/l dans l'eau distillée) est ajouté au mélange. Après 30 mn d'incubation à l'obscurité et à la température de laboratoire, l'absorbance est lue à 765 nm contre un blanc sans extrait.

#### 1.5.2.1.2. Dosage des flavonoïdes

La méthode au trichlorure d'aluminium (**Lamaison et Carnet**, 1990) a été employée pour la détermination de la teneur totale en flavonoïdes des extraits de *Nigella sativa* étudiés.

À 1 ml d'échantillon ou standard (préparés dans le méthanol- eau : 7 : 3) est ajouté 1 ml de la solution d' $\text{AlCl}_3$  (2% dans le méthanol). Après 10 minutes de réaction, l'absorbance est lue à 430 nm.

Une courbe d'étalonnage établie avec la quercétine (0-40 mg/l), réalisée dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons, servira à la quantification des flavonoïdes. La teneur en flavonoïdes est exprimée en mg équivalent de Quercétine par g d'extrait de graine de nigelle (mg EQ/g extrait).

### 1.6. Méthodes de détermination de l'activité antioxydante

Nombreuses sont les techniques disponibles pour évaluer l'activité antioxydante des composés ou de mélanges complexes tels que les huiles essentielles ou les extraits de plantes. Tous les auteurs s'accordent qu'une seule procédure ne peut pas identifier tous les mécanismes caractérisant un antioxydant, (**Hazzit et al.**, 2009). C'est pour quoi, l'extrait subit un screening pour sa possible activité antioxydante en utilisant au moins deux essais ou méthodes complémentaires (**Mariod et al.**, 2009). **Turkmen et al.**,(2007). L'action antioxydante des composés phénoliques dépend de leur capacité à piéger les radicaux libres et leur aptitude à réduire le fer ferrique. L'activité antioxydante a été évaluée par les tests de piégeage du radical DPPH et du pouvoir réducteur

### 1.6.1. Activité de piégeage du radical DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl)

#### 1.6.1.1. Principe

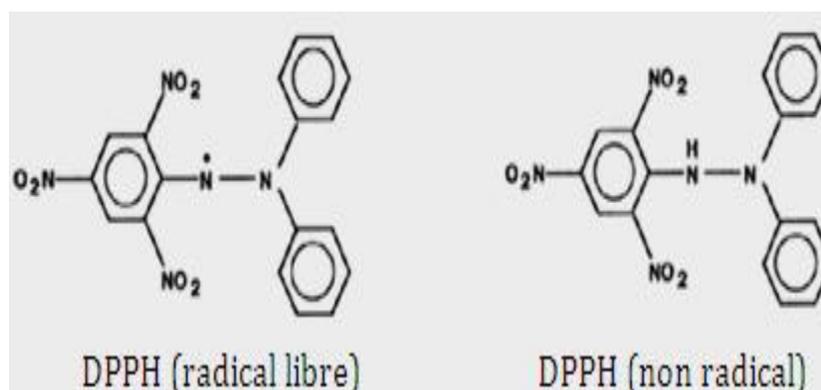
Le piégeage des radicaux libres est le principal mécanisme suivant lequel les antioxydants agissent dans les aliments. La capacité de donation des électrons par les extraits, est mise en évidence par une méthode spectrophotométrique en suivant la disparition de la couleur violette d'un solvant polaire comme le méthanol contenant le radical libre DPPH<sup>•</sup> (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl) à température ambiante.

Dans ce test, le piégeage du radical DPPH<sup>•</sup> est suivi par la diminution de l'absorbance à 517nm qui est due à la réduction du radical par l'antioxydant (AH) contenu dans les échantillons.

Le DPPH (Figure 11) est un radical stable et il présente en solution une absorption caractéristique à 517 nm qui lui confère une coloration violette. Cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit par un capteur de radicaux libres. On peut résumer cette réaction par l'équation suivante :



Où (AH)<sub>n</sub> représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH. (violet) pour le transformer en molécule DPPH-H (**Brand-Williamset al.**, 1995).



**Figure11** : Forme libre (violette) et réduite (jaune) du DPPH (**Brand-Williamset al.**, 1995).

### 1.6.1.2. Mode opératoire

Le test du DPPH a été réalisé dans un spectrophotomètre UV-visible de type UNICAM HELIOS  $\lambda$  à la longueur d'onde de 517 nm.

La solution de DPPH a été préparée à une concentration de 60  $\mu\text{M}$  dans de le méthanol absolu. Le test du DPPH est réalisé en suivant la méthode décrite par **Burits** et **Bucar** (2000), où 25  $\mu\text{l}$  de chacune des dilutions de l'extrait testé sont mélangés avec 975  $\mu\text{l}$  de la solution méthanolique de DPPH. Après une période d'incubation de 30 mn à la température ambiante, l'absorbance est lue à 517 nm. Le pourcentage d'activité antioxydante (AA%) est donné par la formule suivante :

$$\% \text{ AA} = [\text{Abs blanc} - \text{Abs échantillon} / \text{Abs blanc}] \times 100 \dots(9)$$

Où:

$A_{\text{blanc}}$  : Absorbance du témoin (Solution de DPPH) (517 nm) ;

$A_{\text{ech}}$  : Absorbance de l'échantillon.

### 1.6.1.3. Détermination de la concentration inhibitrice de 50% des radicaux ( $\text{IC}_{50}$ )

Elle est définie comme étant la quantité ou la concentration d'antioxydants (extrait, huile fixe ou toute autre substance antioxydante) nécessaire pour inhiber, piéger ou faire disparaître 50% des radicaux. Elle est obtenue à partir de l'équation de la courbe de l'activité antioxydante (AA%) en fonction de la concentration de l'antioxydant (présent dans l'extrait). La capacité antioxydante d'un composé est d'autant plus élevée que son  $\text{IC}_{50}$  est petite.

## 1.6.2. Pouvoir réducteur

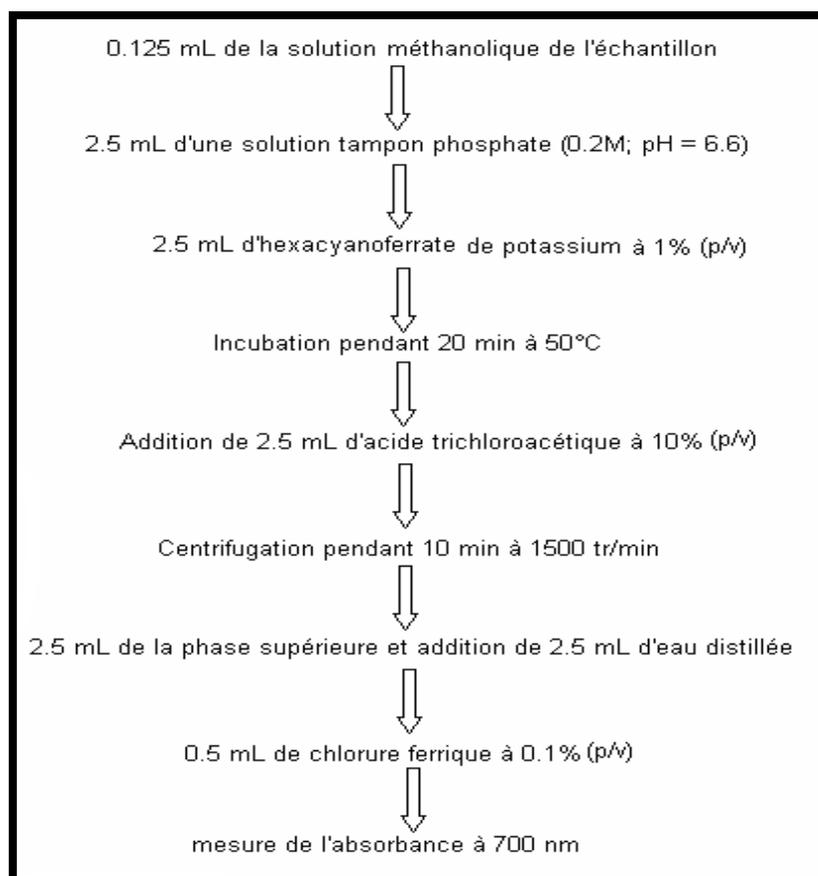
### 1.6.2.1. Principe

Le pouvoir réducteur mesure la capacité de réduire le fer ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) en fer ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ), donc la mesure de l'aptitude d'un extrait à interagir avec les espèces chimiques réactives en tant que donneur d'électrons tels que les radicaux libres. Ces radicaux ainsi réduits deviennent plus stables. Il est basé sur la réduction du fer ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) en fer ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ) dans lequel la coloration jaune de la solution à tester change vers diverses nuances de couleurs vertes et bleues en rapport avec le pouvoir réducteur de chaque échantillon (**Hazzit** et *al.*, 2013). La présence d'agents réducteurs provoque la conversion du complexe  $\text{Fe}^{3+}$  / ferricyanure à la forme ferreuse qui peut être suivie à 700 nm grâce à la formation de  $[\text{Fe}$

(CN)<sub>6</sub>]<sub>3</sub>, de couleur bleu de Prusse. L'augmentation de l'absorbance à 700 nm indique une augmentation de la capacité réductrice.

### 1.6.2.2. Mode opératoire

L'estimation du pouvoir réducteur de l'extrait étudié est obtenue selon le protocole expérimental suivant : à 0,125 ml d'échantillon (dilué dans le méthanol) sont ajoutés 2,5 ml d'une solution tampon phosphate (0,2M, pH : 6.6) et 2,5 ml d'hexacyanoferrate de potassium, [K<sub>3</sub>Fe (CN)<sub>6</sub>] (1%). Après incubation pendant 20 mn à 50°C, 2,5 ml d'acide trichloroacétique (10%) sont additionnés. Le tout est centrifugé pendant 10 mn à 1500 tr/mn. On prélève ensuite 2,5 ml de la phase supérieure de chaque tube pour les transférer dans un autre tube aux quels on ajoute 2,5 d' eau distillée. Au moment de la lecture on ajoute 0,5 ml de chlorure ferrique Fe Cl<sub>3</sub> (0,1%). L'absorbance est lue à 700 nm contre un blanc qui contient tous les réactifs à l'exception de l'échantillon à tester qui est remplacé par un volume égale de méthanol. L'augmentation de l' absorbance indique une augmentation de la capacité réductrice (Figure 12).



**Figure 12 :** Schéma du protocole expérimental de l'évaluation du pouvoir réducteur.

### 1.6.2. Analyse statistique

Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne  $\pm$  écart type. Les valeurs d'IC<sub>50</sub> (concentration inhibitrice à 50%) sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition = f (concentration)]. La différence entre l'extrait et les différents antioxydants de control, est déterminée par le test de Student pour les comparaisons simples ou ANOVA univariée suivie du test de Dunnett/Tukey pour les comparaisons multiples et la détermination des taux de signification. Les valeurs de  $p \leq 0.05$  sont comme étant statistiquement significatives.

## 1.7. Méthodes d'extraction de l'huile de nigelle

### 1.7.1. Préparation de l'échantillon

Les graines de nigelle ont subi un broyage afin de les réduire en fines particules et augmenter la surface de contact avec la presse hydraulique, facilitant l'obtention d'huile.

Un tamisage à travers des cribles de 1 mm de diamètre a permis d'homogénéiser la dimension des particules, selon la granulométrie souhaitée.

### 1.7.2. Extraction de l'huile par solvant (NF V 03 905)

L'extraction se fait par l'hexane dans un soxhlet, pendant six heures. Après élimination du solvant, l'extrait obtenu est évalué par pesée.

#### 1.7.2.1. Expression des résultats

La teneur en matière grasse totale, exprimée en pourcentage en matière de l'échantillon est donnée par la formule suivante :

$$MG\% = \frac{(M_1 - M_2) \times 100}{M_0 \times (100 - H)} \dots\dots(11)$$

Où ;

M<sub>0</sub> : Masse en gramme de la prise d'essai ;

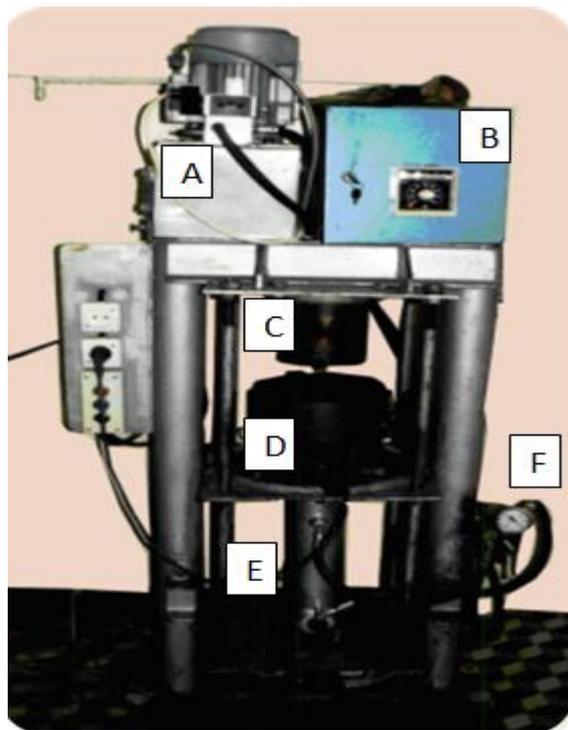
M<sub>1</sub> : Masse en gramme du ballon ;

M<sub>2</sub> : Masse en gramme du ballon et du résidu ;

H : Teneur en eau de l'échantillon exprimée en pourcentage en masse de l'échantillon.

### 1.7.3. Extraction par presse hydraulique

La presse hydraulique est composée d'une centrale hydro-électrique raccordée à un vérin qui comprime l'échantillon à l'intérieur d'un cylindre métallique entouré par une résistance contrôlée par un thermostat (Figure 13). Un thermocouple est installé dans cette presse pour l'enregistrement de la valeur de la température à l'intérieur des graines broyées. L'extraction d'huile est réalisée à partir d'une quantité connue de graines broyées mises dans des scourtins ; des plaques en acier sont placées entre deux scourtins (Figure 1, annexe). L'échantillon est comprimé à différentes pressions (50, 90 et 120 bars) et à des différentes températures (25, 40 et 60 °C) et enfin à différentes épaisseurs du gâteau ( $1.30 \pm 0.045$ ,  $2.80 \pm 0.19$ ,  $4.04 \pm 0.28$ ). Le rendement en huile est le rapport entre la masse de l'huile extraite et la masse de l'échantillon. L'efficacité de la presse hydraulique est le rapport entre la masse de l'huile extraite et la masse initiale de l'huile de graines.



**Figure 13 :** Presse hydraulique :(A) Centrale hydro-électrique (B) Thermostat (C) Cylindre métallique (D) Enceinte de pressage (E) Vérin et (F) Barromètre.

### 1.7.4. Plan experimental et analyse statistique

La méthodologie de surface de réponse (MSR) est utilisée pour évaluer les effets de quelques facteurs (température, pression, épaisseur) sur le rendement en huile des graines de *Nigella sativa*. Un plan composite central a été utilisé pour les valeurs suivantes des variables

indépendantes : température (25-60°C), pression (50-120 bars) et épaisseur de l'échantillon (Tableau 14).

**Tableau 14** : Niveaux des variables indépendantes influençant l'extraction de l'huile des graines de nigelle.

Niveau et rang	-1	0	+1
Température (A, °C)	25	40	60
Pression (B, bars)	50	90	120
Épaisseur du gateau (C, cm)	1,30	2,80	4,04

Les 17 expériences générées sont analysées par la méthodologie des surfaces de réponse en utilisant le logiciel statistique Design expert 8.7.0.1. Une fonction mathématique (polynome de second degré) exprime le rendement d'huile (Y), en fonction de la température, la pression et l'épaisseur de l'échantillon:

$$Y = b_0 + b_1X^1 + b_2 X^2 + b_3X^3 + b_{11}X_1^2 + b_{22}X_2^2 + b_{33}X_3^2 + b_{12} X_1 X_2 + b_{13} X_1 X_3 + b_{23} X_2 X_3 ;$$

Où Y est la réponse (rendement en huile) et  $b_0, b_1, b_2, \dots, b_{23}$ , sont respectivement les coefficients, linéaire, quadratique, et d'interaction.  $X_1, X_2$  et  $X_3$  sont variables codées indépendantes (Montgomery, 2005; Bradley, 2007). L'analyse a été réalisée en utilisant le *Design-Exert v 8.3.1*. La qualité du modèle ajusté a été évaluée par l'analyse de variance (ANOVA) (Tableau 15).

**Tableau 15** : Forme générale des résultats de l'analyse de la variance.

Sources de variances	ddl	Somme des carrés des écarts	Carrés moyens	$F_{obs}$	Probabilité P	Source influente ?
Facteur I	$ddl_1$	$SCE_1$	$CM_1 = SCE_1 / ddl_1$	$CM_1 / CM_r$	$P(F \geq F_{obs})$	$P < \alpha$
Facteur f	$ddl_f$	$SCE_f$	$CM_f = SCE_f / ddl_f$	$CM_f / CM_r$		
Facteur k	$ddl_k$	$SCE_k$	$CM_k = SCE_k / ddl_k$	$CM_k / CM_r$		
Interaction fg	$ddl_{fg}$	$SCE_{fg}$	$CM_{fg} = SCE_{fg} / ddl_{fg}$	$CM_{fg} / CM_r$		
Variation résiduelle	$ddl_r$	$SCE_r$	$CM_r = SCE_r / ddl_r$			
Totaux	$ddl_t$	$SCE_t$				

## 1.8. Méthodes de détermination des caractéristiques physico-chimiques de l'huile de graines de nigelle

L'huile extraite, après évaporation de l'hexane, est immédiatement analysée pour déterminer les indices physico-chimiques par les méthodes recommandées par l'AFNOR, (1988).

### 1.8.1. Indices physico-chimiques de l'huile de graines de nigelle

Les indices physico-chimiques sont des critères essentiels pour la caractérisation des corps gras car, malgré les progrès des techniques analytiques, certains de ces critères sont toujours considérés pour une évaluation rapide et fiable de leur qualité.

On peut considérer grossièrement que l'indice d'acide définit la qualité de la graine, l'indice de peroxyde, l'âge de l'huile, l'indice d'iode, son degré d'insaturation alors que l'indice de saponification offre des informations sur la longueur de la chaîne des acides gras.

#### 1.8.1.1. Densité relative à 20°C (NF T 75-111)

Elle est définie comme étant le rapport de la masse d'un certain volume d'huile à 20°C, sur la masse d'un égal volume d'eau distillée à la même température. Cette grandeur est sans dimension et son symbole est:  $d_{20}^{20}$

$$d_{20}^{20} = \frac{(m_2 - m_0)}{(m_1 - m_0)} \dots\dots(12)$$

Où ;

$m_0$  : Masse en gramme du pycnomètre vide ;

$m_1$  : Masse en gramme du pycnomètre rempli d'eau ;

$m_2$  : Masse en gramme du pycnomètre rempli d'huile.

#### 1.8.1.2. Indice de réfraction à 20°C (NF T 75-112)

L'indice de réfraction d'une substance est le rapport de la vitesse de la lumière dans le vide et dans la substance.

Le principe consiste à mesurer l'angle de réfraction de l'échantillon maintenu dans des conditions de transparence et d'isomorphisme.

Les mesures ont été effectuées à l'aide d'un appareil du type ERMA.

### 1.8.1.2.1. Expression des résultats

Quand la détermination est effectuée à une température ( $T / ^\circ\text{C}$ ) différente de  $20^\circ\text{C}$ , on effectue la correction à  $20^\circ\text{C}$  par le biais de la formule :

$$n_D^{20} = n_D^T + 0.0004(T - 20) \dots\dots(13)$$

$n_D^{20}$  : est la valeur de la lecture obtenue à la température  $T$ , à laquelle a été effectuée la détermination.

### 1.8.1.3. Dosage de l'acidité totale (NF V 03 906)

#### 1.8.1.3.1. Principe

Le dosage est basé sur la neutralisation de l'acidité totale de l'huile par une solution de NaOH, l'acidité totale est calculée en tenant compte du pourcentage de l'acide gras prédominant à savoir l'acide linoléique.

#### 1.8.1.3.4. Expression des résultats

Le calcul est réalisé grâce à la formule suivante :

$$\text{Acidité (\%)} = (V \times N \times E.M \times 100) / m \times 1000$$

Où :

V: Volume de NaOH utilisé pour la neutralisation ;

N:Normalité de NaOH ;

E.M: Poids équivalent de l'acide prédominant dans l'échantillon (acide linoléique) ;

m: Masse de l'échantillon.

#### 1.8.1.4. Indice de peroxyde (NF T 60 220)

L'indice de peroxyde représente la quantité des substances de l'échantillon, qui oxydent l'iodure de potassium avec libération d'iode dans les conditions de travail décrites.

Le principe se base sur le traitement du corps gras en solution, dans l'acide acétique et le chloroforme, par une solution d'iodure de potassium, et titrage de l'iode libéré avec une solution de thiosulfate de sodium.

#### 1.8.1.4.1. Expression des résultats

L'indice de peroxyde ( $I_p$ ), exprimé en milliéquivalents d'oxygène actif par kilogramme, est fourni par la formule :

$$I_p = \frac{(V \times T \times 8000)}{m} \dots\dots(15)$$

Où :

V : nombre de millilitres de solution de thiosulfate de sodium normalisée utilisée pour l'essai, corrigée en fonction des résultats de l'essai à blanc ;

T : titre exact de la solution de thiosulfate de sodium utilisée ;

m : masse (en grammes) de la prise d'essai.

#### 1.8.1.5. Indice de saponification (NF T 60 206)

L'indice de saponification est la quantité de potasse exprimée en milligrammes nécessaire pour saponifier 1 gramme d'huile.

Le principe consiste à mettre l'échantillon à ébullition sous réfrigérant à reflux avec une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium, l'excès de KOH est titré avec une solution aqueuse d'acide chlorhydrique en présence de phénolphaléine.

Un essai à blanc est effectué dans les mêmes conditions pour titrer la liqueur alcoolique de potasse.

##### 1.8.1.5.1. Expression des résultats

L'indice de saponification ( $I_s$ ) est donné par la formule :

$$I_s = \frac{(C_1 - C_2) \times 28}{m} \dots\dots(16)$$

Où :

m : Masse en gramme de la prise d'essai ;

$C_1$  : Volume d'acide chlorhydrique utilisé dans l'essai à blanc (ml) ;

$C_2$  : Volume d'acide chlorhydrique utilisé dans l'essai avec l'huile (ml).

#### 1.8.1.6. Indice d'iode (NF T 60 203)

L'indice d'iode est le nombre de grammes d'iode fixés par 100 grammes d'huile.

Le principe consiste à additionner à une prise d'essai en solution dans le chloroforme, un excès d'halogène d'iode ou réactif de wijs, on détermine l'excès d'iode par addition d'iodure de potassium et d'eau distillée, on titre l'iode libéré par une solution de thiosulfate de sodium (0.1 N) en présence d'empois d'amidon.

#### 1.8.1.6.1. Expression des résultats

L'indice d'iode ( $I_I$ ) est égal à :

$$I_I = \frac{(12.59 \times C(V_1 - V_2))}{m} \dots\dots(17)$$

Où :

C : Concentration, en moles par litre, de la solution de thiosulfate de sodium utilisée ;

V1 : Volume, en millilitres, de la solution  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  utilisée pour l'essai à blanc ;

V2 : Volume, en millilitres, de la solution  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  utilisée pour la détermination ;

m : Masse, en gramme, de la prise d'essai.

#### 1.8.1.7. Extraction de l'insaponifiable (NF 60 205)

Les matières insaponifiables d'un corps gras représentent l'ensemble des produits présents dans le corps gras qui, après saponification de celui-ci par hydroxyde alcalin, extraction par solvant spécifié et élimination de ce dernier, restent non volatils dans les conditions opératoires décrites dans la présente norme.

Le principe consiste dans un premier temps à la saponification du corps gras par traitement à ébullition à reflux avec une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium. Elle est suivie par une extraction de l'insaponifiable de la solution de savon par l'oxyde diéthylique, puis par l'évaporation du solvant et pesée du résidu après séchage à 103°C.

#### 1.8.1.7.1. Expression des résultats

La teneur en insaponifiable en pourcentage de masse, est donnée par :

$$\%insaponifiable = \left( \frac{m}{M} \right) \times 100 \dots\dots(18)$$

Où :

M : Masse de la prise d'essai ;

m : Masse du résidu après séchage.

### 1.8.1.8. Indice peroxydabilité

l'indice de peroxydabilité est calculé selon l'équation donnée par **Song et al.**, (2000)

#### 1.8.1.8.1. Expression des résultats

$$PI = (\% \text{ monoenoïque} \times 0.025) + (\% \text{ dienoïque} \times 1) + (\% \text{ trienoïque} \times 2) + (\% \text{ tetraenoïque} \times 4) + (\% \text{ pentaenoïque} \times 6) + (\% \text{ hexaenoïque} \times 8)$$

### 1.8.2. Dosage des acides gras de l'huile de graines de nigelle par chromatographie en phase gazeuse

Le dosage par introduction directe des acides gras dans la colonne est possible, mais généralement, ces substances ont des points de fusion assez élevés, alors que leurs esters méthyliques sont bien plus volatils.

Il est donc préférable de procéder à leur méthylation préalable, ce qui permettra de travailler à une température plus basse et d'utiliser des phases polaires qui ne supporteront pas des températures trop élevées.

Les esters méthyliques d'acides gras dérivés de triglycérides ont été analysés selon le procédé décrit par AFNOR (**NF 60 233**). Le principe est basé sur une saponification des glycérides du corps gras, puis estérification des acides gras libérés en présence de trifluorure de bore.

Les pics ont été identifiés en comparant les temps de rétention avec ceux d'un mélange d'esters méthyliques standards (Sigma L 9405).

#### 1.8.2.1. Conditions opératoires

- Appareil de type : Thermo-Finnigan
- Colonne capillaire : Polaire
- Longueur de la colonne : 30 m
- Diamètre interne : 0,32 mm
- Phase stationnaire : Polaire, acide nonafluoropentanoïque (NFPA)
- Température :
 

Détecteur	230°C
-----------	-------

Colonne	210°C
Bloc d'injection	190°C
▪ Vitesse du gaz porteur(Azote)	1ml/mn
▪ Volume injecté :	0.4 µl
▪ Détecteur :	Ionisation de flamme

## 1.9. Analyse des polyphénols par chromatographie liquide à haute pression CLHP ou high performance liquide chromatography (HPLC)

La technique de séparation la plus appréciée en analyse phytochimique est la chromatographie liquide à haute pression, (HPLC). L'HPLC avec détecteur à barette diode ou le diode array detector (DAD) est un instrument indispensable pour l'identification provisoire ou temporaire des principales structures phénoliques présentes dans l'aliment (**Chirinos et al.**, 2009).

### 1.9.1. Principe

La méthode de séparation qu'elle utilise fait appel aux mêmes éléments de base que ceux employés pour la chromatographie classique sur colonne, soit un ou plusieurs solvants et une colonne remplie avec une phase stationnaire, mais avec un appareillage plus sophistiqué. La grande différence par rapport à la chromatographie classique réside dans la durée d'élution. Cette vitesse est obtenue par l'application d'une pression élevée grâce à une pompe qui maintient constant le débit de l'éluent, elle se distingue également de la chromatographie classique par l'utilisation d'un détecteur dont le message est enregistré puis exploité par un détecteur relié au système (**Braithwaite et Smith**, 1999).

### 1.9.2. Mode opératoire

Les analyses ont été réalisées à l'aide d'un chromatographe, Agilent HPLC 1100, équipé d'éléments suivants :

- Une colonne hypersil BDS-C18 ; 250 mm x 4,6 mm ; 5µm.
- Phase mobile : 95% d'acides acétique à 0,2% : 5% d'acétonitrile, en gradient linéaire pendant 30 mn en terminant par 100% d'acétonitrile.
- Détecteur : détecteur à barette de diodes (DAD)

- Un logiciel informatique permettant de visualiser les signaux enregistrés par le détecteur.

Les conditions opératoires sont les suivantes:

- Température : 30°C.
- Volume d'injection: 2,0 µl
- Longueur d'onde: 220-254-280-300 et 365 nm
- Temps d'analyse : 30 min.

Les pics des composés phénoliques sont identifiés par rapport aux temps de rétentions des étalons.

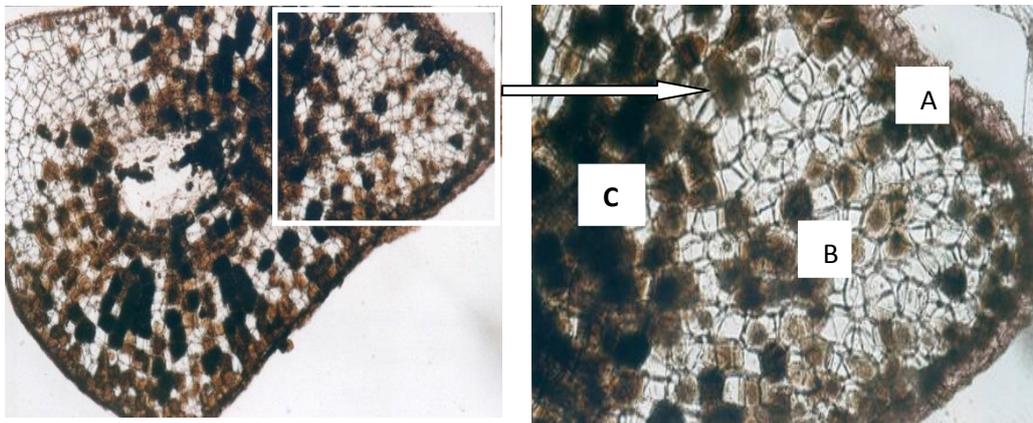
*Chapitre II*  
*Résultats*  
*et*  
*discussion*

## CHAPITRE II

### Résultats et discussion

#### 2.1. Localisation et répartition des sites producteurs d'huile dans la graine de nigelle

L'examen microscopique des coupes histologiques des graines de nigelle révèle la présence de téguments internes et externes et d'une couche protectrice (endosta) constituée d'une seule assise de cellules à section rectangulaire à parois transversale et latérale, (Figure 14, I .Gr. 6.3 x 3.2). Les réserves en huiles sont concentrées au centre et ont tendance à se répartir vers la périphérie. Cette observation nous permet de conclure que l'huile de nigelle est localisée dans les cotylédons et les téguments. Ces observations sont en accord avec celles rapportées par **Esau**, (1965); **Benyoucef**, (2001) et **Wagner et Smepered** (2004), (Figure 14, II ; Gr. 12 x 3.2 ; 25 x 3.2).



I(Gr.: 6.3 x 3.2)II(Gr.: 12.5 x 3.2)

**Figure 14** : Coupes transversales de la graine de nigelle, I et II, A : Huile de l'enveloppe de la graine, B : Endosperme, C : gouttelette d'huile).

## 2.2. Caractéristiques morphologiques et physico-chimiques de la graine de nigelle

### 2.2.1. Caractéristiques morphologiques de la graine de nigelle

*Nigella sativa* appartient à la famille des renonculacées, elle est caractérisée par un fruit qui est une capsule globuleuse, récoltée avant maturité complète pour conserver les graines. Les graines sont aromatiques, triangulaires, anguleuses d'un noir intense de 2 à 3 mm de longueur.

### 2.2.2. Caractéristiques physiques de la graine de nigelle

La détermination des propriétés physiques des graines est indispensable pour maîtriser leur traitement au cours des procédés de fabrication (**Juliano** et *al.*, 1990). Les graines de nigelle sont caractérisées par un poids de 1000 grains de  $3,18 \pm 0,17$ g et occupent un volume de  $1,71 \pm 0,42$ cm<sup>3</sup> par conséquent leur densité est de  $1,85 \pm 0,9$ . Cette caractéristique est très importante car les graines de calibre élevé renferment une teneur en huile importante. Les propriétés physiques de la graine de nigelle sont présentées dans le Tableau 16.

**Tableau 16** : Caractéristiques physiques de la graine de nigelle.

Caractéristiques	Valeurs déterminées
Poids de 1000 graines (g)	$3,18 \pm 0,17$
Volume des graines (cm <sup>3</sup> )	$1,71 \pm 0,42$
Densité des graines (g/cm <sup>3</sup> )	$1,85 \pm 0,9$
Tégument (%)	$33,71 \pm 1,66$
Amande (%)	$62,13 \pm 1,68$

## 2.3. Caractéristiques biochimiques des graines

Les valeurs de la composition biochimique indiquées par le Tableau 17 montrent que les graines de *Nigella sativa* sont une source importante d'huile (40,3%). Les teneurs de protéines (20,69%) et les glucides (25%) leurs confèrent une valeur alimentaire non négligeable. Par ailleurs, la teneur en polyphénols de 31.88 mg EAG/g d'extrait montre que ces graines ont une propriété pharmacologique intéressante. Ces résultats sont similaires à ceux rapportés par

(Atta, 2003 ; Cheikh Rouhou et al., 2006 ; Benkaci et al., 2012; Abbas Ali et al., 2012).Cependant certaines variations de la teneur des différents constituants ont été signalées.A titre d'exemple les teneurs en lipides varient de 28 à 40%, et celles de protéines de 16 à 26,7%(Al Gaby, 1998 ; Cheikh Rohou et al., 2006 et Abbas Ali et al., 2012). Ces différences pourraient être dûes aux conditions géographiques et climatiques des régions de culture qui influent considérablement sur la composition chimique. En effet les conditions écologiques tels que le stress hydrique, la salinité du sol, le froid peuvent réduire les teneurs en huile (D'antuono, 2002 ; Atta, 2003 ; Bourgou et Bettaieb, 2010).

**Tableau 17** : Composition biochimique de la graine de nigelle (g/100g MS).

Constituants	Taux
Teneur en eau	9,61 ± 0,14
Teneur en protéines	20,69 ± 0,84
Teneur en cendres	4,04 ± 0,29
Lipides totaux	40,37 ± 1,70
Sucre totaux (par différence)	25,29
Lipides totaux des téguments	34,59 ± 1,95
Polyhénols totaux (mg EAG/g extrait)	31,88±0,095

#### 2.4. Caractéristiques physico-chimiques de l'huile des graines de nigelle extraite par solvant et par presse hydraulique à 25 °C

Les valeurs des différentes caractéristiques de l'huile extraite par solvant et par pressage sont présentées par le Tableau 18. Ces valeurs montrent que l'huile extraite par solvant et celle extraite par presse hydraulique ont des indices physico-chimiques similaires.

Les valeurs de l'acidité sont largement supérieures à celle rapportées par Atta, (2003) et Kiralan et al., (2014), qui sont respectivement 11 et 7,49 %. La valeur élevée de l'acidité serait liée à la nature intrinsèque de la graine où certaines huiles végétales (l'huile d'olive et l'huile de palme) sont caractérisées par une acidité élevée (Patterson, 1989). La libération des acides gras est due à l'action des lipases favorisée par le broyage qui mettrait ces dernières au contact du substrat (lipides). Alibert et al., (2001) ont signalé que la présence de la lipase dans la graine pourrait augmenter le taux d'acides gras libres à 40 % et plus. Pour inhiber l'action de la lipase il est recommandé de stocker les graines oléagineuse à 4°C (Ustun et al., 1990). Récemment Gharbi et al., (2013), ont confirmé que l'hydrolyse enzymatique des triglycérides et les réactions de saponification sont responsables de la formation des acides gras libres dans les

huiles végétales, leur détermination est importante dans l'industrie car ils peuvent modifier les caractéristiques organoleptiques et physicochimiques de l'huile.

L'indice de peroxyde est de même ordre de grandeur que celui rapporté par **Kiralan et al.**, (2014) 31.32 meq O<sub>2</sub>/ kg d' huile, mais plus élevé que ceux rapportés par **Atta** (2003), **Cheikh Rouhou et al.**, (2007) et **Abbas Ali et al.**, (2012), qui sont respectivement de 4.35 et 5.65 meq O<sub>2</sub>/kg huile, 10.7- 13 meq O<sub>2</sub>/kg huile et 12.7 meq O<sub>2</sub>/kg huile. Cependant, il est important de noter que l'indice de peroxyde ne constitue pas un critère fiable pour évaluer l'état d'oxydation des huiles, car les huiles altérées sont caractérisées par un faible indice de peroxyde (**Cuvelier et Maillard** 2012).

Les valeurs de l'indice d'iode de l'huile extraite par presse et par solvant sont respectivement de 117± 2,00 et 118 ± 2,90. Ces valeurs nous permettent donc de conclure que l'huile de nigelle étudiée est semi-siccative. La semi-siccativité est due à une teneur élevée en acides gras insaturés. En effet la teneur totale des acides gras insaturés des graines de nigelle étudiées a été évaluée à 81,25% (Tableau 19). Ces valeurs d'indice d'iode sont comparables à celles de **Cheikh Rouhou et al.**, (2007) et de **Abbas Ali et al.**, (2012), qui sont respectivement de 119-101 et 115 g I<sub>2</sub>/100g d'huile.

**Tableau 18** : Caractéristiques physico-chimiques de l'huile de graines de nigelle extraite par solvant et par presse à 25 °C, comparées à celle rapportée par **Atta**, (2003).

Caractéristiques	Huile extraite par solvant	Huile extraite par presse à (25°C)	Huile extraite par solvant <sup>a</sup>	Huile extraite par presse à froid <sup>a</sup>
Densité (20 °C)	0,902 ± 0,03	0,982±0,01	0,921	0,911
Indice de réfraction (20 °C)	1,466 ± 0,00	1,468± 0,01	1,4721	1,4732
acidité exprimée en % d'acide linoléique	44,99 ± 0,72	40,85±0,83	6,7	11
Indice de peroxyde (meq O <sub>2</sub> /Kg d'huile)	39,11± 0,57	33,07±0.64	10,7	13,5
Indice d'iode (g de I <sub>2</sub> /100g huile)	117± 2,00	118 ± 2,90	128	115
Indice de saponification (mg de KOH/g d'huile)	199,85 ± 0,86	211±0,96	203	192
Taux d'insaponifiable (%)	0,950 ± 0,05	0,984 ± 0,03	1,8	1

(a) : **Atta**, (2003)

## 2.5. Composition en acides gras de l'huile de graines de nigelle extraite par presse à 25 °C

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse des esters méthyliques d'acides gras de l'huile de graines de nigelle extraite par presse a révélé la présence de neuf acides gras (Tableau 19 et Figure 15). La teneur en acides gras saturés totaux de l'huile de graines de nigelle est de 18,71%, celle des acides gras insaturés totaux est de 81,25%.

Les acides palmitique, stéarique, et béhénique sont les acides gras saturés majeurs dont les concentrations sont respectivement de 12,53, 3.23 et 2.62%. L'acide oléique et l'acide linoléique dont les teneurs sont respectivement de 24,13% et 54,97% sont deux principaux acides insaturés identifiés dans l'huile de graines de nigelle. La teneur en acide linoléique est plus importante que celle de l'acide oléique. La dominance de l'acide linoléique, qui est un acide gras essentiel, confère à l'huile de graines de nigelle une qualité nutritionnelle élevée. L'acide linoléique est considéré comme précurseur de l'acide arachidonique qui est aussi un acide gras essentiel (**Abbas Ali et al.**, 2012). Ainsi l'utilisation de l'huile de nigelle est très recommandée à cause de la présence des acides gras insaturés qui ont la propriété de réduire le cholestérol sérique.

Le rapport acide linoléique / oléique (2,28) élevé, et identique à celui rapporté par (**Gharbi et al.**, 2013), indique que l'huile de nigelle ne peut pas être utilisée comme huile de friture. La teneur de l'acide béhénique des graines de nigelles étudiées est de 2,62 %. Cependant, **Carter et Denke**, (2001) ont rapporté que l'acide béhénique, malgré sa faible biodisponibilité, est considéré comme un facteur augmentant le niveau de cholestérol humain.

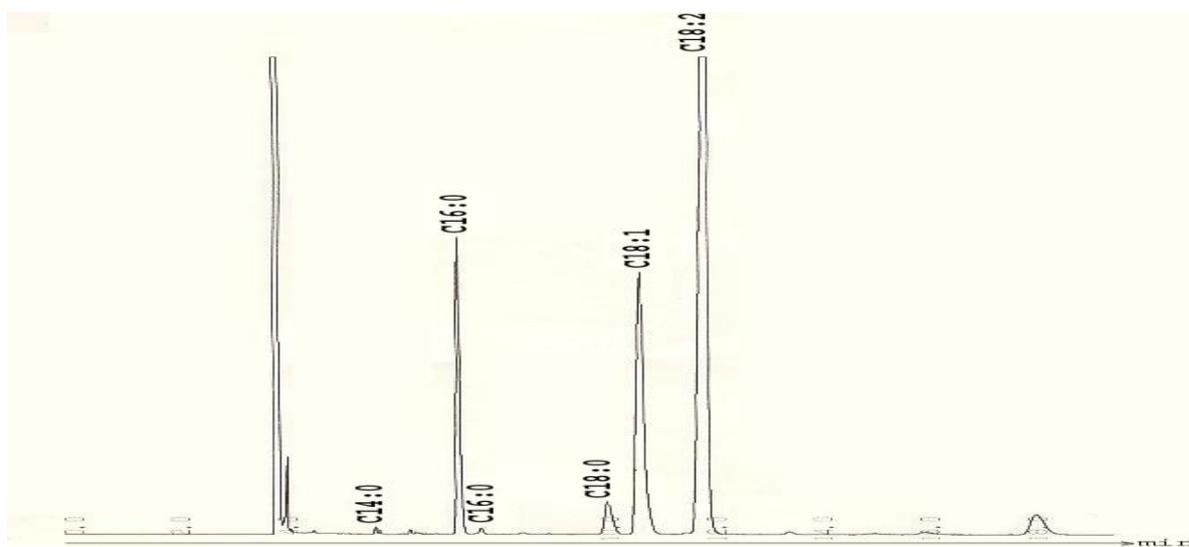
Les résultats ont aussi révélé que l'huile des graines de nigelle contient 0,33 % d'acide arachidique (C20 :0) et 1,72 % d'acide eicosénoïque (C20 :1) et dépourvue d'acide éicosadiénoïque (C20 :2). Ces résultats sont en accord avec ceux d'**Ustun et al.**, (1990). D'autre part, **Aitzetmüller et al.**, (1997) et **Matthaus et Ozcan**, (2011) ont rapporté que les acides gras (C20 :1 et C20 :2) peuvent être considérés comme des caractéristiques chimiotaxonomiques de la nigelle et comme critère d'identification de l'huile des graines de *Nigella sativa*. Les valeurs de l'acidité et du rapport Insaturés/Saturés qui sont respectivement de 33.07% et 4,33, montrent que l'huile brute extraite est stable au rancissement dû à l'auto-oxydation durant le stockage.

Nos résultats sont légèrement supérieurs à ceux rapportés par **Atta**, (2003) et **Cheikh Rouhou et al.**, (2006), mais comparables à ceux de **Abbas Ali et al.**, (2012) et **Gharbi et al.**, (2013) (Tableau 19 et Figure 15).

**Tableau 19** : Composition en acides gras de l'huile de graines de nigelle étudiée et de celle des graines cultivées dans différentes régions.

Acide gras (%)	Huile de nigelle étudiée	Tunis <sup>a</sup>	Iran <sup>b</sup>	Maroc <sup>c</sup>	Turkie <sup>d</sup>
Myristique C <sub>14:0</sub>	-	0,35±0,02	0,41±0,05	0,2 ±0,1	0,14±0,01
Myristoleïque C <sub>14:1</sub>	-	-	-	-	-
Palmitique C <sub>16:0</sub>	12,53 ± 0,33	17,2±0,15	18,4±0,25	11,9±0,2	11,84±0,06
Palmitoleïque C <sub>16:1</sub>	0,25± 0,12	1,15±0,05	0,78±0,25	0,2 ±0,1	0,24±0,00
Stéarique C <sub>18:0</sub>	3,23± 0,02	2,84±0,08	3,69±0,12	3,2±0,1	2,81±0,02
Oléique C <sub>18:1</sub>	24,13± 0,06	25± 0,24	23,7 ±0,06	24,9± 0,5	23,85 ±0,07
Linoléique C <sub>18:2</sub>	54,97 ± 0,22	50,31 ±0,25	49,15± 0,06	56,5± 0,70	57,52 ±0,07
Linolénique C <sub>18:3</sub>	0,18 ± 0,08	0,34±0,06	0,32±0,05	0,2±0,1	0,27 ±0,01
Arachidique C <sub>20:0</sub>	0,33±0,15	0,14 ±0,02	0,22±0,01	0,2 ±0,1	0,16±0,00
Eicosénoïque C <sub>20:1</sub>	1,72±0,19	0,32 ±0,04	0,34 ±0,05	-	0,31±0,01
Béhénique C <sub>22:0</sub>	2,62±0,23	1,98±0,08	2,60±0,05	-	-
C <sub>24:0</sub> lignocérique	-	-	-	-	0,26±0,02
TA connus	99,96	99,63	99,61	97,3	97,4
TA inconnus	0,04	0,37	0,39	2,7	2,6
TAS	18,74	22,7±0,37	25,5±0,69	15,5±0,5	15,21
TAI	81,25	77,12	74,29	82,1±0,5	82,19
TAMI	26,11	26,6 ±0,39	25,0± 0,58	25,1	24,4
TAPI	55,15	50,7±0,70	49,8±0,20	56,7	57,79
I / S	4,33	3,0	3,0	5,0	5,0

(a et b: Cheikh Rouhou et *al.*, 2006 ; c : Gharby, 2013 ; d : Kiralan et *al.*, 2014) **TAS** : total acides gras saturés, **TAI** : total acides gras insaturés, **TAMI** : total acides gras mono insaturés, **TAPI**: total acides gras poly insaturés, **I / S** : total acides gras insaturés / total acides saturés, (-): absence.



**Figure 15** : Chromatogramme des esters méthyliques de l'huile de graines de nigelle extraite par presse à 25 °C obtenu par CPG.

Les différences notées dans la composition en acides gras de l'huile des graines de nigelle des différentes régions peuvent être expliquées par plusieurs facteurs tels que les variations génétique, les différents traitements d'huile ou différentes dates de récolte (**Gharbi et al.**, 2013). La composition en acides gras de quelques huiles végétales est présentée dans le Tableau 20. On constate que le profil en acides gras de l'huile de nigelle est comparable à ceux de l'huile de maïs et de l'huile de soja.

**Tableau 20** : Comparaison de la composition en acides gras de l'huile de nigelle étudiée à celle d'autres huiles végétales (**Cuvelier et al.**, 2004).

Huile végétale de									
AG (g/100gMS)	Nigelle étudiée	Maïs	Soja	Palmiste	Arachide	Sésame	Colza	Tournesol	Olive
C12:0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C14:0	0,0	0,0	0,1	0,1	0,0	0,1	-	-	0,1 – 0,2
C16:0	12,53	10,9	10,3	43,5	9,5	8,9	4,8	5,4	7 – 16
C16 :1	0,25	-	0,2	0,3	0,1	0,2	0,5	0,2	1,6
C18:0	3,23	1,8	3,8	4,3	2,2	4,8	1,6	3,5	1,3
C18 :1	24,13	24,2	22,6	36,6	44,8	39,3	53,8	45,3	65 – 85
C18 :2	54,97	58,0	51,0	9,1	32	41,3	22,1	39,8	4 – 15
C18 :3	0,18	0,7	6,8	0,2	-	0,3	11,1	0,2	-

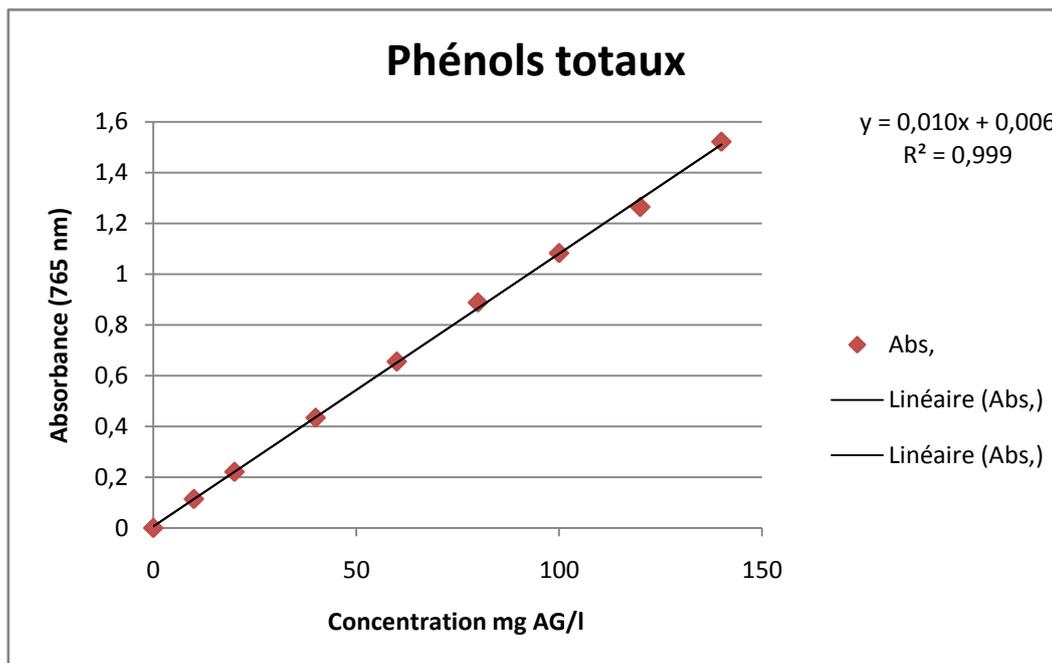
## 2.6. Les composés phénoliques extraits des graines de *Nigella sativa*

### 2.6.1 Rendement d'extrait sec contenant les composés phénoliques

L'extraction de composés phénoliques a été effectuée avec une solution aqueuse de méthanol (7 :3V/V). Le choix du solvant a été conditionné par le caractère polaire des composés phénoliques. **Trabelssi** et *al.*, (2010) ont signalé que l'extraction obtenue par l'utilisation de solvant hautement polaires et plus efficace que ceux de moindre polarité. L'addition de 20% d'eau au méthanol, acétone ou éthanol augmente le pouvoir extracteur et l'activité antioxydante. La teneur en extrait méthanolique sec brut des graines de nigelle est évaluée à environ 18 % du poids total des graines. Cette teneur est inférieure à celles rapportée par **Khattak** et *al.*, (2008) et **Miziti** et *al.*, (2012) qui ont rapporté respectivement des teneurs de 28 et de 21,5%. Cette différence quantitative en extraits végétaux pourrait être expliquée par l'action des facteurs extrinsèques (biotiques ou abiotiques) et intrinsèques affectant le rythme de la biosynthèse de ces métabolites secondaires par les plantes. Néanmoins, il est difficile de comparer ce résultat avec ceux rapportés par la bibliographie, car le rendement est relatif et semble être lié aux propriétés génétiques des graines, à la composition chimique des plantes, à l'origine géographique, aux conditions et à la durée de stockage de la récolte et ainsi qu'aux méthodes d'extraction appliquées (**Mechaieix**, 2006).

### 2.6.2. Polyphénols totaux

Les graines de *Nigella sativa* renferment une teneur en polyphénols totaux de 31.88 mg EAG/g (Figure 16 et Tableau 21). Cette teneur est en accord avec les valeurs rapportées par la littérature et qui varient de 24,36 à 33,64 mg EAG/g d'extrait (**Boudiaf**, 2006 ; **Mariod** et *al.*, 2009 ; **Meziti** et *al.*, 2012). Cependant **Khattak** et *al.*, (2008) ont trouvé une valeur très faible de 4,1 EAG/ g d'extrait qui pourrait être due à la méthode d'extraction au méthanol pur en utilisant le soxhlet.



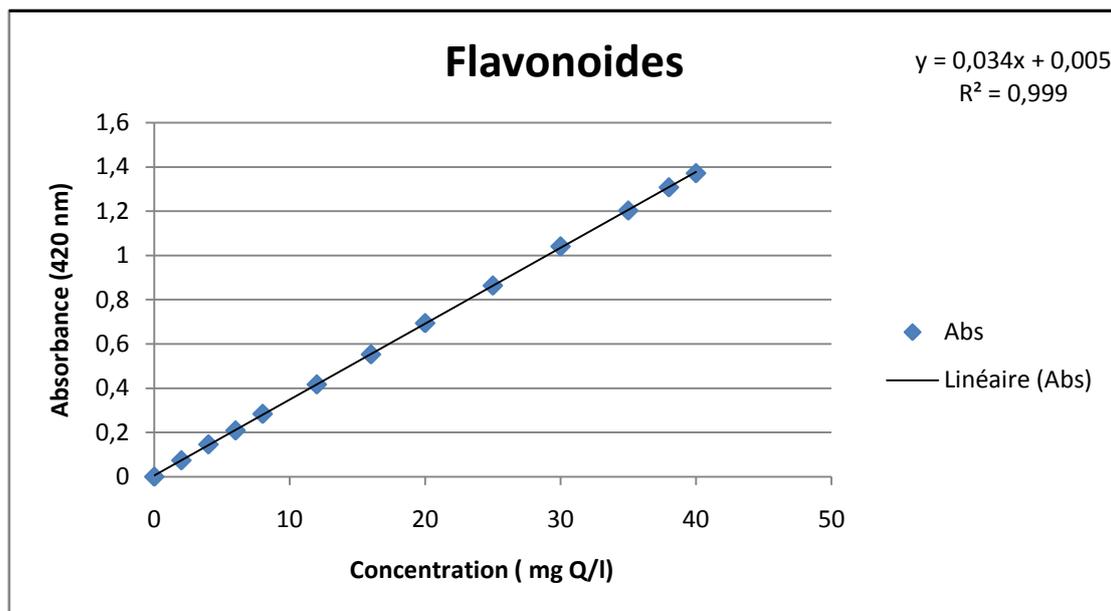
**Figure 2 :** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

**Tableau 21 :** Teneur des polyphénols totaux (mg Equivalent d'Acide gallique/g d'extrait), des graines *Nigella sativa*.

Composés chimiques	Graines de <i>Nigella sativa</i> étudiées	Meziti et al., (2012)	Mariod et al., (2009)	Khattak et al., (2008)	Boudiaf, (2006)
Polyphénols totaux	31,88±0,095	33,64 ± 0,34	27,8 ±0,11	4,1	24,36 ± 2,89

### 2.6.3. Flavonoïdes

Les graines de *Nigella sativa* renferment une teneur en flavonoïdes de  $18,71 \pm 0,21$  mg EQ/g d'extrait (Figure 17 et Tableau 22). Cette teneur est très élevée par rapport à celles rapportées par **Meziti et al.**, (2012) et **Boudiaf**, (2006).



**Figure 17:** Courbe d'étalonnage de la quercétine.

**Tableau 22:** Teneur en flavonoïdes (mg Equivalent de Quercétine/g d'extrait) des graines *Nigella sativa*.

Composés chimiques	Graines de <i>Nigella sativa</i> étudiées	Meziti et al., (2012)	Mariod et al.,(2009)	Khattak et al.,(2008)	Boudiaf, (2006)
<i>Flavonoïdes</i>	18,71±0,21	3,80 ± 0,07	ND*	ND*	3,28 ± 0,16

ND\*= Non déterminé

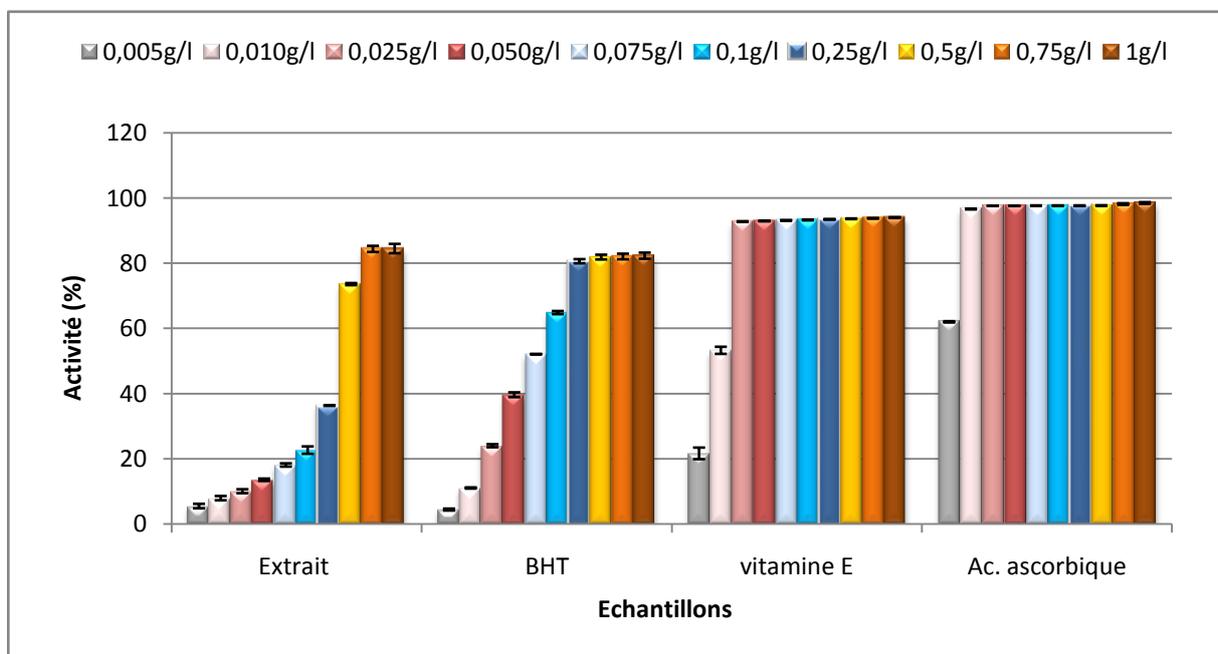
Les teneur en polyphénols et en flavonoïdes peuvent servir comme indicateur important de la capacité antioxydante et être utilisés comme une sélection préliminaire pour n'importe quel produit comme source naturelle d'antioxydants dans les aliments fonctionnels (Viuda *al.*, 2011).

#### 2.6.4. Activité anti antioxydante

Pour cette étude les deux méthodes testées sont l'inhibition du radical DPPH et le pouvoir réducteur.

### 2.6.4.1. Pouvoir de piégeage du radical DPPH

Les trois antioxydants de synthèse utilisés sont le BHT, les vitamines E et l'acide ascorbique. Les solutions de ces antioxydants sont préparées avec les mêmes dilutions que celle de l'extrait contenant les composés phénoliques afin de pouvoir comparer les résultats et d'en tirer l'efficacité des substances testées. Les résultats ont révélé que les concentrations des extraits inférieures ou égales à 0,25 g/l présentent une faible activité antioxydante par rapport aux BHT, la vitamine E et l'acide ascorbique. Pour la concentration de 0,5 g/l l'activité de notre extrait devient pratiquement similaire à celle des antioxydants de synthèse. Ce qui nous amène à dire que notre extrait n'est actif qu'à partir de la concentration 0,5 g/l. Ces résultats montrent que l'activité antiradicalaire est à dose dépendante. Cette observation est conforme avec celles de **Meziti et al.**, (2012). L'analyse de la variance révèle qu'il ya une différence hautement significative ( $p < 0,0001$ ) entre le DPPH de l'extrait et celui des antioxydants de synthèse (Tableau 6, annexe). Il est à constater également que l'acide ascorbique à une activité antioxydante élevée et pratiquement constante variant de 91,73 à 93,3% dans la plage de concentration testée. Les histogrammes qui expriment la capacité de l'extrait de graines de nigelle et les antioxydants de synthèses testés à piéger le radical **DPPH** dans la solution méthanolique en fonction de l'augmentation des concentrations sont présentés par la Figure 18.



**Figure 18:** Pouvoir de piégeage du radical DPPH (%) par l'extrait de graine de nigelle et par les antioxydants de synthèse (BHT, vitamine E, et acide ascorbique) à différentes concentrations.

### 2.6.4.1.1. Concentration inhibitrice (IC<sub>50</sub>)

L'activité antioxydante est très souvent caractérisée par la concentration inhibitrice de 50% des radicaux (IC<sub>50</sub>) de chacun des différents extraits ou témoins utilisés. L'activité antioxydante d'un extrait est d'autant plus importante que son IC<sub>50</sub> est faible. Les résultats obtenus sont résumés dans le Tableau 23. La valeur que nous avons trouvée est légèrement supérieure à celle de **Meziti et al.**, (2012) ce qui indique que notre extrait est légèrement moins actif. **Mariod et al.**, (2009) ont trouvé une valeur de  $2260 \pm 0,21$  mg/l pour les extraits méthanoliques des graines de nigelle, ce qui révèle une très faible activité à piéger les radicaux libres. Ce résultat nous paraît anormal du moment que la quantité de polyphénols trouvée par cet auteur était à peu près du même ordre de grandeur que celle que nous avons trouvée.

**Tableau 23** : Concentration inhibitrice (mg/l) de 50% des radicaux DPPH (IC<sub>50</sub>).

Echantillons	Extrait <i>Nigella sativa</i>	BHT	Vitamine E	Acide ascorbique
Présent travail	$280,73 \pm 3,01$	$72,16 \pm 0,1$	$9,55 \pm 0,07$	$4 \pm 0,1$
Meziti et al.,	$237,79 \pm 3,15$	ND*	ND*	ND*
Mariod (2009)	$2260 \pm 0,21$	ND*	ND*	ND*

\*ND= non déterminée par les auteurs.

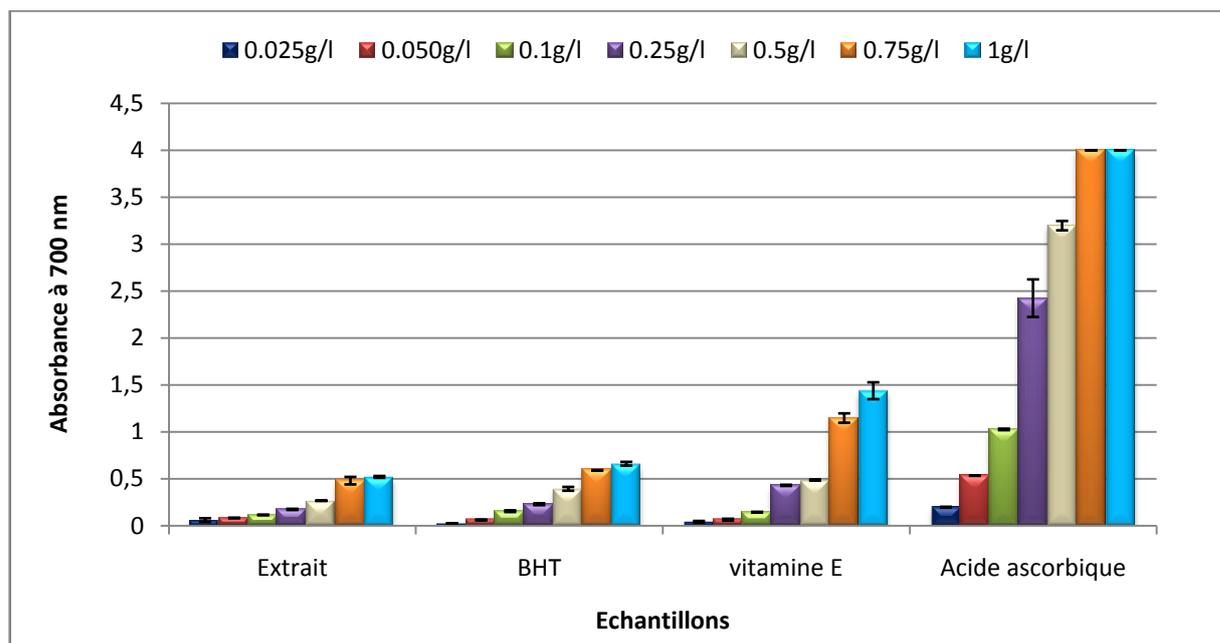
**Malencic et al.**, 2008, et **Khattak et al.**, (2008), en étudiant les extraits de graines de soja, et des graines de nigelle ont mis en évidence une relation linéaire entre l'IC<sub>50</sub> et le contenu en polyphénol totaux.

### 2.6.4.2. Pouvoir réducteur

Les résultats du pouvoir réducteur de l'extrait méthanolique étudié et des antioxydants de synthèses (BHT, vitamine E et l'acide ascorbique), exprimé par l'absorbance à 700 nm sont présentés par la Figure 19. Ces résultats montrent que l'extrait de graine de nigelle présente un pouvoir réducteur très faible comparé à celui de la vitamine E et l'acide ascorbique. Néanmoins, cette activité peut être comparable à celle du BHT notamment pour les

concentrations de 0,75 et 1 g/l. L'analyse de la variance révèle qu'il ya une différence hautement significative ( $p < 0,0001$ ) entre le pouvoir réducteur de l'extrait et celui des antioxydants de synthèse (Tableau 7, annexe).

Souvent le pouvoir réducteur est exprimé en  $EC_{50}$  qui correspond à la concentration qui fournit une absorbance de 0.5. Dans notre essai, la valeur d' $EC_{50}$  pour l'extrait des graines de nigelle n'a pas été atteinte. Pour les antioxydants de synthèse les valeurs des  $EC_{50}$  évaluées sont de  $633 \pm 11,5$  mg/l pour le BHT, de  $507 \pm 4,16$  mg/l pour la vitamine E et de  $47 \pm 0,28$  mg/l pour l'acide ascorbique.



**Figure 19 :** Evolution de pouvoir réducteur de l'extrait de graine de nigelle et des antioxydants de synthèse testés en fonction de la concentration.

### 2.6.5. Identification des composés phénoliques des graines de *Nigella sativa* par chromatographie liquide à haute pression

Les étalons utilisés pour l'identification des composés phénoliques présents dans l'extrait d'acétate d'éthyle ont été préalablement analysés par un spectrophotomètre UV, afin de déterminer pour chacun le spectre UV correspondant et ce pour trouver la longueur d'onde maximum ( $\lambda$  max.) d'absorption de chaque étalon. Cette  $\lambda$  max. est utilisée pour la meilleure détection du composé phénolique dans l'extrait. (Les chromatogrammes des étalons et ceux de l'extrait d'acétate d'éthyle obtenus pour les cinq longueurs d'ondes étudiées sont présentés en annexe). Les noms, les  $\lambda$  max. et les temps de rétention des 20 étalons sont présentés dans le tableau 24.

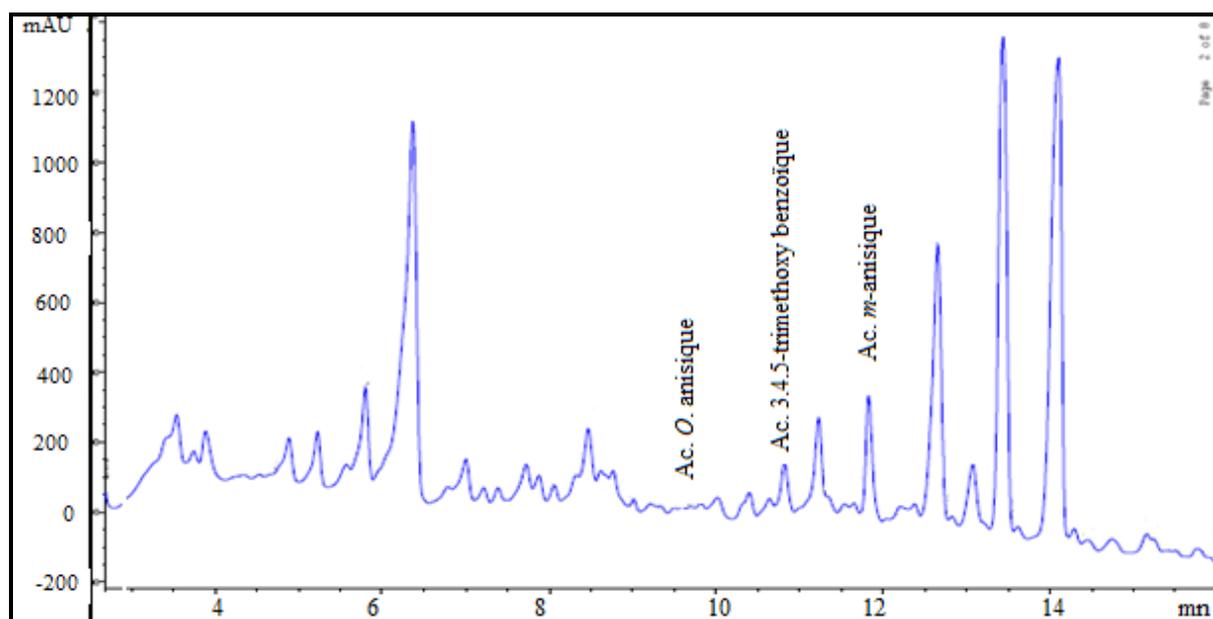
**Tableau 24:** Etalons des composés phénoliques avec leurs  $\lambda$  max. et temps de rétention.

N°	Composé phénolique	Longueurs d'onde (max.) (nm)	Temps de rétention (mn)
1	Ac. gallique	220	3,260
2	Ac. isovanillique	254	7,390
3	Ac. caféique	300	7,062
4	La rutine	365	8,664
5	Ac.férule	300	9,266
6	Ac. syringique	300	9,660
7	Acide o-anisique	300	9,668
8	Ac. 3-hydroxy 4-méthoxy cinnamique	300	9,677
9	La naringinine 7-aglucoside	220	10,387
10	Ac. 3.4.5-trimethoxy benzoïque	220	10,881
11	Ac. m-anisique	220	11,865
12	La lutéonine	365	12,776
13	La quercitine	365	12,810
14	Ac. 3.4.5-trimethoxy trans cinnamique	300	12,816
15	Ac. trans- cinnamique	280	13,821
16	L'apigénine	365	14,497
17	Ac. 2.5 dimethyl hydroxy cinnamic	280	14,823
18	Acide trans dimethoxy cinnamique	300	14,882
19	L'isorhamnétine	365	15,059
20	L'hespéredine	280	15,070

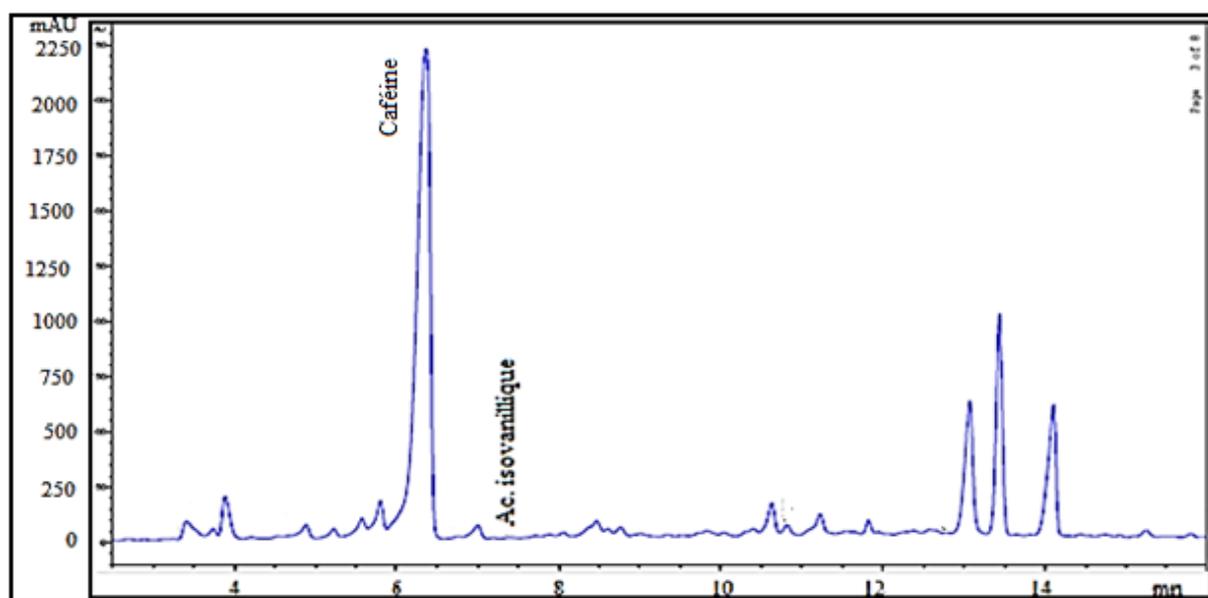
Il est à signaler qu'en plus de sa  $\lambda$  max. chacun des étalons utilisés a présenté d'autres bandes d'absorption dans le spectre UV, que l'on pourra éventuellement utiliser aussi dans l'identification des composés phénoliques présents dans l'extrait. (Exemple l'acide gallique et la naringine qui ont leur  $\lambda$  max à 220 mais mieux visualisés à 280 nm).

#### 2.6.5.1. Composés phénoliques identifiés dans les graines de *Nigella sativa*

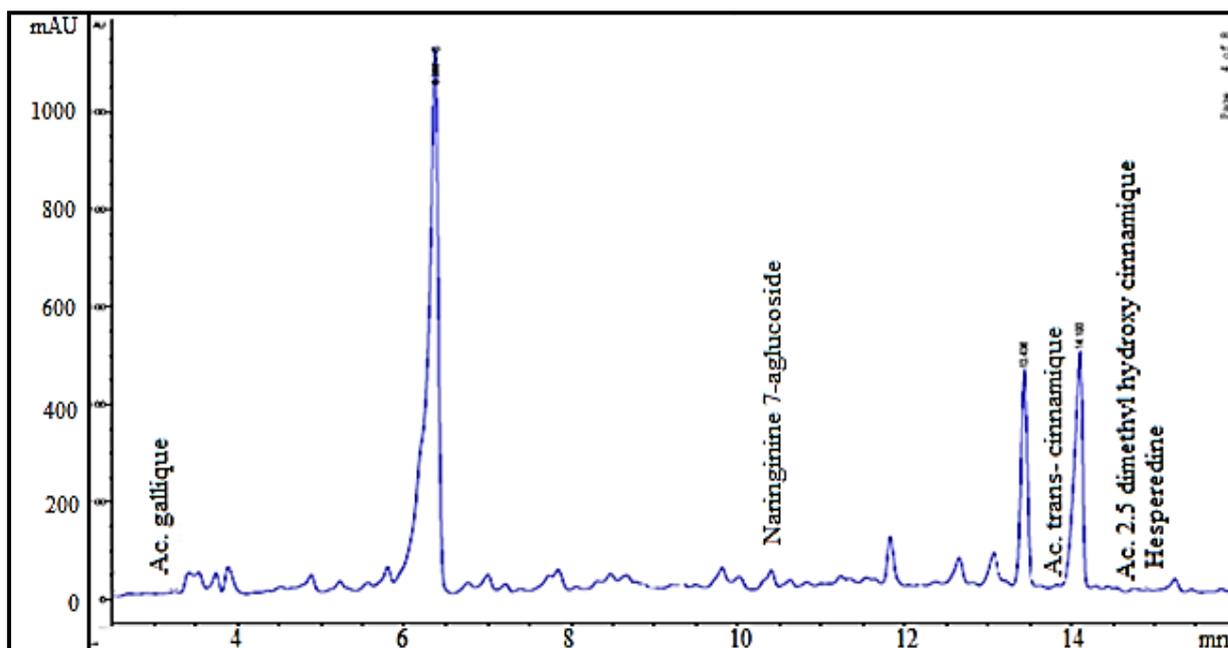
Les trois groupes de composés phénoliques identifiés sont: les acides benzoïques et cinnamiques et les flavonoïdes. Les chromatogrammes de ces composés obtenus à différentes longueurs d'ondes sont présentés par les Figures 20, 21, 22, 23 et 24.



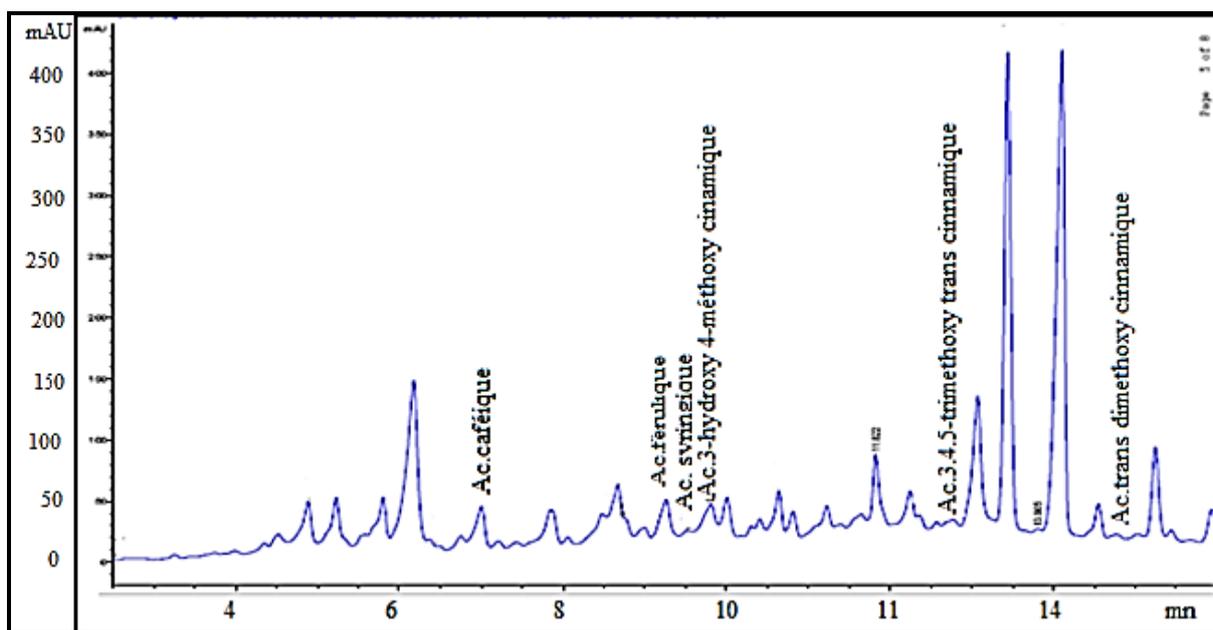
**Figure 20:** Chromatogramme des composés phénoliques séparés par HPLC et identifiés à 220 (nm); Ac. *O.* anisic (Tr=9.693 mn), (Ac. 3.4.5-triméthoxy benzoïque (Tr=10.881 mn), Ac. *m.* anisique (Tr=11.858 mn).



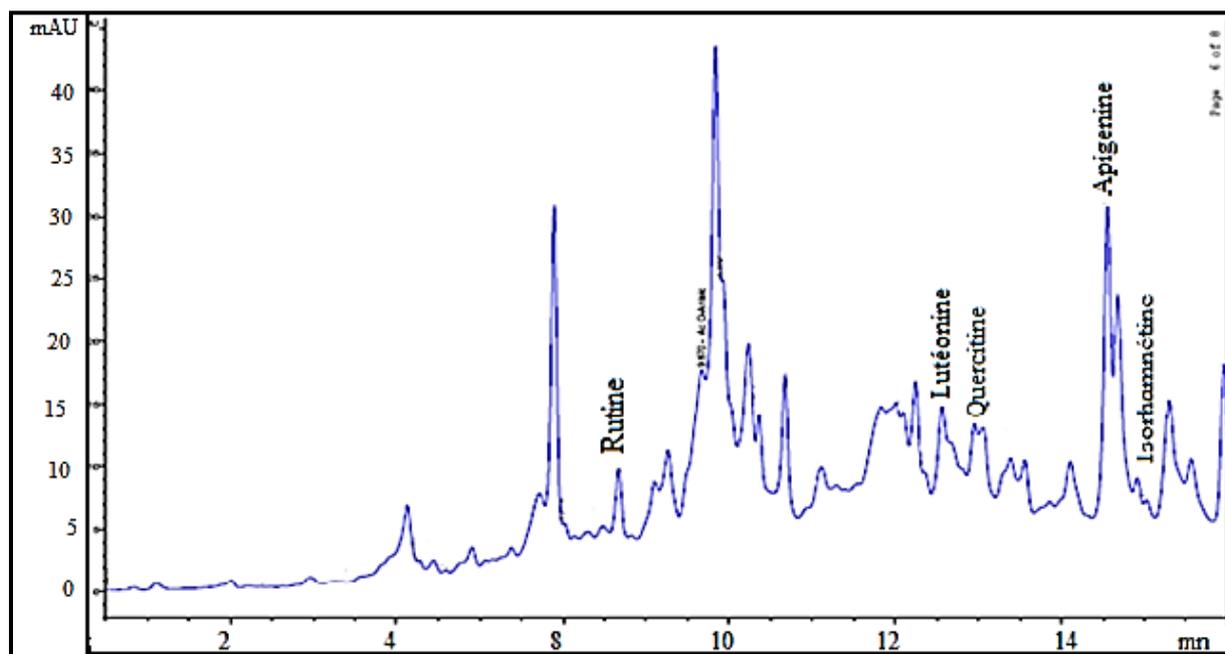
**Figure 21:** Chromatogramme des composés phénoliques séparés par HPLC et identifiés à 254 (nm): Ac. isovanillique (Tr=7.390 mn).



**Figure 22:** Chromatogramme des composés phénoliques séparés par HPLC et identifiés à 280 (nm) : Ac. gallique (Tr=3.243mn), la naringinine 7-aglucoside (Tr=10.399 mn), Ac. trans-cinnamique (Tr=13.828 mn), Ac. 2.5 diméthyl hydroxycinnamique (Tr=14.971), l'hesperidine (Tr=14.915 mn).



**Figure 23:** Chromatogramme des composés phénoliques séparés par HPLC et identifiés à 300 (nm) : Ac. caféique (Tr=7.001 mn), Ac. férulique (Tr=9.261 mn), Ac. syringique (Tr=9.518 mn), Ac. 3-hydroxy 4-méthoxycinnamique (Tr=9.809 mn), Ac. 3.4.5-triméthoxy trans cinnamique (Tr=12.768 mn), Ac. trans diméthoxy cinnamique (Tr=14.769 mn).



**Figure 24 :** Chromatogramme des composés phénoliques séparés par HPLC et identifiés à 365 (nm) : la rutine (Tr=8.669 mn), Acide *o*-anisique (tr=9.670), la lutéonine (Tr=12.561mn), la quercitine (Tr=12.951 mn), l'apigénine (Tr=14.551 mn), l'isorhamnétine (Tr=15.023 mn).

#### 2.6.5.1.1. Les acides benzoïques

Les acides benzoïques identifiés dans les graines de nigelle sont : les acides gallique, iso-vanillique, 3.4.5-trimethoxy benzoïque, m-anisique, o-anisique, et syringique. Nos observations sont similaires à celles rapportées par **Bourgou et al.**, (2008) ; **Benkaci et al.**, (2012), qui ont identifié les acides benzoïques suivants : gallique, parahydroxybenzoïque, chlorogénique, et vanillique (Tableau 25).

**Tableau 25** : Caractéristiques chromatographiques des différents acides benzoïques.

Acides benzoïques	Temps de rétention (mn)	Longueur d'onde (nm)
Acide gallique	3,243	220
Ac. isovanillique	7,390	254
Ac. syringique	9,518	300
Ac. o-anisique	9,693	300
Ac. 3.4.5-trimethoxy benzoïque	10,881	220
Ac. m-anisique	11,858	220

#### 2.6.5.1.2. Les acides cinnamiques

Les acides cinnamiques identifiés dans les graines de nigelle sont : les acides caféique, férulique, syringique, 3-hydroxy 4-méthoxycinnamique, 3.4.5-trimethoxy trans cinnamique et trans dimethoxy cinnamique. **Bourgou** et *al.*, (2008) et **Benkaci** et *al.*, (2012), ont signalé la présence des acides para-coumarique, férulique, trans-2-hydroxycinnamique, trans-hydroxycinnamique (Tableau 26).

**Tableau 26** : Caractéristiques chromatographiques des différents acides cinnamiques.

Acides cinnamiques	Temps de rétention (mn)	Longueurs d'ondes (nm)
Ac.caféique	7,001	300
Ac.férulique	9,261	300
Ac.3-hydroxy 4-méthoxycinnamique	9,809	300
Ac.3.4.5-trimethoxy trans cinnamique	12,768	300
Ac. trans- cinnamique	13,828	280
Ac.trans dimethoxy cinnamique	14,769	300
Ac. 2.5 dimethyl hydroxy cinnamique	14,971	280

#### 2.6.5.1.3. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes identifiés dans l'extrait d'acétate d'éthyle de graines de nigelle sont : la rutine, la lutéonine, la quercitine, l'apigénine, l'isorhamnétine, et l' hesperidine. **Merfort** et *al.*, (1997) n'ont identifié dans les graines de nigelle que les trois flavonoïdes triglycosylés

suyvants : la quercétine 3-glycosyl (1→2) galactosyl (1→2) glucoside, kœmpférol 3-glycosyl (1→2) galactosyl (1→2) glucoside et quercétine 3- (6-feruloglucosyl) (1→2) galactosyl (1→2) glucoside. Les caractéristiques chromatographiques sont présentées sur le Tableau 27.

**Tableau 27** : Caractéristiques chromatographiques des flavonoïdes.

Flavonoïdes	Temps de rétention	Longueur d'onde (nm)
la rutine	8,669	365
La naringinine 7-aglucoside	10,399	220
la lutéonine	12,561	365
la quercitine	12,951	365
l'apigénine	14,551	365
l'hesperédine	14,915	280
l'isorhamnétine	15,023	365

La caféine qui appartient aux alcaloïdes a été identifiée dans l'extrait d'acétate d'éthyle des graines de nigelle à un temps de rétention de 6,405 mn. On a constaté l'apparition du pic de la caféine dans la majorité des chromatogrammes et particulièrement aux longueurs d'ondes 220, 280 avec un max d'absorbance à 254 nm.

### 2.6.5.2. Intérêt physiologiques des composés phénoliques identifiés

#### 2.6.5.2.1. Acides phénoliques

Les composés phénoliques tels que les acide hydroxybenzoïque, syringique et vanillique ont une forte activité antioxydante (**Zhang** et *al.*, 2012). Les acides vanillique et gallique constituent le tiers (1/3) des polyphénols alimentaires et sont associés avec les propriétés organoleptiques, nutritionnelles et antioxydantes de l'aliment (**Trabelssi** et *al.*, 2010). L'acide gallique est largement utilisé comme additif pour stopper la dégradation des aliments, il y est connu pour ses activités anti- inflammatoires, antimutagènes et anti cancérogènes (**Soong** et **barlow**, 2006). L'acide vanillique est un dérivé phénolique connu pour ses activités antimicrobienne et antiviral (**Varma** et *al.*, 1993), hépatoprotectives (**Singh** et *al.*, 1984). L'acide caféique est un puissant piègeur de radicaux libres et a une propriété protectrice contre la peroxydation des lipides et des liposomes (**Djeridane** et *al.*, 2007). **Mariod** et *al.*, (2009) ont rapporté que l'isolation et la caractérisation de acides phénoliques est utile pour le

développement des antioxydants naturels en tant qu'additifs dans les huiles et les divers produits des industries alimentaires.

#### 2.6.5.2.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont de potentiels piègeurs de radicaux libres et sont utiles pour la prévention de l'athérosclérose, le cancer, le diabète et les maladies neuro dégénératives et ont un intérêt en industrie agroalimentaire (Zainol et al., 2003). A titre d'exemple la rutine est connu pour ces propriétés anti-inflammatoires, antiallergiques, antivirales et anticancéreuses (Bishnoi et al., 2007).

### 2.7. Optimisation des paramètres influençant l'extraction de l'huile de graines de nigelle par presse hydraulique en utilisant la Méthodologie des Surfaces de Réponse

#### 2.7.1. Ajustement du modèle

Les valeurs de  $R^2$  indiquent que plus de 95 % des données expérimentales sont compatibles avec les valeurs des données prévues par le modèle (Tableau 28) et seulement moins de 5% de l'ensemble des variations ne sont pas expliquées par le modèle. L'expression mathématique de la relation à la réponse avec les variables sont indiqués ci-dessous :

$$Y\% = + 8,29 + 7,04 * A + 1,91 * B - 0,88 * C + 1,38 * A * B + 0,21 * A * C + 1,05 * B * C + 2,77 * A^2 + 0,79 * B^2 + 1,36 * C^2 \dots (19)$$

Où  $Y\%$  (%) est le rendement et A, B, C, sont respectivement les valeurs codées des variables testées suivantes : température (°C), pression (bars) et épaisseur de l'échantillon (cm). Plus l'amplitude de la valeur de F est élevée et celle de P est faible, et plus le coefficient correspondant est significatif. Les valeurs de "Prob > F" inférieures à 0,05 indiquent que les facteurs du modèle sont significatifs. Les valeurs supérieures à 0,05 indiquent que les facteurs du modèle ne sont pas significatifs. Pour cette étude A, B, C, AB,  $A^2$ ,  $C^2$  sont les termes du modèle ayant des effets significatifs respectivement sur rendement d'huile.

**Tableau 28** : Conditions expérimentales et valeurs de réponses observées du CCD.

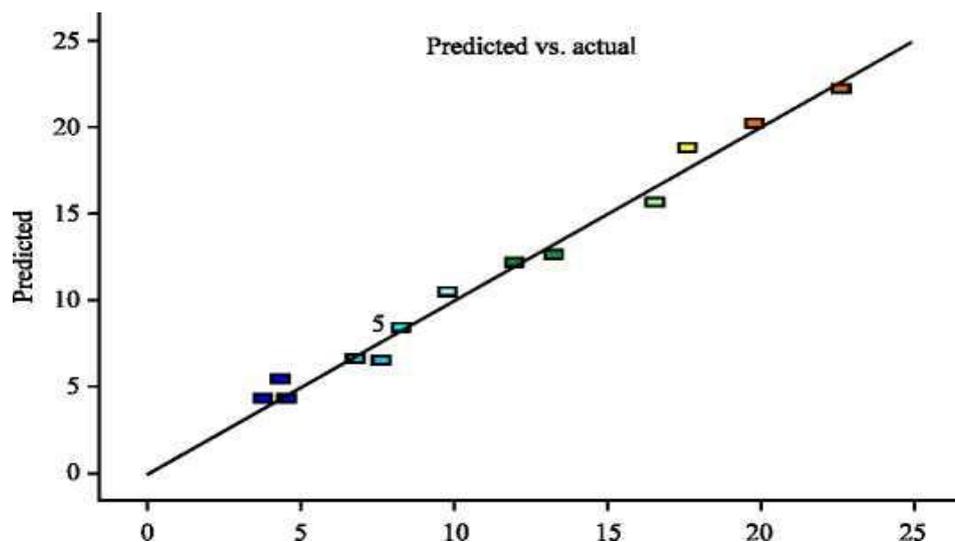
Codée				Non codée			Rendement en huile %
Rang	A	B	C	Température (°C)	Pression (bars)	Épaisseur du gâteau (cm)	
1	-1	-1	0	25	50	2.80	3.81
2	1	-1	0	60	50	2.80	16.58
3	-1	1	0	25	120	2.80	4.37
4	1	1	0	60	120	2.80	22.64
5	-1	0	-1	25	90	1.30	7.63
6	1	0	-1	60	90	1.30	19.84
7	-1	0	1	25	90	4.04	4.58
8	1	0	1	60	90	4.04	17.64
9	0	-1	-1	40	50	1.30	9.77
10	0	1	-1	40	120	1.30	12.00
11	0	-1	1	40	50	4.04	6.78
12	0	1	1	40	120	4.04	13.23
13	0	0	0	40	90	2.80	8.29
14	0	0	0	40	90	2.80	8.29
15	0	0	0	40	90	2.80	8.29
16	0	0	0	40	90	2.80	8.29
17	0	0	0	40	90	2.80	8.29

Les effets linéaires, quadratiques et interactives de toutes les variables sur la réponse sont évalués par l'analyse de la variance du modèle quadratique de surface de réponse. Le signe et l'amplitude des coefficients précisent les effets des variables sur la réponse. Le signe négatif du coefficient signifie que la réponse diminue lorsque la variable augmente, tandis que le signe positif indique une augmentation de la réponse. Pour l'interaction positive le niveau de l'une des variables interactives pourrait augmenter pendant que l'autre diminue afin d'aboutir à une valeur constante de la réponse.

### 2.7.2 Effet sur le rendement d'huile

Les valeurs des probabilités présentées sur le tableau 26 montrent que les termes A, B, C, AB,  $A^2$ ,  $C^2$  ont des effets significatifs ( $p < 0.05$ ) sur le rendement d'huile pendant le pressage (Tableau 29 et Tableau 8, annexe). L'amplitude relative des coefficients d'estimation indique l'effet significatif de la température de pressage (7.04), suivi par la pression (1.91) et par l'épaisseur de l'échantillon (-0.88). Ces résultats indiquent que le rendement d'huile augmente avec l'augmentation de la température du pressage et de la pression par contre il diminue avec l'augmentation de l'épaisseur de l'échantillon. Le quadratique de la température ( $A^2$ ) et de l'épaisseur ( $C^2$ ) ont des effets significatifs sur le rendement d'huile mais celui de la pression est non significatif ( $p > 0.05$ ). L'interaction de [pression - température], a un effet significatif, cependant les interactions [température - épaisseur de l'échantillon] et [pression - épaisseur de l'échantillon] ont un effet non significatif. La valeur du coefficient de variation (CV) qui est de 8.88% indique que la déviation entre les valeurs expérimentales et prédites est faible. La Figure 25 confirme le bon alignement des valeurs expérimentales et prédites du rendement d'huile des graines de *Nigella sativa*. Le modèle mathématique final du rendement d'huile est le suivant :

$$\text{Rendement d'huile (g/100g MS)} = + 8,29 + 7,04 * A + 1,91 * B - 0,88 * C + 1,38 * A * B + 0,21 * A * C + 1,05 * B * C + 2,77 * A^2 + 0,79 * B^2 + 1,36 * C^2 \dots \dots \dots (20)$$



**Figure 25 :** Valeurs prédites en fonction des valeurs observées du rendement d'huile des graines de *Nigella sativa*.

**Tableau 29** : Analyse de la variance (ANOVA) pour le modèle quadratique de surface de réponse pour le rendement d'huile extraite par presse hydraulique.

Source	Coefficients du modèle	Somme des carrés	DDL	Moyenne des carrés	F-valeur	P- valeur
<b>Model</b>	8.29	490.2600	9	54.470	61.36	<0.0001
<b>Linéaire</b>						
<b>A</b>	7.04	396.3500	1	396.350	446.44	<0.0001
<b>B</b>	1.91	29.2600	1	29.260	32.96	0.0007
<b>C</b>	-0.88	6.1400	1	6.140	6.92	0.0339
<b>Quadratique</b>						
<b>A<sup>2</sup></b>	2.77	32.2800	1	32.280	36.36	0.0005
<b>B<sup>2</sup></b>	0.79	2.6400	1	2.640	2.97	0.1285
<b>C<sup>2</sup></b>	1.36	7.8300	1	7.830	8.82	0.0208
<b>Interaction</b>						
<b>AB</b>	1.38	7.5600	1	7.560	8.52	0.0224
<b>AC</b>	0.21	0.1800	1	0.180	0.20	0.6656
<b>BC</b>	1.05	4.4500	1	4.450	5.01	0.0601
<b>Résiduelle</b>		6.2100	7	0.890		
<b>Manque ajustement</b>		6.2100	3	2.070		
<b>Erreur pure</b>		0.000	4	0.000		
<b>R<sup>2</sup></b>		0.9875				
<b>R<sup>2</sup> Ajusté</b>		0.9714				
<b>R<sup>2</sup> prédit</b>		0.7997				
<b>Déviation standard</b>		0.9400				
<b>Coefficient de la variance CV %</b>		8.8800				
<b>Press</b>		99.4300				

(A ; température, B ; pression et C ; épaisseur de l'échantillon) ; \* $P < 0.01$  hautement significatif ;  $0.01 \leq P < 0.05$  significatif ;  $P \geq 0.05$  non significatif.

### 2.7.3. Analyse des surfaces de réponse

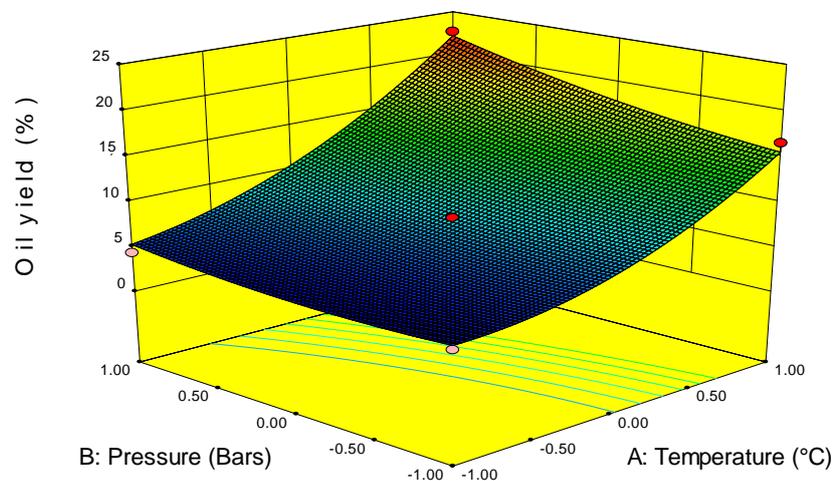
L'effet des variables indépendantes (température, pression, épaisseur de l'échantillon) sur la variable dépendante (rendement d'huile) est indiqué par les contours des surfaces de réponses développées à partir de l'équation 20 (Figure 27, 29 et 31).

La meilleure méthode pour présenter les effets de ces variables indépendantes sur le rendement en huile, c'est de tracer les surfaces de réponses à partir l'équation du modèle mathématique (Zhang *et al.*, 2012). Ces surfaces de réponses sont effectuées en faisant varier deux variables et en fixant la troisième variable.

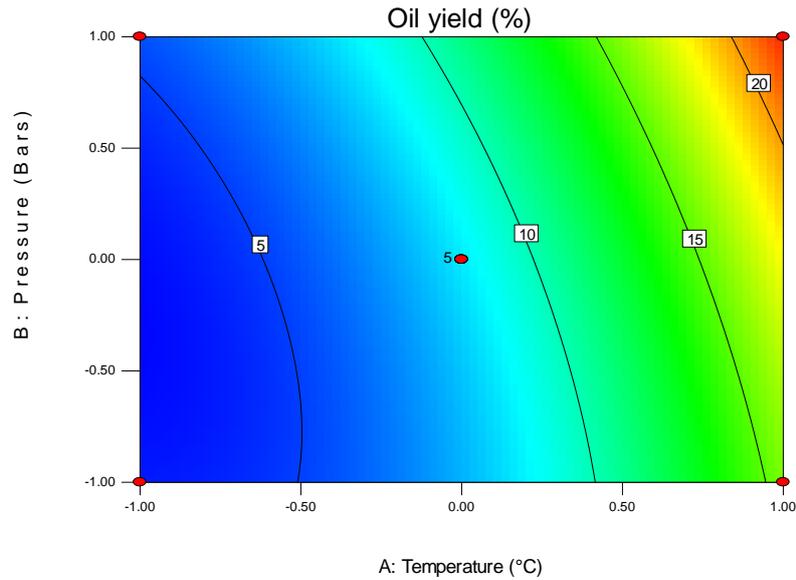
### 2.7.3.1. Effets combinés de la pression et de la température sur le rendement en huile

La Figure 26 représente la surface de réponse montrant l'effet de la température et de la pression sur le rendement d'huile. On constate que la température et la pression ont un effet linéaire positif sur le rendement d'huile qui augmente avec l'augmentation de ces deux facteurs. L'effet de l'augmentation de la température sur le rendement étant plus marqué. Les interactions entre la température et la pression ont un effet positif et significatif ( $P$ -valeur =  $0.0224 < 0.05$ ).

Les tracés de contours indiquent approximativement la réponse optimale. La valeur de cette dernière ( $>22\%$ ) a été observée pour le niveau élevé des variables indépendantes (température de  $60^\circ$  et pression de 120 bars), elle est visualisée par la Figure 27 sur le coin droit en haut de la surface en couleur rouge.



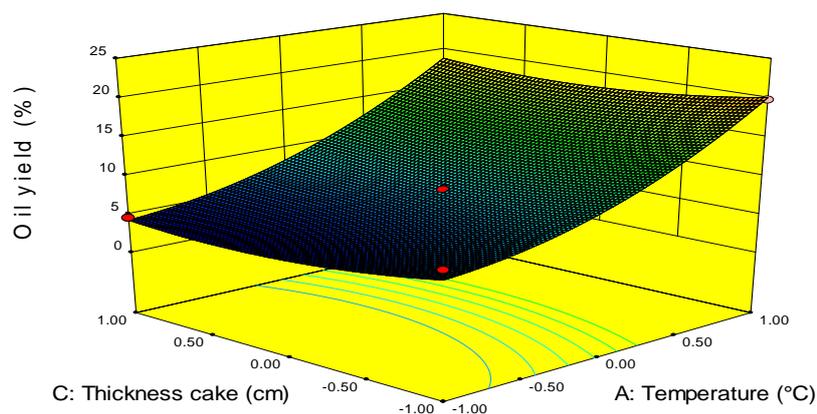
**Figure 26 :** Diagramme de la surface de réponse des effets combinés de la pression et de la température sur le rendement en huile.



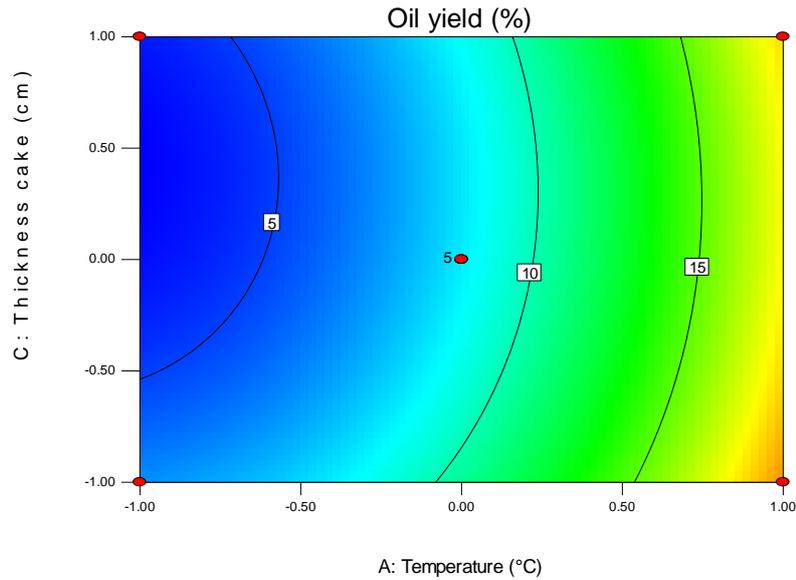
**Figure 27 :** Contour de diagramme des effets combinés de la pression et de la température sur le rendement en huile.

### 2.7.3.2. Effets combinés de la température et de l'épaisseur de l'échantillon sur le rendement en huile

La Figure 28 montre que le rendement d'huile diminue avec l'augmentation de l'épaisseur de l'échantillon. L'épaisseur de l'échantillon a un effet linéaire significatif ( $P= 0,0339$ ) mais cet effet est inversement proportionnel avec le rendement en huile, ce qui est traduit par un coefficient négatif (-0,88).



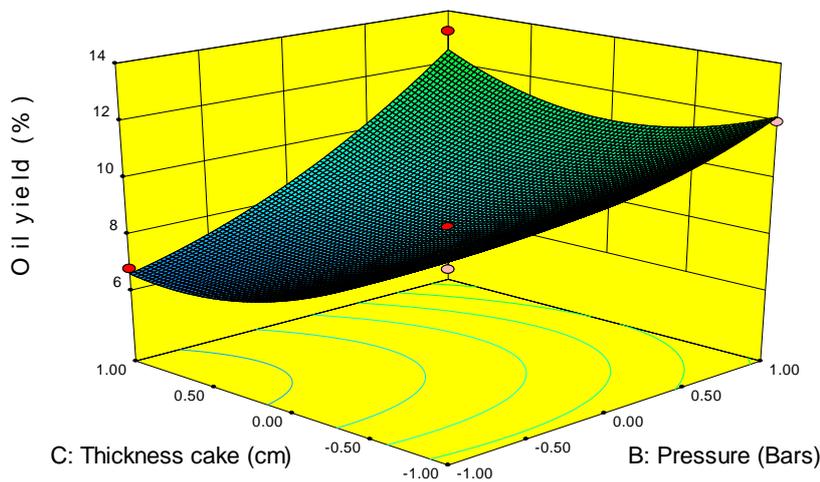
**Figure 28 :** Diagramme de la surface de réponse des effets combinés de la température et de l'épaisseur de l'échantillon sur le rendement en huile.



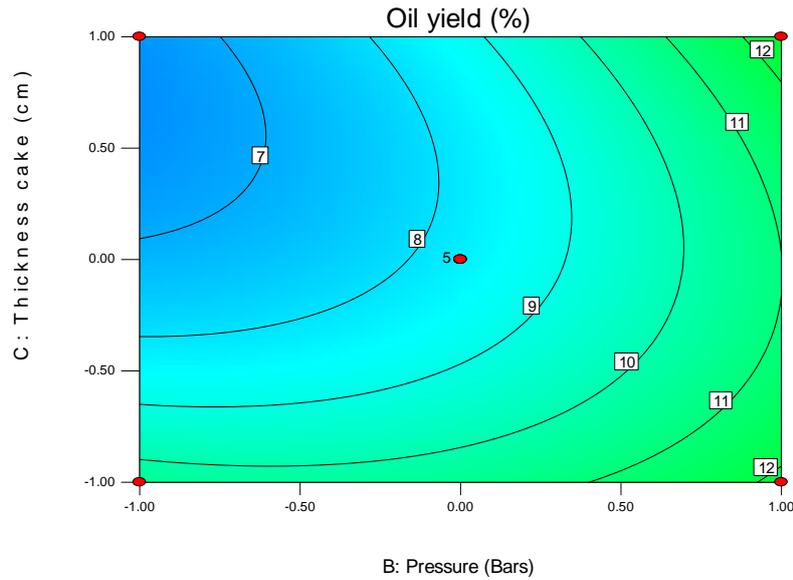
**Figure 29 :** Contour de diagramme des effets combinés de la température et de l'épaisseur de l'échantillon sur le rendement en huile.

### 2.7.3.3. Effets combinés de la pression et de l'épaisseur de l'échantillon sur le rendement en huile

La Figure 30 montre que le rendement d'huile diminue avec l'augmentation de l'épaisseur de l'échantillon pour une pression donnée.



**Figure 30 :** Diagramme de la surface de réponse des effets combinés de la pression et de l'épaisseur de l'échantillon sur le rendement en huile.



**Figure 31 :** Contour de diagramme des effets combinés de la pression et de l'épaisseur de l'échantillon sur le rendement en huile.

A partir de ces trois surfaces tridimensionnelles et leurs contours correspondants, il est évident que la température est le facteur le plus significatif affectant le rendement en huile suivi par la pression et l'épaisseur de l'échantillon. L'interaction entre la température et la pression a un effet significatif sur le rendement en huile ( $P < 0,05$ ) comparée à celle entre la pression et l'épaisseur de l'échantillon et la température et l'épaisseur de l'échantillon ( $p > 0,05$ ).

Les conditions optimales donnant le rendement maximal en huile sont :

- Température 60°C
- Pression 120 bars
- Epaisseur de l'échantillon 2,80 cm.

# *Conclusion*

## Conclusion

Les résultats de ce travail de recherche qui a porté sur l'étude des caractéristiques physicochimiques de la graine de nigelle et de l'optimisation d'extraction de son huile par pressage, nous permettent conclure ce qui suit :

L'examen microscopique des coupes histologiques des graines de nigelle révèle la présence de téguments internes et externes. Les réserves en huiles sont localisées dans les cotylédons et les téguments.

Les graines de *Nigella sativa* sont une source importante d'huile (40,3%). Les teneurs de protéines (20,69%) et en glucides (25%) leur confèrent une valeur alimentaire non négligeable. Les acides palmitique, stéarique, béhénique et arachidique, sont les acides gras saturés majeurs ayant les teneurs respectives de 12,53, 3,23 et 2,62 et 0,33%. L'acide oléique et l'acide linoléique dont les teneurs sont respectivement de 24,13% et 54,97% sont les deux principaux acides insaturés identifiés dans l'huile de graines de nigelle. La dominance de l'acide linoléique, qui est un acide gras essentiel, confère à l'huile de graines de nigelle une qualité nutritionnelle élevée.

La teneur en extrait méthanolique brut des graines de nigelle est évaluée à environ 18 % du poids total des graines. Les graines de *Nigella sativa* renferment une teneur en polyphénols totaux de 31,88 mg EAG/g d'extrait et une teneur en flavonoïdes de 18,71 mg EQ/g d'extrait. De telles teneurs confèrent aux graines de nigelle une propriété antioxydante intéressante.

Pour l'activité de piégeage du radical DPPH, les résultats ont révélé que les concentrations des extraits inférieures ou égales à 0,25 g/l présentent une faible activité antioxydante par rapport aux BHT, la vitamine E et l'acide ascorbique. L'activité de l'extrait devient similaire à celle des antioxydants de synthèse à partir de la concentration de 0,5 g/l.

Le pouvoir réducteur de l'extrait est inférieur à celui de la vitamine E et l'acide ascorbique. Néanmoins, ce pouvoir peut être comparable à celui du BHT notamment pour les concentrations de 0,75 et 1 g/l.

Les composés phénoliques identifiés par HPLC à différentes longueurs d'ondes sont au nombre de 21 : les acides gallique, syringique, 3,4,5-triméthoxy benzoïque, m-anisique, o-anisique, isovanillique, trans-cinnamique, caféique, férulique, 3-hydroxy 4-méthoxy cinnamique, 3,4,5-triméthoxy trans cinnamique, trans diméthoxy cinnamique, 2,5 diméthyl hydroxy cinnamic, la naringinine 7-glucoside, l'hesperidine, la rutine, la lutéonine, la quercétine, l'apigénine et l'isorhamnétine.

Les résultats de l'optimisation de l'extraction d'huile par la méthodologie des surfaces de réponses, indiquent que le rendement d'huile augmente avec l'augmentation de la température du pressage et de la pression, par contre il diminue avec l'augmentation de l'épaisseur de l'échantillon. Les conditions optimales donnant le rendement maximal en huile sont obtenues à une température de 60°C, une pression de 120 bars et une épaisseur de l'échantillon de 2.80 cm.

La méthodologie des surfaces de réponses a permis d'obtenir l'expression mathématique sous forme d'un polynôme de second degré reliant la réponse (rendement) aux différentes variables indépendantes (température, pression, épaisseur de l'échantillon) utilisée pour prédire les rendements en huile par pressage:

$$\text{Rendement d'huile (g/100g MS)} = + 8,29 + 7,04 * A + 1,91 * B - 0,88 * C + 1,38 * A * B + 0,21 * A * C + 1,05 * B * C + 2,77 * A^2 + 0,79 * B^2 + 1,36 * C^2$$

Pour les perspectives de recherche sur les graines *Nigella sativa* il serait intéressant de développer la culture de cette graine à grande échelle, et de mettre au point des techniques d'extraction d'huile à l'échelle semi-industrielle, en tenant compte de la préservation des propriétés pharmacologiques de graines et de leurs extraits. Il serait également intéressant de mener un travail approfondi pour étudier les possibilités d'incorporation de l'huile fixe et essentielle ainsi que l'extrait de la graine en tant qu'antioxydant naturel dans les aliments élaborés et comme additif en pharmacologie et en cosmétologie.

## Références bibliographiques

## A

1. Abbas Ali M., Abu Sayeed M., ShahinurAlam M., SarminaYeasminMst., Mohal Khan A. and Muhamad I.I., 2012 - Characteristics of oils and nutrient contents of *Nigella sativalinn.* *Andrignonellafoenum-graecumseeds.Bull. Chem. Soc. Ethiop.*,26(1): 55-64.
- 2.Aboul Ela E.I., 2002 - Cytogenetic studies on *Nigella sativa* seeds extract and thymoquinone on mouse cells infected with *schistosomiasis* using karyotyping mutation. *Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 516 (1-2): 11-17.
- 3.Abu Arabi M.K., Allawzi M.A., Al-Zoubi H.S. and Tamimi A., 2000 - Extraction of jojoba oil and leaching. *Chem. Eng. J.*, 76: 61-65.
4. Acheheb H., Aliouane R. etFerradji A., 2012 -Optimisation of oil extraction from *PistaciaatlanticaDesf.AsianJ.of.AgriculturalResearch*, 6 (2): 73-82.
- 5.Adeeko K.A. and Ajibola O.O., 1990 - Processing factors affecting yield and quality of mechanically expressed groundnut oil. *J. Agric. Eng. Res.*, 45:31-43.
6. Aggarwal B.B. and Kunnumakkara A.B., 2009 - *Molecular targets and therapeutic uses of spices: modern uses for ancient medicine.*World Scientific, 430 P.
- 7.Aitzetmuller K., Werner G. and Ivanov S.A., 1997 - Seeds oils of *Nigella* species and of closely related genera. *Fondamental*, 4: 385-388.
8. Akhtar M. and Aslam M., 1997 - Anticestodal principles of *Nigellasativa* Linn.(Kolanji) seeds.*Pak. J. Pharmacol.*, 14(2): 7-14.
- 9.Al Ali A., Alkhawajah A.A., Randhawa M.A. and Shaikh N.A., 2008 -.Oral and intraperitoneal ID50 of thymoquinone, an active principle of *Nigella sativa*, in mice and rats.*J. Ayub.Med Collab.bottabad.*, 20 (2) : 25-27.
10. Alami S., 1989 - *La phytothérapie ancestrale actuelle et d'avenir.*Thèse de Médecine, Casablanca.p.220.
11. Al Gaby A.M.A., 1998 - Amino acid composition and biological effects of supplementing broad bean and corn proteins with *Nigellasativa* (black cumin) cake protein. *Die Nahrung.* 42: 290-294.

- 
12. Al Ghamdi M.S. 2001. The anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activity of *Nigella sativa*. *Journal of Ethnopharmacology*, 76(1):45-48.
13. Alibert G., Mouloungui Z., Grison R. and Romestan M., 2001 - Oléagineux, corps gras. *Lipides*, 8: 98-102.
14. Al Jassir S.M., 1992 - Chemical composition and microflora of black cumin (*Nigella sativa* L.) seeds growing in Saudi Arabia. *Food Chemistry*, 45: 239-242.
15. Al Jishi A. and Abou Hozafa B., 2003 - Effect of *Nigella sativa* on blood hemostatic function in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 85 (1):7-14.
16. AlNaggar T.B., Gomez-Serranillos M.P., Carretero M.E. and Villar A.M., 2003 - Neuropharmacological activity of *Nigella sativa* L. extracts. *J. Ethnopharmac.*, 88 (1): 63-68.
17. AlNassimi M., 1984 - *La médecine moderne et la science du prophète*. Ed. Acharika, Damas.
18. AlSaleh I.A., Billedo G. and El-Doush I.I., 2006 - Levels of selenium, DL- $\alpha$ -tocopherol, DL- $\gamma$ -tocopherol, all-trans-retinol, thymoquinone and thymol in different brands of *Nigella sativa* seeds. *Journal of Food Composition and Analysis*. 19: 167-175.
19. Amado I.R., Franco D., Sánchez M., Zapata C. and Vázquez J.A., 2014 - Optimisation of antioxidant extraction from *Solanum tuberosum* potato peel waste by surface response methodology. *Food Chemistry*, 165: 290 - 299.
20. Ansari A.A., Osman S.M. and Subbarama M.R., 1975 - Component acids of minor seed oils. *Inter. J. Oil Technol., India*, 7(1): 26-27.
21. Atta M.B., 2003 - Some characteristics of nigella (*Nigella sativa* L.) seed cultivated in Egypt and its lipid profile. *Food Chemistry*, 83 (1):63-68.
22. Atta M.B. and Imaizumi K., 1998 - Antioxidant activity of nigella (*Nigella sativa* L.) seeds extracts. *Japan Oil Chemists' Society*, 47: 49-54.
23. Atta-Ur-Rahman M. and Zaman K., 1992 - Nigellimine: a new isoquinoline alkaloid from *Nigella sativa*. *J. Nat. Prod.*, 55: 676-678.
24. Atta-Ur-Rahman M., Cun-Heng H. and Clardy J., 1985b - Isolation and structure determination of nigellicine, a novel alkaloid from the seeds of *Nigella sativa*. *Tetrahedron letters*, 23: 2759-2762.
25. Atta-Ur-Rahman M., Ahmed S., Choudhary M. and Habib-Urrahman, 1985a - Nigellimine-N-oxide-a new isoquinoline alkaloid from the seeds of *Nigella sativa*. *Heterocycles*, 23:953 – 955.

26. Atta-Ur-Rahman M., Hassan S., Coudhary M., Ni C. and Clardy J., 1995 - Nigellidine: a new indazole alkaloid from the seeds of *Nigella sativa*. *Tetrahedron letters*, 36: 1993-1996.

---

**B**

---

27. Badary O.A., Abdel-Naim A.B.H., Abdel-Wahab M. and Hamada F.M.A., 2000 - The influence of thymoquinone on doxorubicin-induced hyperlipidemic nephropathy in rats. *Toxicology*, 143 (3): 219-226.

28. Baser K.H.C., Honda G. and Miki W., 1986 - Herb drugs and herbalists in Turkey. *Institute for the Study of Languages and Cultures of Asia and Africa*, (Vol. 27), Tokya.

29. Bellakhdar J., 1978 - *Médecine traditionnelle et toxicology ouest sahariennes. Contribution à l'étude de la pharmacopée marocaine*. Edition Techniques Nord Africaines, Rabat, 299 p.

30. Benhaddou Andaloussi A., Elimadi A., Settaf A., Cherrah Y. and Haddad P.S., 2004 - The petroleum ether extract of *Nigella sativa* exerts lipid-lowering and insulin-sensitizing actions in the rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 94 (2-3): 251 - 259.

31. Benkaci A.F., 2007 - *Etude de la composition chimique de la Nigella sativa originaire d'Algérie*. Thèse de doctorat d'état en chimie organique appliquée, U.S.T.H.B, 216 p.

32. Benkaci A.F., Baaliouamer A., Wathélet J.P. and Marlier M., 2012 - Chemical composition and physicochemical characteristics of fixed oils from Algerian *Nigella sativa* seeds. *Chemistry of Natural Compounds*, 47(6).

33. Berset C., 2006 - Antioxydants phénoliques-structure, propriétés et sources végétales. 265 - 290, in Sarni-Manchado P. et Cheynier V., 2006 - *Les polyphénols en agroalimentaire*. Ed. Lavoisier, Tec. et Doc., Paris, 398 p.

34. Bishnoi M., Chopra K. and Kulkarni S. K., 2007 - Protective effect of rutin, polyphenolic flavonoid against haloperidol-induced *orofacial dyskinesia* and associated behavioural, biochemical and neurochemical changes. *Fandam. Clinic. Pharmacol*, 75:35 - 38.

35. Bonvehi J.S., Collf V. and Rius I.A., 2000 - Liquid chromatographic determination of tocopherols and tocotrienols in vegetable oils, formulated preparations and biscuits. *J. Assoc. Off. Anal. Chem. Int.*, 83: 627-634.

36. Boudet A.M., 2000 - Lignins and lignification: selected issues. *Plant Physiol. Biochem*, 38: 81-96.

37. Boudiaf K., 2006 - *Etude des effets anti-xanthine oxydoréductase et anti-radicalaires des extraits des graines de Nigellasativa*. Thèse de magistère. Département de biologie, Université Ferhat abbas, Sétif.
38. Bourel C., Vilarem G. et Perinau F., 1993 - Etude des composés aromatiques de graines de nigelle (*Nigellasativa L.*), évaluation des propriétés antibactérienne et antifongique. *Rivista Italiana EPPOS*, 10: 21-27.
39. Bourgou S. and Bettaieb I., 2010 - Fatty acids, essential oil and phenolics modifications of black cumin fruit under NaCl stress conditions. *J. Agri. Food Chem.*
40. Bourgou S., Ksouri R., Bellila A., Skandrani I., Falleh H. and Marzouk B. 2008 - Phenolic composition and biological activities of Tunisian *Nigellasativa L.* shoots and roots. *C.R. Biol.*, 331(1): 48-55.
41. Box G.E.P., and Wilson K.B. - 1951. On the Experimental Attainment of optimum Conditions. *Journal of the Royal Statistical Society, Series B* 13(1): 1 - 38.
42. Bradley N., 2007 - The response surface methodology master of science in applied mathematics & computer science. *Indiana University of South Bend*.
43. Braithwaite A. and Smith F.J. 1995 - *Chromtgraphics methods*. Ed. Klumer Academic Publishers Dordericht. Boston, London 548 p.
44. Bravo L., 1998 - Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56: 317-333.
45. Bruneton J., 1999 - *Pharmacologie, phytochimie, plantes médicinales*. Ed. Lavoisier, Paris, 623 p.
46. Bruneton J., 2008 - *Pharmacognosie, Phytochimie, Plante médicinales*. Ed. Lavoisier, Paris, 1120 p.
47. Burits M. and Bucar F., 2000 - Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytother. Res.*, 14(5): 323-328.

## C

---

48. Canonica L., Jommi G., Scolastico C. and Bonati A., 1963 - The pharmacologically active principle in *Nigellasativa*. *GazzChim. Ital.*, 93:1404 - 1407.
49. Carter N.B. and Denke M.A., 2001- Behinic acid is a cholesterol-raising saturated fatty acid in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 73: 41 - 44.

- 
- 50.**Cheikh-Rouhou S., Besbes S., Hentati B., Blecker C., Deroanne C. and Attia H., 2006 - *Nigella sativa* L.: chemical composition and physicochemical characteristics of lipid fraction. *J. Food chem.*, 2 (22): 1-13.
- 51.**Cheikh-Rouhou S., Besbes S., Hentati B., Blecker C.,Deroanne C. and Attia H., 2007 - *Nigellasativa* L.: Chemical composition andphysicochemical characteristics of lipid fraction. *J.Food Chemistry*, 101: 673-681.
- 52.**Chen M., Zhao Y., and Yu S., 2015 - Optimisation of ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds antioxidants and anthocyanins from sugar beet molasses. *Food Chemistry*, 172: 543 - 550.
- 53.**Cheyrier V., Fulcrand H., Sarni P. et Moutounet M., 1997 - Application des techniques analytiques à l'étude des composés phénoliques et de leurs actions au cours de leur vinification. *AnalyticaScientia.Analuisis*, 25: 14 - 44.
- 54.**Chira K., Suh J.H., Saucier C. etTeissedre P.L., 2008 - Les polyphénols du raisin.*Phytothérapie*, 6:75-82.
- 55.**Chirinos R., Campos D., Costa N., Arbizu C., Pedreschi R., and Larondelle Y., 2009 - Phenolic profiles of Andean mashua (*Tropaeolumtuberosum*Ruíz and Pavón) tubers: Identification by HPLC-DAD and evaluation of their antioxidant activity. *Food chemistry*, 106 (3): 1285 - 1298.
- 56.**Cotelle N., 2001 - Role of flavonoids in oxidative stress. *Current topics in medicinal chemistry*.1: 569-590.
- 57.**Cuvelier M.E. et Maillard M.N., 2012 - Stabilité des huiles alimentaires au cours de leurstockage. *O.C.L.*, 19(2) : 125-132.
- 58.**Cuvelier C., Cabaraux J.F., Dufrasne I., Hornick J.L. etIstasse L., 2004 - Acides gras : nomenclature et sources alimentaires. *Ann. Méd. Vét.*, n. 148 : 133-140.

## D

---

- 59.**Daba M.H. and Abdel-Rahman M.S., 1998 –Hepatoprotectiveactivity of thymoquinone in isolated rat hepatocytes.*Toxicologyletters*. 95: 23-29.
- 60.**D'Antuono L.F., Moretti A. and Lovato F.S, 2002 -Seed yield, yield components, oil content and essential oil content and composition of *Nigella sativa* L. and*Nigella Damascena* L. *Industrial crops and products*, 15 : 59-69.

**61.**Delaveau P., 1987 -*Les épices, description et usage des différentes épices, aromates et condiments*. Ed. Albin Michel, 250 p.

**62.**Densiov E.T. and Afanas'ev I.B., 2005 - Oxidation and antioxidants in organic chemistry and biology.*Ed. Taylor & Francis, U.S.A., 703-861.*

**63.**Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Vidal N., Lesgards J. F.and Stocker P., 2007 - Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic compounds and their antioxidant activity. *European Food Research and Technology*, 224(6): 801-809.

---

## E

**64.**El Dakhakhny M., 1963 - Studies on the chemical constituents of Egyptian *Nigella sativa* L. seeds. The essential oil.*Planta Med*, 11: 465-470.

**65.**El Dakhakhny M., 1965 - Studies on the Egyptian *Nigella sativa* L. Some pharmacological properties of the seeds active principle in comparison to its dihydro compound and its polymer.*Arzneimittelforschun*, 15:1227-1229.

**66.**Esau K., 1965 - Plant Anatomy. *John Wiley & Sons, I.N.C., New York, London, Sydney:* 607-629.

---

## F

**67.**Fararh K.M., Atoji Y., Shimizu Y., Shiina T., Nikami H. and Takewaki T. 2004 - Mechanisms of the hypoglycaemic and immunopotentiating effects of *Nigella sativa* L. oil in streptozotocin-induced diabetic hamsters. *Res Vet Sci*, 77: 123-129.

**68.**Ferdous A.J., Islam S.N., Ahsan M., Hasan C.M. and Ahmed Z.U., 1992 - In vitro antibacterial activity of the volatile oil of *Nigella sativa* seeds against multiple drug-resistant isolates of *Shigella* spp. and isolates of *Vibrio cholerae* and *Escherichia coli*. *PhytotherapyResearch*, 6(3): 137-140.

**69.**Ferradji A., Imerzouken M., Malek N. et Boudour N., 2001 - Effet de quelques paramètres sur l'extraction d'huile des amandes d'abricot par pressage. *Annales de l'Institut National Agronomique*, 22: 49-59.

**70.**Fournier P., 2001 - *Les quatre flores de France*. Ed. Dunod, Paris, 1091 p.

---

## G

71. Gausson H., Leroy J.-F. et Ozenda P., 1982 - *Précis de botanique. Les végétaux supérieurs*. Ed. Masson, Paris, tome 2.
72. Gerhard R., 1993 - *Métabolisme des végétaux, physiologie et biochimie*. Ed. Lavoisier, Tec. et Doc, Paris, 339 p.
73. Gharby S., Harhar H., Guillaume D., Roudani A., Boulbaroud S., Ibrahim M., Ahmad M., Sultana S., Ben Hadda T., Chafchaoui-Moussaoui I. and Charrouf Z., 2013 - Chemical investigation of *Nigella sativa* L. seed oil produced in Morocco. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*. 12: 001.6 p.
74. Gilani A.H., Aziz N., Khurram I.M., Chaudhary K.S. And Iqbal A., 2001 - Bronchodilator, spasmolytic and calcium antagonist activities of *Nigella sativa* seeds 240 (Kalonji): a traditional herbal product with multiple medicinal uses. *J. Pak Med Assoc.*, 51: 115-120.
75. Godon B. et Loisel W., 1997 - *Guide pratique d'analyses dans les industries des céréales*. Ed. Lavoisier, Paris, 819 p.
76. Goreja W.G., 2003 - Black seed-nature's miracle remedy. *Amazing Herbs Press, New York*.
77. Greenish H., 1980 - Contribution to the Chemistry of *Nigella sativa*. *Pharmac. J. Trans.*, vol. 10: 22-25.

## H

78. Hadjadj N., 2008 - *Optimisation des paramètres influençant le taux d'extraction de l'huile des graines de nigelle (Nigella Sativa L.) par pressage*. Thèse de magister. Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie, El Harrach, 85p.
79. Hammonds T.W., Harris R.V. and Head S.W., 1991 - The influence of moisture content on the extraction of oil from fresh, grated coconuts. *Trop. Sci.*, 31:73-81.
80. Hanafy M. and Hatem M., 1991 - Studies on the antimicrobial activity of Black seed. *J. Ethnopharmacol.*, 34 (2/3): 275-278.
81. Harborne J.B., Baxter H. and Moss G.P., 1999 - *Phytochemical dictionary: Handbook of bioactive compounds from plants*. Ed. Taylor and Francis, London, 167 p.
82. Harzallah H.J., Kouidhi B., Flamini G., Bakhrouf A. and Mahjoub T., 2011 - Chemical composition, antimicrobial potential against cariogenic bacteria and cytotoxic activity of Tunisian *Nigella sativa* essential oil and thymoquinone. *Food Chemistry*. 129 (4): 1469-1474.

- 
- 83.**Hazzit M.A., Baaliouamer A.R., Veríssimo M.L., Faleiro and Miguel M.G., 2009 - Chemical composition and biological activities of Algerian *Thymus* oils. *Food Chem.*, 116:714-721.
- 84.**Hazzit M., Baaliouamer A. and Douar-Latreche S. 2013 - Effect of heat treatment on the chemical composition and the antioxidant activity of essential oil of *Thymus pallescens* de Noé from Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, 25 (4): 308-314
- 85.**Heim E.K., Tagliaferro A.R. and Bobilya D.J., 2002 - Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*.13: 572 - 584.
- 86.**Hendrich A.B., 2006 - Flavonoid-membrane interactions: possible consequence for biological effects of some polyphenolic compounds. *Acta pharmacologica, Sinica*. 27: 27-40.
- 87.**Hennebelle T., Sahpaz S. et Bailleul F., 2004. Polyphénols végétaux, sources, utilisation et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, (1) : 3-6.
- 88.** Hickos G.H., 1953 -.Some factors affecting the hydraulic extraction of cotton seed oil. *J. Am. Chem. Soc.*, 11: 481-486.
- 89.**Houghton P., Zarka R., De Las Heras B. and Hoult J., 1995 - Fixed oil of *Nigella sativa* and eicosanoid generation in leukocytes and membrane lipid peroxidation derived thymoquinone inhibit. *Plantamedica*, (61): 33-36.
- 90.**Hutchinson J., 1973 - *The families of flowering plants, arranged according to a new system based on their probable phylogeny*. Ed. Oxford University Press.

## J

---

- 91.**Jansen P.C.M., 1981 - Spices, condiments and medicinal plants in Ethiopia, their taxonomy and agricultural significance. *Center for Agricultural Publishing and Documentation, Addis Ababa*: 76-85.
- 92.** Javanovic S.V., Steenken S., Tosic M., Marjanovic B. And Simic M.J., 1994 - Flavonoids as antioxidants. *J. Americ. Chem. Society.*, 116: 4846-4851.
- 93.**Juliano B.O., Perez C.M. and Ard M.K., 1990 - Grain quality characteristics of export rice in selected markets. *Cereal Chem.*, 67: 192-197.

## K

---

94. Khan M., 1999 - Chemical composition and medicinal properties of *Nigella sativa* Linn. *Inflammopharmacology*, 7(1): 15-35.
95. Khan L. and Hanna M.A., 1983 - Expression oil from oilseeds. A review. *J. Agric. Eng. Res.*, 28 (6): 495-503.
96. Khattak F., Simpson T.J. and Ihasnullah, 2008 - Effect of gamma irradiation on the extraction yield, total phenolic content and free radical-scavenging activity of *Nigella sativa* seed. *Food Chemistry*, 110: 967-972.
97. King A. and Young G., 1999 - Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *J. of the Amer. Dietetic association*, 99:213-218.
98. Kiralan M., Özkan G., Bayrak A. and Ramadan M.F., 2014 - Physicochemical properties and stability of black cumin (*Nigella sativa*) seed oil as affected by different extraction methods. *Industrial crops and products*, 57: 52-58.
99. Kolahdooz M., Nasri S., Zadeh Modarres S., Kianbakht S. And Fallah Huseini H., 2014 - Effects of *Nigella sativa* L. seed oil on abnormal semen quality in infertile men: A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Phytomedicine*, 61(1): 33-36.
100. Kumara S.S.M. and Huat B.T.K., 2001 - Extraction, isolation and characterisation of antitumor principle,  $\alpha$ -Hederin, from the seeds of EM emtype. *Plantamedica*, 67(1), 29-32.

---

## L

---

101. Laisney J., 1992 - *Principes généraux de la trituration*. In *Karleskind Manuel des corps gras*. Ed. Lavoisier, Paris. 1, 787 p.
102. Lamaison J.L., et Carnet A. 1990 - Teneurs en principaux flavonoids des fleurs de *Crataegus monogyna* Jacq et de *Crataegus laevigata* (Poiret D. C) en fonction de la vegetation. *Pharm. Acta. Helv.*, 65: 315-320.
103. Lanoiselle J.L. et Bouvier J.M., 1994 - Le pressage hydraulique des oléagineux : mise au point. *Revue française des corps gras*, (3,4) : 61-72.
104. Leybros J. ; Fremeaux P., 1990. Extraction solide-liquide, aspect théorique. *Techniques de l'ingénieur J*; n: 2780;. 7-8.
105. Lin J.K. and Weng M.S., 2006 - Flavonoids as Nutraceuticals. In: *The science of flavonoids*. Grotewold, E. Eds, Springer, 217.
106. Liu R.H., 2007 - Whole grain phytochemicals and health. *J. of Cereal Science*, 46:207-219.

---

**107.**Louisot P., 1980 -Biochimie: générale et médicale / structurale, métabolique, sémiologique, *Simep, Villeurbanne*, 2:437 p.

## M

---

**108.**Macheix J.-J., Fleuriet A. et Sarni-Manchado P., 2006 - Composés phénoliques dans les plantes. Structure, biosynthèse, répartition et rôles.1-28 in Sarni-Manchado P. et Cheynier V., 2006 - *Les polyphénols en agroalimentaire*.Ed. Lavoisier, Paris, 398 p.

**109.**Mahfouz M., Abdel Maguid R. and El-Dakhkhny M., 1960 - Effectiveness of nigellone in asthma in adults.*Alexandria Medical Journal*, 6: 543-547.

**110.**Malencic D., Maksimović Z., Popović M. and Miladinović J., 2008 - Polyphenol contents and antioxidant activity of soybean seed extracts. *Bioresource technology*, 99(14) : 6688-6691.

**111.**Manach C., Scalbert A., Remesy C. et Morand C., 2006 - Consommation et biodisponibilité des polyphénols. 361-380 in Sarni-Manchado P. et Cheynier V., 2006 - *Les polyphénols en agroalimentaire*.Ed. Lavoisier, Paris, 398 p.

**112.**Manoj Nair M., Vasudevan P.andVenkitanarayanan K.M., 2005 - Antibacterial effect of black seed oil on *Listeria monocytogenes*.*Food Control*.16: 395-398.

**113.**Mariod A.A., Ibrahim R.M., Ismail M. and Ismail N., 2009 - Antioxidant activity and phenolic content of phenolic rich fractions obtained from black cumin (*Nigella sativa*) seedcake. *Food Chemistry*, 116(1): 306-312.

**114.**Matthaus B. and Özcan M.M., 2011 - Fatty acids, tocopherol and sterol contents of some *Nigella* species seed oil. *Czech J. Food Sci.*, 29(2): 145-150.

**115.**Meral I., Yener Z., Kahraman T. andMert N., 2001 - Effect of *Nigella sativa* on glucose concentration, lipid peroxidation, anti-oxidant defence system and liver damage in experimentally- induced diabetic rabbits. *J. of VeterinaryMedical Science*.48: 539-599.

**116.**Meral I., Donmez N., Baydas B., Belge F. and Kanter M., 2004 -.Effet of *Nigella sativa* L. on heart rate and some hematological values of alloxan-induced diabetic rabbits. *ScandinavianJournal of Clinical and Laboratory Investigation*, 3: (1).

**117.**Merfort I., Wray V., Barakat H., Hussein S., Nawwar M. and Willuhn G., 1997 - Flavonoid triglycerides from seeds of *Nigella sativa*.*Phytochemistry*, 46:359-363.

- 
- 118.**Meziti K.,Boudiaf B. and Bouriche H., 2012 -Polyphenolic profile and antioxidant activity of *sativa* seed extracts in vitro and in vivo.*World Academy of Science, Engineering and Technology*,64 (6) : 24-32.
- 119.**Middleton E., Kandaswami C. andTheoharidies T.C., 2000 - The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacological reviews*. 52: 673-751.
- 120.**Moghadasian M.H. andFrohlich J.J., 1999 - Effect of dietary phytosterols on cholestérol metabolism and atherosclerosis: clinical and experimental evidence. *Am.J.Med.*, 107:588-594.
- 121.**Mohamadin A.M., Sheikh B., Abd El-Aal A.A., Elberry A.A. and Al-Abbasi F.A., 2010 - Protective effects of *Nigella sativa* oil on propoxur-induced toxicity and oxidative stress in rat brain regions.*Pesticide Biochemistry and Physiology*, 98: 128-134.
- 122.**Mokkedem A., 2004 -*Guide pratique des cultures en secs de quelques plantes médicinales, condimentaires et aromatiques*.I.N.R.A.A., El Harrach, 10 p.
- 123.**Montgomery D.C., 2005 - Design and Analysis of Experiments: Response Surface Method and Designs. *John Wiley and Sons*, New York, USA.
- 124.**Mountasser A. et El Hadek M., 1999 -Optimisation des facteurs influençant l'extraction de l'huile d'argan par une presse. *O.C.L.*, 6 (3): 273-279.
- 125.**Mrema G.C. and McNulty P.B., 1985 - Mathematical model of mechanical oil expression from oilseeds.*J. Agric. Eng. Res.*, 31: 361-370.

## N

---

- 126.**Negre R., 1962 -*Petite flore des regions arides du Maroc occidental*.Ed. C.R.N.S., Paris, T.1, 238 p.
- 127.**Nergiz C. andOtlis S., 1993 - Chemical composition of *Nigella sativa* L. Seeds.*Food chemistry*, 48: 259-261.
- 128.**Norris F.A.1974 - Extraction of fats and oils. In *Bailey's Industrial oil and fat products*. *Daniel Swan*, chap.1: 637-718

## O

---

- 129.**Ostlund L., Bergman I. and Zackrisson O. 2004 - Trees for food - a 3000 year records of subarctic plant use. *Antiquity*, 78, (300): 278 – 286.
- 130.**Ozenda P., 2000 - *Les végétaux: organisation et diversité biologique*. Ed. Dunod, Paris.

---

**131.**Özkal S.G., 2009 - Response surface analysis and modeling of flaxseed oil yield in supercritical carbon dioxide. *J.Americ.OilChem. Soc.*, 86:1129-1135.

---

*P*

---

**132.**Patterson R.P., 1989 - Developmental consequences of water and temperature in European cornborer-maize interaction. *Entomologia experimentalis applicata*, 53 (3):287-296.

**133.**Pietta P.G., 2000 - Flavonoids as antioxidants. *Journal of natural products*.63: 1035-1042.

**134.**Piironen V., Lindsay D.G. andMiettinen T.A., 2000 -Plant sterols: biosynthesis, biological function and their importance to human nutrition. *J.Sci.food and agric.*, 80 (7): 939-966.

**135.**Piras A., Rosab B., Marongiua S., Porceddaa D., Falconieric M.A., Dessib B., Ozcelikd U., and Kocae A., 2013 - Chemical composition and in vitro bioactivity of the volatile and fixed oils of *Nigella sativa* L. extracted by supercritical carbon dioxide. *Industrial Crops and Products*, 46 : 317 - 323.

---

*Q*

---

**136.**Quezel P. et Santa S., 1962 - *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, t. 1.

---

*R*

---

**137.**Ramadan M.F. andMörsel J.T., 2002 – Neutral lipide classes of black cumin (*Nigella sativa*) seeds oils. *Eur.Food Res.Technol.*, 214: 202 -206.

**138.**Ramadan M.F. andMörsel J.T., 2002 -Direct isocratic normal Phase assay of fat-soluble vitamins and B-Carotene in oilseeds. *European Food Res. and Technology*, 214: 521-527.

**139.**Ramadan M.F. and Morsel J.T., 2003 - Analysis of glycolipids from black cumin (*Nigella sativa* L.), coriander (*Coriandrumsativum* L.) and niger (*Guizotiaabyssinica* Cass.) oil seeds. *Food Chem.*, 80:197-204.

**140.**Ramadan M. F., Mohamed K. and Wahdan M., 2012 - Blending of corn oil with black cumin (*Nigella sativa*) and coriander (*Coriandrum sativum*) seed oils: Impact on functionality, stability and radical scavenging activity. *Food Chemistry*, 132 (2): 873-879.

**141.**Ren W.,Qiao Z., Wang H., Zhu L., and Zhang Li. 2003 - Flavonoids: promising anti cancer agents. *Medicinal Research Reviews*, 23(4): 519 – 534.

- 142.**Rice-Evans C., 2001 - Flavonoid as antioxidants. *Current medicinal chemistry*.8: 797-807.  
Salem M.L., 2005 - Immunomodulatory and therapeutic properties of the *Nigella sativa* L. seed. *International Immunopharmacology*.5: 1749-1770.

---

## S

---

- 143.**Santoso H., Iryantoa M. and Ingrid C., 2014 - Effects of temperature, pressure, preheating time and pressing time on rubber seed oil extraction using hydraulic press. *Procedia Chemistry*. 9 : 248-256.
- 144.**Sarni-Manchado P. et Cheynier V., 2006 - *Les polyphénols en agroalimentaire*. Ed. Lavoisier.
- 145.** Schewe T. and Sies H., 2003 - Flavonoids as protectants against prooxidant enzymes. *Biologie médicale*, 34 : 243-253.
- 146.**Singh M.S., Farsaie A., Stewart L.E. and Douglass L.W., 1984 - Transaction of the ASAE. pp. 1190-1194.
- Singleton L., Rossi A. 1999 - Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol Vit.* 1965. 16: 144-158.
- 147.**Sivala K., Bhole N.G. and Mukherjee R.K., 1991 - Effect of moisture on rice bran oil expression. *J. Agric. Eng. Res.*, 50: 81-91.
- 148.**Solati Z., Sham Baharin B. and Bagheri H., 2012 - Supercritical carbon dioxide (SC-CO<sub>2</sub>) extraction of *Nigella sativa* L. oil using full factorial design. *Industrial Crops and Products*, 36: 519-523.
- 149.**Song J.H., Fujimoto K. and Miyazawa T., 2000 - Polyunsaturated (n=3) fatty acids susceptible to peroxidation are increased in plasma and tissue lipids of rats fed docosahexaenoic acid containing oils. *J. Nutr.*, 130: 3028-3033.
- 150.** Soong Y. Y. and Barlow P. J. 2006 - Quantification of gallic acid and ellagic acid from longan (*Dimocarpus longan* Lour.) seed and mango (*Mangifera indica* L.) kernel and their effects on antioxidant activity. *Food Chemistry*, 97: 524 - 530.
- 151.**Sugawara T. and Miyazawa T., 1999 - Separation and determination of glycolipids from edible plant by high-performance liquid chromatography and light-scattering detection. *Lipids*, 34: 1231-1237.

---

## T

---

---

**152.** Taskin M., Alankus-Caliskan O., Anil H., Abou-Gazar H., Akhan I. and Bedir E., 2005 – Triterpènesaponins from *Nigella sativa* L. *Turkish J. Chem.*, 29 : 561-569.

**153.** Taylor R.B., 1937 - Chem. Metall. Eng, n. 44, 1937, pp. 978-981. In Lanoiselle et Bouvier J.L. Bouvier J.M., 1994.

**154.** Teuscher E., Anton R. and Lobstein A., 2005 - *Plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles*. Ed. Lavoisier, Paris, 522 p.

**155.** Thippeswamy N.B. and Akhilender N.K., 2005 - Antioxidant potency of cumin varieties-cumin, black cumin and bitter cumin-on antioxidant systems. *European Food Research and Technology*. 220: 472- 476.

**156.** Trabelssi N., Megdiche W., Ksouri R., Falleh H., Oueslati S., Soumaya B., Hajlaoui H. and Abdelly C., 2010 - Solvent effects on phenolic contents and biological activities of the halophyte *Limoniastrum monopetalum* leaves. *LWT-Food Science and Technology*, 43(4): 632-639.

**157.** Tsao R., 2010 - Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols (review). *Nutrients*, 2: 1231-1246.

**158.** Turkmen N., Velioglu Y. S., Sari F. and Polat G., 2007 - Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea. *Molecules*, 12: 484-496.

**159.** Tutin T.G., Heywood V.H., Burges N.A., Valentine D.H., Walters S.M. and Webb D.A., 1964 - Flora europeae. *Cambridge University Press*, 1: 365 - 372.

## V

---

**160.** Ustun G., Kent L., Cekin N. and Clvelekoglu H., 1990 - Investigation of technological properties of *Nigella sativa* L. (Black Cumin) seed oil. *J. Americ. oil, Chemists soc., U.S.A.*, 67 (12): 958 – 960

## V

---

**161.** Vahdati Mashhadian N., Rakshandeh H. and Omidi A., 2005 - An investigation on LD50 and subacute hepatic toxicity of *Nigella sativa* seed extracts in mice. *Pharmazie*, 60 (7): 544-547.

**162.** Varma R.S., Shukla A. and Chatterjee R.K., 1993 - Evaluation of vanillic acid analogues as a new class of antifilarial agents. *Indian Journal of Experimental Biology*, 31: 819 - 821.

**163.**Viuda M., Mohamady M.A., Fernández-López J., AbdElRazik K.A., Omer E.A., Pérez-Alvarez J.A. and Sendra E., 2011 - In vitro antioxidant and antibacterial activities of essentials oils obtained from Egyptian aromatic plants. *Food Control*, 22(11): 1715-1722.

---

W

---

**164.**Wagner G.J. and Smephered R.W., 2004 - New approaches for studying and exploiting an old Protuberance, the plant trichone. *Annals of botany*, 93 (1): 3-11.

---

X

---

**165.**Xu X., Gaoa Y., Liua. G., Wang Q., and Zhaob J. 2007 - Optimization of supercritical carbon dioxide extraction of sea buckthorn (*Hippophaë Thamnoides* L.) oil using response surface methodology. *Food Science and Technology*, 41(7): 1223 - 1231.

---

Y

---

**166.**Ye S., Lebeau F., Wathélet J.P., Leemans V. et Destain M.F., 2007 - Etude des paramètres opératoires de pressage mécanique des amandes de *Vitellaria paradoxa* Gaertn C.F. (karité). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 11 (4): 267-273.

**167.**Ye S., Nitiéma-Yefanova S., Son G., Nébié R.H. and Bonzi-Coulibaly Y., 2012 - Optimisation des paramètres d'extraction à froid de l'huile d'*Azadirachta indica* A. Juss et effets sur quelques caractéristiques chimiques de l'huile extraite. *Base*, 16 (4): 423-428.

---

Z

---

**168.**Zaghlol D., Kamel E., Mohammed D. and Abbas N., 2012 - The possible toxic effect of different doses of *Nigella sativa* oil on the histological structure of the liver and renal cortex of adult male albino rats. *Egypt. J. Histol.*, 35 (1): 127-136.

**169.**Zainol M.K., Abd-Hamida A., Yusof S., and Musec R. 2003 - Antioxidative activity and total phenolic compounds of leaf, root and petiole of four accessions of *Centella asiatica* (L.). *Urban. Food Chemistry*, 81: 575 – 581.

**170.**Zaoui A., Cherrah Y., Alaoui K., Mahassine N., Amarouch H. and Hassar M., 2002 - Effects of *Nigella sativa* fixed oil on blood homeostasis in rat. *J. Ethnopharmacol.*, 79: 23-26.

**171.**Zhang J., Hou X., Yu T., Li Y. and Dong H., 2012 - Response surface optimization of *Nigella glandulifera* Freyn seed oil yield by supercritical carbon dioxide extraction. *J. of Integrative Agriculture*, 11(1): 151-158.

# *Annexes*

# ANNEXES

**Tableau 1:** Statistiques des importations Algériennes annuelles des graines et fruits oléagineux.

Période : Années 2006,2007 & le 1er Trimestre 2008

Produit : 12079900 Graines et fruits oleagineux ;

Origines	Année 2006		Année 2007		1er Trimestre 2008	
	Valeurs Usd	Poids Kg	Valeurs Usd	Poids Kg	Valeurs Usd	Poids Kg
EGYPTE	1 947	10 270	0	0	0	0
ETHIOPIE	44 118	29 280	394 019	490 913	0	0
CHINE	27 529	46 000	131 717	314 650	26 528	75 750
EMIRATS ARABES UNIS	40 059	32 150	0	0	0	0
INDE	14 175	31 575	115 611	152 165	122	19
IRAN	9 710	16 480	0	0	8 760	29 860
JAPON	0	0	3	85	9 498	735
PAKISTAN	0	0	0	0	3 276	5 000
SYRIE	232 628	385 600	387 423	719 110	79 266	158 800
BELGIQUE	4 746	10 500	3 912	2 250	0	0
ESPAGNE	39 963	44 025	55 057	37 375	23 233	25 030
FRANCE	0	0	24 060	256	0	0
UKRAINE	0	0	3 742	21 000	0	0
<b>TOTAL</b>	<b>414 874</b>	<b>605 880</b>	<b>1 115 545</b>	<b>1 737 804</b>	<b>150 683</b>	<b>295 194</b>

Source : Centre National de l'Informatique et des Statistiques (CNIS)

**Tableau 2** : Principaux composés et molécules isolés de *Nigella sativa*(Benhadou, 2009).

Composé	Nature	Partie de la plante	Pays	Auteurs
Alanine	AA	Graine	URSS	Kudryashova et kolobkova, 1953
β-Amyrin	Triterpène	Huile de graine	Grèce	Menounos et coll., 1986
Acide Arachidique	AG	Huile de graine	Inde	Bhakarai et coll., 1992
Acide Arachidonique	AG	Huile de graine	Inde	Bhakarai et coll., 1992
Acide Ascorbique	Vitamine	Feuille	non cité	Scheunert et coll., 1952
Acide Aspartique	AA	Graine	URSS	Kudryashova et kolobkova, 1953
5-dehydro-Avenastérol	Stéroïde	Huile de graine	Grèce	Menounos et coll., 1986
7-dehydro-Avenastérol	Stéroïde	Huile de graine	Grèce	Menounos et coll., 1986
Butyrospermol	Triterpène	Huile de graine	Grèce	Menounos et coll., 1986
Campestanol	Stéroïde	Huile de graine	Grèce	Menounos et coll., 1986
Carvacrol	Stéroïde	Huile de graine		Michelitsch et coll., 2004
Campestérol	Stéroïde	Huile de graine	Grèce	Menounos et coll., 1986
Carvone	Monoterpène	Huile essentielle	Inde	Rathee et coll., 1982
Cholestrol	Stéroïde	Huile de graine	Soudan	Salama, 1973
Citrostadienol	Triterpène	Huile de graine	Grèce	Menounos et coll., 1986
Cycloartanol	Triterpène	Huile de graine	Grèce	Menounos et coll., 1986
Cycloarténol	Triterpène	Huile de graine	Grèce	Menounos et coll., 1986
Cycloeucalénol	Triterpène	Huile de graine	Grèce	Menounos et coll., 1986
Cystine	Alcaloïde	Graine	URSS	Kudryashova et kolobkova, 1953
Damascenine	Alcaloïde	plante entière	URSS	Kudryashova et kolobkova, 1953
Méthyl-Damascenine	Alcaloïde	Graine	Égypte	El Zawahry, 1964
Dithymoquinone	Monoterpène	Huile de graine	Arabie Saoudite	Basha et coll., 1995
Dna	Alcaloïde	Racine	Inde	Banerjee et sharma, 1995
Acide Eicosadienoïque	AG	Huile de graine	Égypte	Babayen et coll., 1978
Huile Essentielles	Lipides	Graine	URSS	Juknevičienė et coll., 1977
Huile Fixes	Lipides	Graine	Pakistan	Malik et khan, 1965
Flavonoïdes		Graine		Merfort et coll., 1997
Glucose	Sucre	Graine	Inde	Tiwari, 1946
Acide Glutamique	AA	Graine	URSS	Kudryashova et kolobkova, 1953
Gramistérol	Triterpène	Huile de graine	Grèce	Menounos et coll., 1986
Hederagénine	Triterpène	Graine	Égypte	Mustafa et Soliman, 1943
Acide Indole-3-acétique	Alcaloïde	Tissu du calice	Inde	Mukherjee et coll., 1981
Leucine	AA	Graine	URSS	Kudryashova et kolobkova, 1953
Acide Linoléique	AG	Huile de graine	Inde	Ansari et coll., 1975
Acide Linoléinique	AG	Huile de graine	Égypte	Babayen et coll., 1978
Lophénol	Triterpène	Huile de graine	Grèce	Menounos et coll., 1986
24-Ethyl-Lophénol	Triterpène	Huile de graine	Grèce	Menounos et coll., 1986
24-Méthyl-Lophénol	Triterpène	Huile de graine	Grèce	Menounos et coll., 1986
Lysine	AA	Graine	URSS	Kudryashova et kolobkova, 1953
Melanthine	inconnue	Graine	Égypte	El Zawahry, 1964
Acide Myristique	AG	Huile de graine	Inde	Bhakare et coll., 1992
Nigellicine	Alcaloïde	Graine	Pakistan	Atta-ur-Rahman et coll., 1995
Nigellidine	Alcaloïde	Graine	Pakistan	Atta-ur-Rahman et coll., 1992
Nigellimine	Alcaloïde	Graine	Pakistan	Atta-ur-Rahman et coll., 1985b
Nigellimine-N-Oxide	Alcaloïde	Graine	Pakistan	Atta-ur-Rahman et coll., 1985a
Nigelline	Alcaloïde	Huile essentielle	Égypte	Mahfouz et coll., 1962

**Tableau 3 :** Sous classes des glycolipides de l'huile de graines de nigelle.

Total glycolipides (g/100 LT)	2,59					
Fractions glycolipidiques	ASG	MGD	SG	CER	DGD	SQD
Taux (g/100g GL)	9,95	7,88	9,45	11,9	55,6	5,08

(Source : Ramadan et Morsel, 2003, ND : non déterminée)

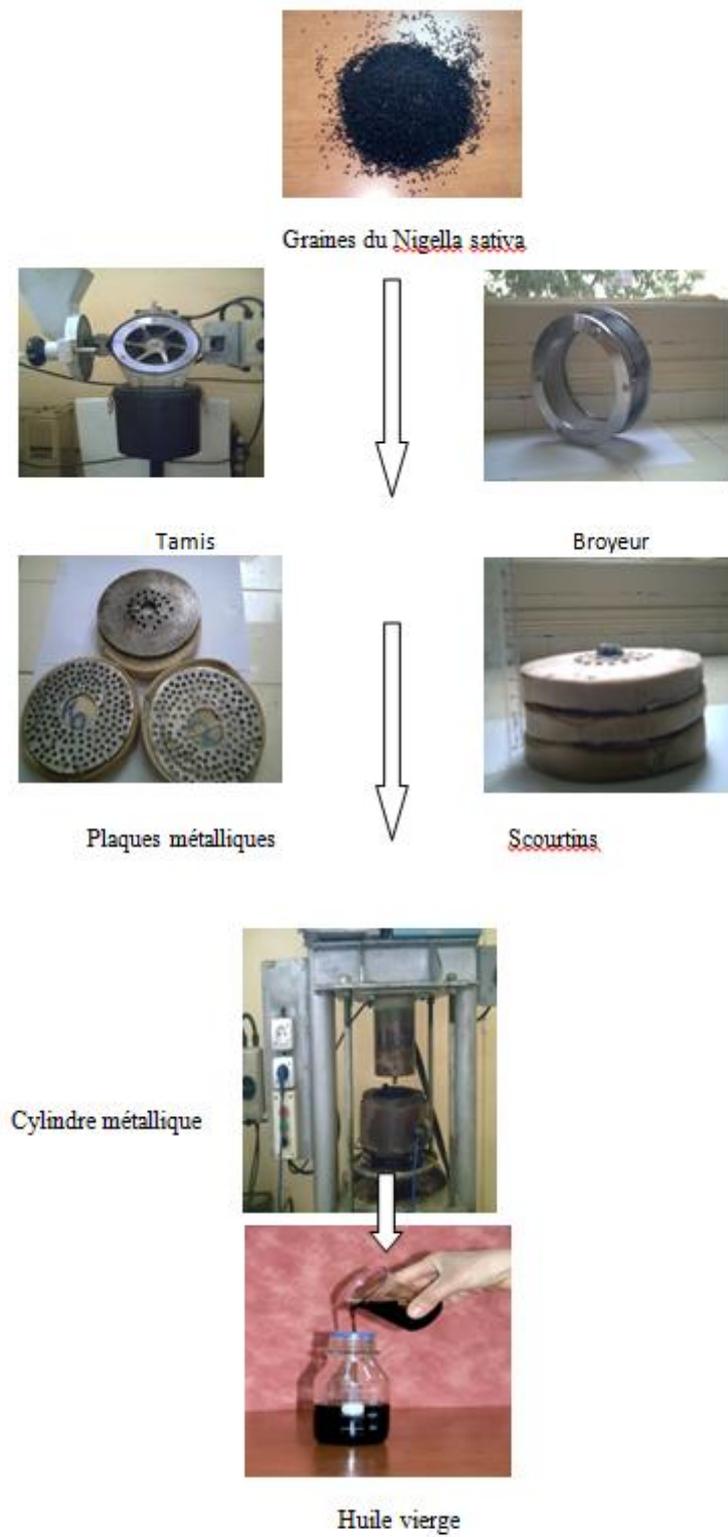
**Tableau 4 :** Acides gras des sous classes des glycolipides de l'huile de graines de nigelle.

Fractions glycolipidiques	ASG	MGD	SG	CER	DGD	SQD
<b>C16:0</b>	19.9	20.1	Nd	20.1	16.9	18.5
<b>C16 :1 <math>\omega</math>-7</b>	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
<b>C18 :0</b>	1.99	1.60	Nd	2.01	2.26	2.01
<b>C18 :1 <math>\omega</math>-9</b>	24.9	22.9	Nd	27.2	26.1	23.9
<b>C18 :2 <math>\omega</math>-6</b>	<b>50.9</b>	<b>52.7</b>	<b>Nd</b>	<b>48.5</b>	<b>51.7</b>	<b>5.8</b>
<b>C20 :1 <math>\omega</math>-9</b>	Nd	0.71	Nd	Nd	0.71	0.41
<b>C20 :2 <math>\omega</math>-6</b>	2.31	1.99	Nd	2.19	2.33	2.38

(Source : Ramadan et Morsel, 2003, ND : non déterminée)

**Tableau:5** Activité des graines de *Nigella sativa* dans la médecine traditionnelle de certains pays du bassin méditerranéen et de l'orient (**Behaddou**, 2009).

Oman	Anti-paralysie	Graines	Externe	Ghazanfar et Al-Sabahi, 1993
	Anti-congestion	Infusion	Orale	Ghazanfar et Al-Sabahi, 1993
	Antiasthmatique	Infusion	Orale	Ghazanfar et Al-Sabahi, 1993
Turquie	Douleurs	Graines	Orale	Yesilada et coll., 1995
Yémen	Antiémétique	Non cité	Orale	Fleurentin et Pelt, 1982
Ethiopie	Anti-inflammatoire	Non cité	Orale	Deschamps et coll., 1983
Iran	Aménorrhée	Graines	Orale	Zagari, 1993
	Antihelminthique	Graines	Orale	Zagari, 1993
Arabie saoudite	Digestive	Infusion	Orale	Al-Yahya, 1986
	Appétissante	Infusion	Orale	Al-Yahya, 1986
	Antipyrétique	Infusion	Orale	Al-Yahya, 1986
	Anti-diarrhée	Infusion	Orale	Al-Yahya, 1986
	Antihelminthique	Infusion	Orale	Al-Yahya, 1986



**Figure 1** : Procédé d'extraction de l'huile des graines de nigelle par pressage hydraulique.

**Tableau 6:** Rapports de l'analyse de la variance (ANOVA) du DPPH.

Source	ddl	Somme des carrés	Carrés moyens	F de Fisher	Pr > F
Modèle	12	111242,254	9270,188	45,133	< 0,0001
Résidus	107	21977,677	205,399		
Total	119	133219,931			

**Tableau 7:** Rapports de l'analyse de la variance (ANOVA) du pouvoir réducteur.

Source	ddl	Somme des carrés	Carrés moyens	F de Fisher	Pr > F
Modèle	9	96,617	10,735	31,546	< 0,0001
Résidus	74	25,183	0,340		
Total	83	121,800			

**Tableau 8:** Analysis of variance (ANOVA) for the response surface quadratic model for oil yield from *Nigella sativa* seeds using hydraulique press.

Source	Coefficients	Sum of squares	df	Mean of squares	F-value	Prob>F
Model	8.29	490.2600	9	54.470	61.36	<0.0001
A- Température	7.04	396.3500	1	396.350	446.44	<0.0001
B- Pressure	1.91	29.2600	1	29.260	32.96	0.0007
C-TMkness gâteau	-0.88	6.1400	1	6.140	6.92	0.0339
AB	1.38	7.5600	1	7.560	8.52	0.0224
AC	0.21	0.1800	1	0.180	0.20	0.6656
BC	1.05	4.4500	1	4.450	5.01	0.0601
A <sup>s</sup>	2.77	32.2800	1	32.280	36.36	0.0005
B <sup>s</sup>	0.79	2.6400	1	2.640	2.97	0.1285
C <sup>s</sup>	1.36	7.8300	1	7.830	8.82	0.0208
Residual		6.2100	7	0.890		
Lack of fit		6.2100	3	2.070		
Pure error		0.0000	4	0.000		
R <sup>s</sup>		0.9875				
Adj R <sup>s</sup>		0.9714				
Pred-R <sup>s</sup>		0.7997				
SD		0.9400				
CV%		8.8800				
Press		99.4300				

# *Résumés*

## العنوان: حبة البركة: الاستفادة المثلى لاستخلاص الزيت عن طريق الضغط ودراسة الأجزاء الدهنية والفينولية

### الملخص:

يهدف بحثنا هذا إلى تحسين الاستفادة المثلى للعوامل المؤثرة على استخلاص الزيت عن طريق الضغط باستخدام منهجية مساحة الإجابة وتحديد الخصائص الفيزيائية والكيميائية والمضادة للأكسدة للبذور والتركيب الكيميائي للزيت. **المواد والأساليب:** يتم استخراج الزيت عن طريق المذيبات و آلة الضغط الهيدروليكية. ويتحقق تحليل الأحماض الدهنية بواسطة الكروماتوغرافية الغازية CPG، أما بالنسبة للمركبات الفينولية فيواسطة الكروماتوغرافية السائلة ذات الضغط العالي (HPLC). يتم قياس قوة مضادة الأكسدة عن طريق اختبار DPPH و القوة الإرجاعية. **النتائج:** محتوى الزيت من بذور حبة البركة هو 40.3%. الأحماض الدهنية المشبعة حددت بحمض البالمتيك (12.53%)، وحمض ستيريك (3.23%)، البهينيك (2.62%) و حمض الارشديك (0.33%). أما بالنسبة للأحماض الدهنية الغير مشبعة فهي حمض الأوليك (24.13%) وحمض اللينوليك (54.97%). بلغ مجموع المحتوى البوليفينول 31.88 ملغ EAG / غرام وفيما يخص إجمالي فلافونيدات هو  $0.21 \pm 18.71$  ملغ EQ / غرام من المستخلص. العشرون مركب فينولي التي حددها HPLC هي حمض الغاليك، سينرجيك، 4،5-3-تريميثوكسي بنزويك، م-الأنيسيك، او-الأنيسيك، ازوفانيليك، ترنس سيناميك، كفيك، الفيروليك، 3-هيدروكسي-4-ميثوكسي السيناميك، 5.4.3 تريمستو ترنس سيناميك، ترنس ديميكسو، 5.2 ثنائي ميثيل هيدروكسي السيناميك، نارينجين-7 اغلوكوزيد، اسبردين، روتين، لوتين، كيرسيتين، ابيغنين وايزورحميتين. المستخلص الميثانولي من بذور حبة البركة لديه القدرة على إقتناص جذر ال DPPH انطلاقا من تركيز 0.5 غرام / لتر و قوة إرجاعية وصلت إلى 0.75 غرام / لتر. الظروف المثلى لأقصى قدر من العائد للزيت هي: درجة حرارة 60 درجة مئوية، وقوة ضغط 120 بار وبسك 2.08 سم. **الخلاصة:** أظهرت النتائج أن بذور حبة البركة لديها النشاط المضاد للأكسدة العالي بسبب إرتفاع حمض الفينول ومركبات الفلافونويد.

**كلمات المفتاح:** زيت، الحبة السوداء، استخلاص، آلة الضغط، الاستفادة المثلى، حجم الحبيبات، الحرارة، الضغط.

---

**Le titre : *Nigella sativa* : optimisation de l'extraction d'huile par pressage et étude des fractions lipidique et phénolique****Résumé :**

L'objectif de notre travail de recherche est d'étudier l'optimisation des paramètres influençant l'extraction de l'huile par pressage en utilisant la méthodologie de surface de réponse, et de déterminer les propriétés physico-chimiques et antioxydantes des graines et la composition chimique de l'huile. **Matériel et méthodes** : l'extraction d'huile est effectuée par solvant, et presse hydraulique. L'analyse des acides gras est réalisée par la CPG, et celle des composés phénoliques par HPLC. Le pouvoir antioxydant est évalué par les tests de DPPH et du pouvoir réducteur. **Résultats**: la teneur en huile des graines de nigelle est de 40,3%. Les acides gras saturés identifiés sont les acides *palmitique* (12,53%), *stéarique* (3,23%), *béhénique* (2,62%), et *arachidique* (0,33%). et les acides gras insaturés sont les *acides oléique* (24,13%) et *linoléique* (54,97%). La teneur en polyphénols totaux est de 31,88 mg EAG/g et celle de flavonoïdes totaux est de  $18,71 \pm 0,21$  mg EQ/g d'extrait. Les 20 composés phénoliques identifiés par HPLC sont les *acides gallique, syringique, 3.4.5-triméthoxy benzoïque, m-anisique, o-anisique, isovanillique, trans-cinnamique, caféique, férulique, 3-hydroxy 4-méthoxy cinnamique, 3.4.5-triméthoxy trans cinnamique, trans diméthoxy cinnamique, 2.5 diméthyl hydroxy cinnamic, la naringinine 7-aglucoside, l'hespéridine, la rutine, la lutéonine, la quercétine, l'apigénine et l'isorhamnétine*. L'extrait méthanolique des graines de nigelle a la capacité de piéger le radical DPPH à partir d'une concentration de 0,5 g/l et un pouvoir réducteur à 0,75g/l. Les conditions optimales pour un rendement maximal en huile sont : une température de 60°C, une pression de 120 bars et une épaisseur de 2,08 cm. **Conclusion** : les résultats obtenus montrent que les graines de nigelle ont une activité antioxydante importante due à sa richesse en acides phénoliques et en flavonoïdes.

**Mots clés** : Huile, graine de nigelle, extraction, pressage hydraulique, optimisation, granulométrie, pression, température.

---

**The title: *Nigella sativa*: optimization of the extraction of oil by pressing and study of lipid and phenolic fractions****Summary:**

Our research work aims to study the optimization of parameters influencing pressing for oil extraction using the response surface methodology and determine the physicochemical and antioxidant properties of seeds and the chemical composition of oil. Material and methods: oil extraction is carried out by solvent and hydraulic press. The analysis of fatty acids is achieved by GPC, and the phenolic compounds by HPLC. The antioxidant power is measured by the DPPH test and reducing power. Results: The oil content of *Nigella* seeds is 40.3%. Identified saturated fatty acids are palmitic acid (12.53%), stearic acid (3.23%), behenic (2.62%) and arachidic (0.33%). and unsaturated fatty acids are oleic acids (24.13%) and linoleic acid (54.97%). The total polyphenol content was 31.88 mg EAG / g and that of total flavonoids is 18.71 ± 0.21 mg EQ / g of extract. 20 phenolic compounds identified by HPLC are gallic acid, syringic, 3,4,5-trimethoxy benzoic, m-anisic, o-anisic, isovanillic, trans cinnamic, caffeic, ferulic, 3-hydroxy-4-methoxy cinnamic, 3,4,5-trimethoxy trans cinnamic, trans-dimethoxy cinnamic, 2,5-dimethyl hydroxy cinnamic, the Naringenin-7 aglycoside, the hesperidine, rutin, lutein, quercetin, apigenin, and isorhamnetin. The methanol extract of *Nigella* seeds has the ability to trap the DPPH radical from a concentration of 0.5 g/l and reducing power to 0.75g/l. The optimum conditions for maximum oil yield are: a temperature of 60 ° C, a pressure of 120 bars and a thickness of 2.08 cm. Conclusion: The results showed that black cumin seeds have a high antioxidant activity due to its high phenolic acid and flavonoids.

**Key words:** Oil, *Nigella* seeds, extraction, hydraulic pressing, optimization, granulometry, pressure, temperature.

# *Publication*