



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة أبو بكر بلقايد – تلمسان

Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMEN

كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et des Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de biologie

## MÉMOIRE

Présenté par

**BOUKHIAR Hadjer**

**CHEMLOUL Asma**

En vue de l'obtention du Diplôme de MASTER

En Sciences biologiques

Option :

BioActivités, Analyse et Contrôle des Huiles Essentielles et Végétales

Thème

**Etude comparative de la variation des activités biologiques des composés bioactifs des graines de *Nigella sativa* : huiles végétales et extrait.**

Soutenu le 2/ 10 /2025, devant le jury composé de :

Présidente Mme BELYAGOUBI-BENHAMMOU Nabila professeur Université de Tlemcen

Examineur Mr. BELYAGOUBI Elarbi professeur Université de Tlemcen

Encadrante, Mme CHEKROUN-BECHLAGHEM Nadjat, MCB, LAPRONA, Université de Tlemcen

Année universitaire : 2024/2025

## **REMERCIEMENTS**

Avant tout, nous exprimons notre profonde gratitude à **Dieu**, le Tout-Puissant, pour nous avoir accordé la santé, la force, la patience et la foi nécessaires à l'accomplissement de ce travail. Nous lui rendons grâce de nous avoir guidé à travers les moments de doute et de fatigue. Nous nous remercions également d'avoir persévéré malgré les obstacles rencontrés, d'avoir cru en ce projet jusqu'au bout et d'avoir su puiser en nous la force, la volonté et la détermination nécessaires pour le mener à bien.

Nous remercions sincèrement toutes les personnes qui ont contribué à la réussite de notre travail et à l'élaboration de ce mémoire. Nous exprimons tout particulièrement notre gratitude à notre encadrante, **Mme CHEKROUN-BECHLAGHEM Nadjat**, pour sa patience, sa disponibilité et la pertinence de ses conseils, qui ont grandement nourri notre réflexion.

Merci à notre responsable de formation, **Mme BELYAGOUBI-BENHAMMOU Nabila**, pour son professionnalisme et son accompagnement tout au long de la formation.

Nous remercions sincèrement les membres du jury Présidente **Mme BELYAGOUBI-BENHAMMOU Nabila**, Examineur **Mr. BELYAGOUBI Elarbi**, Encadrante, **Mme CHEKROUN-BECHLAGHEM Nadjat** pour l'évaluation de notre travail, ainsi que pour leurs remarques enrichissantes et leur disponibilité.

Nous remercions sincèrement toute l'équipe pédagogique de l'Université Aboubekr Belkaïd de Tlemcen, ainsi que l'ensemble des intervenants professionnels, pour la qualité des enseignements et l'accompagnement offerts tout au long de notre parcours.

Nous tenons à exprimer notre reconnaissance particulière à notre professeur, **M. BELYAGOUBI Larbi**, pour son aide précieuse, son engagement constant et sa bienveillance, ainsi qu'à **M. Habi Salim**, pour son accompagnement, sa disponibilité et son soutien tout au long de notre travail.

Nos remerciements vont également à **M. CHAUCHE-M Tarik** et à **Mme BEKKARA-SELADJI Meryem** et à **Mme BENAMA-DIB Hanane**. C'est un honneur de pouvoir bénéficier de vos précieux conseils.

Nous remercions enfin les laboratoires de recherche de faculté des sciences biologiques de l'Université de Tlemcen.

# *Dédicace*

Je dédie ce travail à mes parents, **CHEMLOUL Otmane** et **KAÏD SLIMANE Latifa**, piliers de ma vie, pour leur amour inconditionnel et leurs sacrifices sans fin.

À mes frères, **ABDELILLAH** et **ILYES** la lumière de mes yeux et mon soutien indéfectible.

À mon binôme **HADJER**, pour sa complicité et les souvenirs partagés tout au long de ce parcours.

Et à toutes les personnes qui ont été à nos côtés, de près ou de loin : merci du fond du cœur.

**ASMA**

Je dédie ce travail à mes parents, **BOUGUIMA Naima** et **BOUKHIAR Brahim**, qui m'ont soutenue avec amour, patience et courage tout au long de ces 17 années de parcours. Leur présence et leurs sacrifices ont été la clé de ma réussite.

Je dédie également ce travail à mes sœurs **IKRAM**, **ASMA**, **HIND**, **INES** et **ANFEL**, Ainsi qu'à mes frères, **ISLAM** et **ABDELALI**, pour leur affection, leurs encouragements et leur présence constante. Leur soutien a été une source précieuse de motivation tout au long de mon parcours.

Une pensée toute particulière à mes petites princesses, **KAMAR** et **INSAF**, qui illuminent ma vie de leur innocence. Cette réussite est aussi pour vous.

À mon binôme **ASMA**, avec qui j'ai partagé cette belle aventure. Merci pour ta collaboration, ton soutien et ta complicité tout au long de ce travail. Cette réussite est aussi la tienne.

Et à toutes les personnes qui ont été à nos côtés, de près ou de loin, pour leurs encouragements, leur bienveillance et leur présence tout au long de ce parcours.

**HADJER**

## الملخص

تُعدّ النباتات مصادر طبيعية غنية بالعناصر الغذائية والمركبات الفعالة بيولوجياً ذات تطبيقات متعددة وفوائد صحية عديدة. ومن بينها، تحظى الحبة السوداء باهتمام خاص نظراً لغناها بالمركبات النشطة المعروفة بخصائصها المضادة للأكسدة والالتهابات والميكروبات. وفي هذا السياق، ركّز عملنا على دراسة مقارنة للخصائص الفيزيائية-الكيميائية، والقدرات المضادة للأكسدة، والأنشطة المضادة للميكروبات لمستخلص الحبة السوداء بالموجات فوق الصوتية وزيتها المستخلص بطرق مختلفة، بهدف تبيين إمكاناته كمكوّن طبيعي فعّال.

أظهرت الدراسة المقارنة لثلاث طرق استخلاص (سوكسلي، العصر على البارد، والموجات فوق الصوتية) لبذور الحبة السوداء أن أعلى مردود تحقق بطريقة سوكسلي (33.74%)، تلتها طريقة العصر على البارد (16%)، بينما أعطت الموجات فوق الصوتية أقل مردود (4.49%). وعلى الصعيد الحيوي، تميّز المستخلص بالموجات فوق الصوتية، رغم كميته الضئيلة، بغناه بالبوليفينولات ونشاطه القوي المضاد للأكسدة ( $IC_{50}$  19.14 ملغ/مل، اختبار DPPH). أما من الناحية الفيزيائية-الكيميائية (مؤشر الحموضة، التصبن، البيروكسيد، واليود)، فقد تبين أن زيت العصر على البارد هو الأفضل جودة، إذ سجّل نسبة حموضة منخفضة (5.93%) ومعامل انكسار مرتفع (1.435 عند 25 °م)، مما يعكس ثباتاً أفضل وحفظاً أمثل لخصائصه الكيميائية. أما التحليل الميكروبيولوجي فقد أظهر فعالية أوضح للعصر على البارد ضد البكتيريا موجبة الغرام، خاصة (*Staphylococcus aureus* منطقة تثبيط 21 مم)، بينما أبدت طريقتا سوكسلي والموجات فوق الصوتية تأثيرات موجّهة أكثر نحو بعض السلالات غرام سالب. تُبرز هذه النتائج أهمية اختيار طريقة الاستخراج لتحقيق قيمة أفضل.

**الكلمات المفتاحية:** الزيوت النباتية، الحبة السوداء، طرق الاستخلاص، النشاط المضاد للأكسدة، الخصائص الفيزيائية-الكيميائية، النشاط المضاد للميكروبات.

## **Résumé**

Les plantes sont des sources naturelles de nutriments et de composés bioactifs aux multiples applications bénéfiques. Parmi elles, la *Nigella sativa*, ou graine noire, attire une attention particulière en raison de sa richesse en composés bioactifs, reconnu pour ses effets antioxydants, anti-inflammatoires et antimicrobiens. Dans ce contexte, notre travail s'est intéressé à l'étude comparative des propriétés physicochimiques, antioxydantes et antimicrobiennes de l'extrait ultrasonique et de l'huile de *N. sativa* extraite par différentes méthodes, dans le but de valoriser son potentiel en tant qu'ingrédient naturel bioactif.

L'étude comparative de trois méthodes d'extraction (Soxhlet, pression à froid, ultrasons) des graines de *Nigella sativa* a montré que le rendement le plus élevé est obtenu par Soxhlet (33,74 %), suivi de la pression à froid (16 %), tandis que l'extraction ultrasons présentent le rendement le plus faible (4,49 %). Sur le plan bioactif, l'extrait ultrasonique, malgré sa faible quantité, se distingue par une meilleure richesse en polyphénols et une forte activité antioxydante (IC<sub>50</sub> de 19,14 mg/ml, test DPPH). Concernant les caractéristiques physicochimiques (IA, IS, IP, II), l'huile extraite à froid se révèle de meilleure qualité, avec une acidité plus faible (5,93 %) et un indice de réfraction plus élevé (1,435 à 25 °C), traduisant une meilleure stabilité et conservation des propriétés chimiques. Sur le plan microbiologique, l'huile obtenue par pression à froid est la plus efficace contre les bactéries Gram positives, notamment *Staphylococcus aureus* (zone d'inhibition de 21 mm), tandis que celle obtenue par Soxhlet et l'extrait ultrasonique montrent des effets plus ciblés sur certaines souches Gram négatives. Ces résultats mettent en évidence l'importance du choix de la méthode d'extraction pour une meilleure valorisation.

**Mots-clés :** Huiles végétales, *Nigella sativa*, méthodes d'extraction, activité antioxydante, propriétés physico-chimiques, activité antimicrobienne.

## ***Abstract***

Plants are natural sources of nutrients and bioactive compounds with multiple beneficial applications. Among them, *Nigella sativa*, or black seed, has attracted particular attention due to its richness in bioactive compounds, recognized for their antioxidant, anti-inflammatory, and antimicrobial effects. In this context, our work focused on the comparative study of the physicochemical, antioxidant, and antimicrobial properties of the ultrasonic extract and the oil of *N. sativa* obtained by different extraction methods, with the aim of valorizing its potential as a natural bioactive ingredient.

The comparative study of three extraction methods (Soxhlet, cold pressing, and ultrasound) of *Nigella sativa* seeds showed that the highest yield was obtained by Soxhlet extraction (33.74%), followed by cold pressing (16%), while ultrasound gave the lowest yield (4.49%). From a bioactive perspective, the ultrasonic extract, despite its low yield, exhibited higher polyphenol content and strong antioxidant activity (IC<sub>50</sub> of 19.14 mg/mL, DPPH test). Regarding physicochemical characteristics (AI, SI, PI, II), the cold-pressed oil proved to be of better quality, with lower acidity (5.93%) and a higher refractive index (1.435 at 25 °C), indicating better stability and optimal preservation of its chemical properties. Microbiological analysis showed that cold pressing was the most effective against Gram-positive bacteria, particularly *Staphylococcus aureus* (inhibition zone of 21 mm), while Soxhlet and ultrasound showed more targeted effects against certain Gram-negative strains. These results highlight the importance of choice of extraction method for better valorisation.

**Keywords :** Vegetable oils, *Nigella sativa*, extraction methods, antioxidant activity, physicochemical properties, antimicrobial activity.

## Tables des Matières

*Remerciements*

*Dédicace*

*Résumé*

*Tables des matières*

*Liste des abréviations*

*Liste des figures*

*Liste des tableaux*

<i>Introduction</i> .....	0
<b>Partie I : Synthèse Bibliographique</b> .....	1
1-Généralités .....	2
2-Définition .....	4
3. Distribution géographique .....	4
4. Classification botanique de <i>Nigella sativa</i> .....	5
5-Description botanique .....	6
6-Obtention de l'huile de <i>Nigella sativa</i> .....	6
7- Composition chimique des graines et de l'huile de <i>Nigella sativa</i> .....	6
8. Propriétés Biologiques et Pharmacologiques des graines et de l'huile de <i>Nigella sativa</i> .....	7
9. Travaux antérieurs .....	8
10. Sécurité et Toxicité .....	8
<b>Partie II : Matériels et Méthodes</b> .....	9
1. Extraction .....	10
2. Extraction des composés phénoliques de l'huile et de l'extrait .....	12
3. les indices physicochimiques .....	14
4. Activités biologiques .....	20
<b>Partie III : Résultats et discussion</b> .....	23

<i>Conclusion et perspectives</i> .....	35
<i>Références Bibliographiques</i> .....	36
<i>Annexes</i> .....	45

## Liste des abréviations

**CI50** : concentration inhibitrice à 50 %

**°C** : degrés Celsius

**DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

**DMSO** : diméthylsulfoxyde

**EAG/g** : Équivalent d'Activité Antioxydante par gramme

**G/cm<sup>3</sup>** : Grammes par centimètre cube

**HCl** : Acide chlorhydrique

**ISO** : Organisation Internationale de Normalisation

**KOH** : Hydroxyde de potassium

**MH** : Mueller-Hinton

**M/v (mg)** : Masse/volume en milligrammes

**MDR** : Multi-Drug (Resistantrésistantes à plusieurs antibiotiques)

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** : Carbonate de sodium

**N.S** : Nigella Sativa

**Tr/min** : Tours par minute

**V/v** : Volume/volume

## Liste des figures

Figure 1: Différentes espèces de Nigelle : N. damascena, N. sativa L. (Bonnier & Douin., 1993) .....	05
Figure 2: les emplacements actuels de la distribution de la culture de N. Sativa.....	06
Figure 3 : plante de N. sativa .....	08
Figure 4 : graines de N. sativa .....	08
Figure 5 : Thymoquinone.....	09
Figure 6 : Extraction par Pression à froid.....	13
Figure 7 : Extraction par Soxhlet.....	14
Figure 8 : Extraction assistée par ultrasons.....	15
Figure 9 : Extraction des polyphénols.....	16
Figure 10 : Dosage des composés phénoliques totaux.....	17
Figure 11 : Indice d'Acide (IA).....	19
Figure 12 : Indice de saponification (IS).....	20
Figure 13 : Indice de Peroxyde (IP).....	21
Figure 14 : Indice d'Iode (II).....	22
Figure 15 : un réfractomètre d'Abbe.....	22
Figure 16 : l'activité antioxydante.....	25
Figure 17 : L'activité antimicrobienne.....	26
Figure 18 : Diagramme des rendements d'extraction par méthode.....	28
Figure 19 : Comparaison des valeurs de IC <sub>50</sub> (mg/ml) des extraits d'huile de N.sativa selon trois méthodes d'extraction (pression à froid, Soxhlet et ultrasons)...	33

## Liste des tableaux

Tableau 1: Classification de N.sativa. ....	5
Tableau 2: Indices physico-chimiques des huiles végétales .....	14
Tableau 3: Teneur des polyphénols totaux .....	25
Tableau 4: Comparaison des indices physico-chimiques de l'huile de N. sativa .....	27
Tableau 5: Souches bactériennes utilisées, leurs références et résultats de l'activité antimicrobienne.....	32

---

# *Introduction*

---

## Introduction

---

Bien que de nombreux médicaments synthétiques soient disponibles pour le traitement de diverses pathologies, leur utilisation est souvent associée à des effets indésirables notables. Cette problématique a conduit la communauté scientifique à s'intéresser aux plantes médicinales en tant qu'alternatives thérapeutiques naturelles. Parmi celles-ci, *Nigella* occupe une place importante en raison de son usage ancestral en médecine traditionnelle. Cette plante est reconnue pour ses propriétés anti-inflammatoires et curatives, attribuées à la richesse en métabolites secondaires présents dans ses différentes parties. **(Belhachemi *et al.*, 2024).**

De nombreuses recherches pharmacologiques récentes s'attachent à valider scientifiquement les propriétés thérapeutiques des métabolites secondaires issus des plantes médicinales, tout en cherchant à isoler leurs principes actifs naturels. Parmi ces plantes, *Nigella sativa* (graines) a fait l'objet de nombreuses études *in vitro* et *in vivo*, qui ont permis de mettre en évidence une large gamme d'activités biologiques : anti-inflammatoires, antioxydantes et antimicrobiennes. Ces résultats confirment son potentiel thérapeutique, en particulier dans le domaine de la dermo-cosmétique, où elle est largement utilisée sous forme d'huiles essentielles et végétales pour le soin et la réparation cutanée. Des travaux récents, comme ceux de **(Al-Asmari *et al.*, 2022)**. Soulignent que ces effets bénéfiques sont principalement liés à la richesse en composés bioactifs lipophiles présents dans les extraits, tels que la thymoquinone.

Ce mémoire a pour objectif de comparer les variations des activités biologiques, notamment antioxydantes et antimicrobiennes, des composés bioactifs issus des graines de *Nigella sativa*, en fonction de deux sortes d'extraction : l'huile végétale et l'extrait. Cette étude vise à montrer l'efficacité du choix de la technique d'extraction pour augmenter le potentiel bioactif de cette plante, dans une optique de valorisation scientifique en vue d'applications innovantes dans les domaines médical et cosmétique.

Ce travail comprend trois parties : la synthèse bibliographique, les matériels et méthodes, les résultats et discussion, et enfin une conclusion.

---

# **Partie I : Synthèse Bibliographique**

---

## 1- Généralités

### 1.1. Définition d'une plante médicinale

Une plante médicinale, selon la pharmacopée française, est une drogue végétale reconnue par la pharmacopée européenne, dont au moins une partie possède des propriétés thérapeutiques. Une drogue végétale correspond à une plante ou à l'une de ses parties, utilisée soit fraîche, soit le plus souvent sous forme séchée. Le terme « drogue végétale », ou plus simplement « drogue », désigne ainsi une matière première naturelle employée dans la fabrication des médicaments (Mohammedi, 2013).

### 1.2. Définition de la phytothérapie

La phytothérapie est une discipline médicale qui repose sur l'utilisation des plantes, ou uniquement de leurs parties actives, pour leurs propriétés thérapeutiques. Ces plantes sont appelées plantes médicinales.

Les préparations peuvent être obtenues par divers procédés tels que la macération, l'infusion, la décoction, ainsi que sous forme de teinture, de poudre totale ou d'extraits. Les plantes médicinales peuvent être issues de cultures, mais elles proviennent le plus souvent d'espèces sauvages (Mohammedi, 2013).

### 1.3. Historique et utilisations traditionnelles

#### 1.3.1. *Nigella sativa*

*Nigella sativa*, également appelée nigelle ou cumin noir, est une plante médicinale utilisée depuis plus de 3 000 ans. Elle est originaire des régions arides du Moyen-Orient, d'Asie de l'Ouest et du bassin méditerranéen, avec une présence marquée dans l'histoire médicinale de l'Égypte, de la Mésopotamie, de la Grèce, de l'Inde, et dans la tradition islamique. Elle occupe une place importante dans plusieurs médecines traditionnelles telles que l'ayurvéda, la médecine grecque (Unani) et la médecine prophétique. Cette dernière la valorise particulièrement, comme en témoigne la célèbre parole du Prophète Mohammed (ﷺ) : « La graine noire est un remède contre toutes les maladies, sauf la mort. »

Traditionnellement, l'huile extraite de ses graines était utilisée en application locale pour soulager les maladies de la peau telles que l'eczéma et le psoriasis, mais aussi pour améliorer la digestion et renforcer les défenses immunitaires. Ces effets sont en grande partie attribués à la thymoquinone, son composé actif principal, dont les propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes ont été confirmées par des études récentes, notamment dans le domaine dermatologique (Ali *et al.*, 2020).



Figure 3: Différentes espèces de Nigelle : *N. damascena*, *N. sativa* L. (Bonnier & Douin., 1993).

*Nigella sativa*

## 2-Définition

*Nigella sativa* (famille des Renonculacées) est une plante médicinale utilisée dans le monde entier. Ses graines et son huile ont une longue histoire d'usage traditionnel dans de nombreux systèmes alimentaires et médicaux. Des recherches approfondies ont mis en évidence un large éventail d'activités pharmacologiques, notamment antidiabétiques, anticancéreuses, immunomodulatrices, antimicrobiennes et anti-inflammatoires. (Rasheed et al., 2024).

## 3. Distribution géographique

La nigelle (*N. Sativa*), originaire d'Asie de l'Ouest et d'Afrique du Nord, est cultivée principalement dans ces régions ainsi qu'en Europe et en Amérique du Nord. Les principaux producteurs sont les États-Unis, l'Inde, l'Iran et l'Égypte. Elle préfère les climats méditerranéens et les sols bien drainés, et ses graines sont utilisées mondialement à des fins alimentaires et thérapeutiques (Parakh et al., 2012).



**Figure 4: les emplacements actuels de la distribution de la culture de *N. Sativa***

## 4-Classification Botanique de *Nigelle sativa*

*N. sativa* appartient à l'embranchement des Spermatophytes et à la famille des Renonculacées. Cette dernière est l'une des plus importantes parmi les angiospermes, regroupant entre 40 et 50 genres et environ 1500 à 2000 espèces. (Abdesselam., 2015).

- La classification botanique de *N. sativa*, établie par (Hossain et al., 2021), est présentée dans le tableau suivant :

**Tableau 1: Classification de *N.sativa* selon (Hossain et al., 2021).**

Règne	Plante
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Renonculales
Famille	Renonculaceae
Genre	Nigelle
Espèce	Nigelle sativa

## 5. Description botanique

*N. sativa* est une plante herbacée annuelle appartenant à la famille des Ranunculaceae. Elle se caractérise par une tige dressée, côtelée, anguleuse et ramifiée, pouvant atteindre une hauteur de 30 à 70 cm, avec un diamètre variant entre 0,65 et 0,98 cm. Ses feuilles sont disposées de manière alterne, mesurant entre 2,5 et 5,0 cm de long et 2,0 à 2,5 cm de large. Elles présentent une forme allant de linéaire à lancéolée, une phyllotaxie de 1 à 2, et comportent généralement 5 à 6 divisions foliaires (pinna/rachis). La plante possède une racine pivotante, dont la longueur varie entre 12,74 et 15 cm. Les fleurs, de teintes variables (rose, blanche, jaune, bleu pâle ou violet pâle), mesurent en moyenne 2,74 cm de long sur 2,78 cm de large, et sont constituées de 5 à 10 pétales et de 4 à 6 sépales. Les fruits sont des capsules mesurant entre 0,4 et 1,7 cm, contenant en moyenne  $59 \pm 3,2$  graines noires, de forme aiguë, tétrangulaire, ovée et légèrement effilée à l'extrémité. Chaque graine mesure environ  $2,33 \pm 0,1$  mm de long sur  $1,14 \pm 0,02$  mm de large. La période de floraison et de fructification s'étend généralement de janvier à avril. (Hossain et al.,2021).



**Figure 3 : Plante de *N. sativa* (Mehdiyeva et al., 2016)**



**Figure 4 : graines de *N. sativa* (Mezhoud., 2024)**

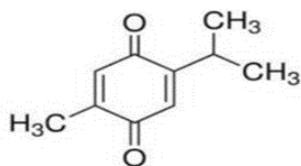
## 6-Obtention de l'huile de *Nigelle sativa*

L'huile de *N. sativa*, reconnue pour ses vertus thérapeutiques, est obtenue à partir des graines dont la qualité dépend de plusieurs facteurs environnementaux tels que le sol, le climat, l'altitude et les techniques culturales, ainsi que des conditions de récolte, notamment la maturité et le tri des graines. Afin de préserver ses propriétés, il est recommandé de la stocker à l'abri de l'air, de la lumière et de la chaleur, de préférence dans des contenants en verre teinté (Gueffai., 2024).

## 7- Composition chimique des graines et de l'huile de *Nigelle sativa*

Les graines de *Nigelle sativa* renferment une grande diversité de composés bioactifs, incluant des huiles volatiles et non volatiles, protéines, glucides, minéraux (fer, calcium, magnésium, potassium, zinc, cuivre), ainsi que les vitamines A et C. Elles contiennent également divers composés phytochimiques tels que des stérols ( $\beta$ -sitostérol, campestérol...), des saponines, phénols, alcaloïdes, acides gras (linoléique, oléique, stéarique...) et lipides. Cette composition lui confère des propriétés thérapeutiques variées : antioxydante, anti-inflammatoire, antimicrobienne et plus encore (Alberts et al., 2024).

- ✓ La *N. sativa* contient plusieurs composés bioactifs essentiels, dont la thymoquinone (TQ), un monoterpène hydrophobe aux nombreuses vertus thérapeutiques. (Alberts et al., 2024).



**Figure 5 : Thymoquinone**

Les graines de *Nigella sativa* contiennent entre 26,6 % et 38 % d'huile fixe, principalement constituée de triglycérides riches en acides gras. L'acide linoléique (LA, C18 :2) y est majoritaire avec une proportion variant de 49 à 65 %, suivi de l'acide oléique (C18:1) qui représente une fraction secondaire mais significative. L'acide palmitique (C16:0) atteint environ 20,4 %, tandis que d'autres acides gras, présents en quantités moindres, incluent l'acide myristique (C14:0), l'acide arachidique (C20:0) et l'acide béhénique (C22:0). En plus des huiles fixes, les graines renferment une huile essentielle dont la teneur varie de 0,4 % à 2,5 %. Celle-ci est dominée par la thymoquinone (27,8 % à 57,0 %), un composé bioactif reconnu pour ses effets antioxydants, anti-inflammatoires et anticancéreux. Parmi les autres constituants volatils, on retrouve le p-cymène (7,1 % à 15,5 %), le carvacrol (5,8 % à 11,6 %), le t-anéthole (0,25 % à 2,3 %), le 4-terpinéol (2 % à 6,6 %) ainsi que le longifolène (1 % à 8 %). (Ghahramanloo et al., 2017)

## **8. Propriétés Biologiques et Pharmacologiques des graines et de l'huile de *Nigella sativa***

### **8.1. Activité antioxydante**

*Nigella sativa* possède une forte activité antioxydante grâce à des composés bioactifs comme la thymoquinone, le carvacrol et le 4-terpinéol, qui neutralisent les radicaux libres et stimulent les enzymes antioxydantes endogènes. Cette action, confirmée par des tests TLC et DPPH, contribue à réduire le stress oxydatif impliqué dans de nombreuses pathologies chroniques. (Wahab et al., 2023).

### **8.2. Activités antimicrobiennes**

Les graines de *Nigella sativa* possèdent une activité antimicrobienne liée à leurs composés phytochimiques (phénols, flavonoïdes, tanins), qui perturbent la membrane cellulaire et le métabolisme microbien. Leur efficacité, confirmée par différentes méthodes d'extraction et

tests cliniques, se manifeste particulièrement contre les bactéries Gram-positives comme *E. coli*, *P. aeruginosa* et *S. aureus*, avec un rôle notable de la teneur en tanins. (Abbas *et al.*, 2024).

### 8.3. Effets Immunomodulateurs

Les graines de *Nigella sativa* exercent des effets immunomodulateurs en stimulant principalement les réponses des cellules T, via l'augmentation de certaines interleukines, tout en modulant négativement celles des cellules B, sans effet direct sur la phagocytose bactérienne. (Wahab *et al.*, 2023).

### 8.4. Activité anticancéreuse

*Nigella sativa* présente une activité anticancéreuse marquée grâce à la thymoquinone, qui inhibe la prolifération tumorale, induit l'apoptose, bloque l'angiogenèse et potentialise l'efficacité des traitements classiques tout en limitant leurs effets secondaires. (Wahab *et al.*, 2023).

### 8.5. Activité antidiabétique

*Nigella sativa*, via sa molécule active la thymoquinone, exerce une activité antidiabétique en régulant la glycémie, améliorant la sensibilité à l'insuline et inhibant les enzymes  $\alpha$ -amylase et  $\alpha$ -glucosidase, ce qui réduit l'absorption du glucose et protège contre les complications du diabète. (Wahab *et al.*, 2023).

### 8.6. Activité anti-inflammatoire

La thymoquinone, principal composé actif de *Nigella sativa*, a démontré un fort potentiel anti-inflammatoire. Dans des macrophages RAW 264.7, elle a amélioré la viabilité cellulaire tout en réduisant la production d'oxyde nitrique, de triglycérides et de cytokines pro-inflammatoires induites par le palmitate. Elle a également préservé la fonction mitochondriale. Ces résultats indiquent que la TQ peut protéger les macrophages contre l'inflammation et la cytotoxicité liées aux acides gras libres. (Othman *et al.*, 2024).

## 9. Travaux antérieurs

Plusieurs travaux ont été effectués sur cette plante :

Un essai clinique randomisé a été mené avec des gélules d'huile de *N. sativa* chez des patients atteints de formes légères de COVID-19 afin d'évaluer les effets antiviraux et immunomodulateurs de la thymoquinone (Koshak *et al.*, 2020). Parallèlement, un gel capillaire

à base d'extrait éthanolique de *N. sativa*, enrichi en diméthicone, a été formulé pour stimuler la croissance des cheveux et protéger le cuir chevelu (Wulansari et al., 2020). De plus, un gel de nanoémulsion incorporant l'extrait éthanolique de nigelle a été développé afin d'améliorer la biodisponibilité des composés actifs (Reveny et al., 2020). Dans une autre étude clinique, l'administration orale et topique de l'huile de *N. sativa* chez des patients atteints d'arthrose du genou a montré une diminution de l'inflammation et du stress oxydatif (Shokri-Mashhadi et al., 2022). Enfin, un nanoemulgel à base d'huile de *N. sativa* a été mis au point pour une application ciblée dans le traitement de la parodontite grâce à la libération contrôlée de la thymoquinone et à ses propriétés antibactériennes, cette approche innovante présente un potentiel prometteur pour l'amélioration des soins dentaires (Sultan et al., 2022).

## 10. Sécurité et Toxicité

La sécurité et la toxicité de *N. sativa* et de son principal composé actif, la thymoquinone (TQ), ont été largement étudiées. Les données disponibles suggèrent que NS et la TQ présentent une toxicité aiguë et subaiguë faible, avec une large marge de sécurité. Les effets toxiques sont généralement observés à des doses très élevées, bien supérieures à celles utilisées en pratique thérapeutique. Cependant, des études supplémentaires, notamment des essais cliniques à long terme, sont nécessaires pour confirmer la sécurité de ces composés chez l'humain. (Hossain et al., 2021).

---

# **Partie II : Matériels et Méthodes**

---

## ✚ Matériel végétal

Les graines de nigelle (*Nigelle sativa* L.) ont été obtenues à partir d'un lot importé d'Arabie Saoudite et acquies localement dans la région de Tlemcen (Algérie). Afin de préserver leur qualité, elles ont été séchées naturellement à l'air libre, à l'abri de la lumière. Ce séchage a permis de diminuer leur humidité interne, favorisant ainsi de meilleures conditions d'extraction de l'huile.

## ✚ Préparation des graines

Avant l'extraction, les graines de *N. sativa* ont été soigneusement triées à la main pour éliminer les impuretés visibles (poussières, débris végétaux, graines abîmées). Elles ont ensuite été broyées à l'aide d'un moulin électrique afin d'augmenter la surface de contact avec le solvant ou de faciliter le pressage, selon la méthode d'extraction employée. La poudre obtenue a été conservée dans un récipient hermétique en verre, à l'abri de l'humidité, de la lumière et de la chaleur, jusqu'à utilisation.

### 1. Extraction

#### 1.1. Pression à froid

La première méthode d'extraction utilisée est la pression à froid, réalisée à l'aide d'une presse mécanique. Une quantité de 1kg de graines de *N. sativa*, préalablement broyées, a été introduite dans l'appareil, sans ajout de chaleur ni de solvant. Cette méthode douce permet d'extraire l'huile tout en préservant les composés thermosensibles, tels que les acides gras insaturés et les composés phénoliques. L'huile obtenue a ensuite été filtrée à l'aide d'un papier Whatman pour éliminer les particules solides, puis stockée dans un flacon ambré hermétique, conservée à température à froid à l'abri de la lumière. (Zouirech et al., 2024)



**Figure 6 : Extraction par Pression à froid.**

### 1.2. Extraction Soxhlet

La seconde méthode consiste en une extraction par Soxhlet, utilisant un solvant organique (hexane) pour l'extraction continue de l'huile à partir de la poudre de graines. Une quantité déterminée d'échantillon (environ 60 g) a été placée dans une cartouche en cellulose, puis soumise à une extraction par reflux durant 6 heures à l'aide d'un extracteur Soxhlet monté avec un ballon à fond rond, un réfrigérant à eau et une cartouche adaptée.

À la fin du processus, le solvant a été évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif. L'huile résiduelle a été conservée à température ambiante, dans un flacon en verre ambré, à l'abri de la lumière et de l'air. (Alrashidi et al., 2020)



Figure 7 : Extraction par Soxhlet

### 1.3. Extraction assistée par ultrasons (UAE)

Une extraction par ultrasons a été réalisée à l'aide d'un sonicateur à ultrasons, équipé d'un bécher en verre placé dans une cuve à ultrasons à fréquence contrôlée. Une quantité de 20 g de poudre de graines de *N. sativa* a été mélangée à 100 ml d'éthanol dans le bécher.

Le mélange a été soumis à une sonication pendant 30 minutes à température ambiante. Ce procédé favorise la cavitation acoustique, entraînant la rupture des parois cellulaires et une libération plus efficace des composés présents dans la matrice végétale. Après extraction, le mélange a été filtré pour séparer l'extrait des résidus solides. L'extrait a ensuite été conservée au froid dans un flacon en verre ambré, à l'abri de la lumière et de l'oxygène. (Alrashidi et al., 2020)



Figure 8 : Extraction assistée par ultrasons

#### 1.4. Rendement d'extraction

➤ Le calcul du rendement suit la méthode standard rapportée par **Azwanida (2015)**.

Le rendement d'extraction a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = (\text{Masse d'huile extraite (g)} / \text{Masse de la matière végétale sèche (g)}) \times 100$$

## 2. Extraction des composés phénoliques de l'huile et de l'extrait

L'intérêt croissant pour les composés bioactifs d'origine végétale, en particulier les composés phénoliques, repose sur leurs propriétés antioxydantes et leurs effets bénéfiques sur la santé. Ils sont présents dans de nombreuses matrices végétales, dont les graines oléagineuses comme *N. sativa* (**Balasundram et al., 2006**).

### 2.1. Principe

Pour pouvoir doser les composés phénoliques dans les huiles végétales obtenues, une extraction préalable de ces molécules est nécessaire. Elle repose sur leur solubilité dans des solvants polaires, principalement des mélanges d'eau et d'alcools (comme le méthanol ou l'éthanol). Ces solvants permettent de rompre les interactions entre les polyphénols et les structures végétales, facilitant leur transfert vers la phase liquide (**Spigno et al., 2007**)

### 2.2. Mode opératoire

- Prélever 2 ml d'échantillon d'huile.
- Ajouter 2 ml de solution méthanolique (méthanol/eau, 80 :20 v/v).
- Introduire le mélange dans un tube centrifuge.
- Agiter pendant 10 minutes à l'aide d'un vortex.
- Centrifuger à 3800 tr/min pendant 15 minutes.
- Récupérer délicatement le surnageant et le transférer dans une fiole jaugée de 50 ml.
- Répéter l'extraction deux fois avec le même solvant pour assurer une extraction maximale.

- Combiner les trois fractions obtenues.
- Compléter le volume dans la fiole jaugée jusqu'au trait avec la même solution méthanolique (80 : 20).
- Conserver l'extrait au froid à l'abri de la lumière jusqu'à l'analyse (Ollivier *et al.*, 2004)



**Figure 9 : Extraction des polyphénols**

### **2.3. Dosage des polyphénols totaux (méthode de Singleton et Rossi)**

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué selon la méthode de Singleton et Rossi (1965), basée sur l'utilisation du réactif de Folin–Ciocalteu.

#### **2.3.1. Principe**

La méthode de Folin–Ciocalteu permet de doser les composés phénoliques en mesurant la couleur bleue formée lors de leur réaction avec le réactif de Folin en milieu alcalin. L'absorbance est lue à 765 nm, puis la teneur en polyphénols est calculée à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec l'acide gallique et exprimée en mg EAG/g.

#### **2.3.2. Mode opératoire (méthode de Folin–Ciocalteu)**

- Prélever 200  $\mu$ L pour chaque extrait est introduit dans des tubes à essais.
- Ajouter 1 ml de réactif de Folin–Ciocalteu (dilué au 1/10 avec de l'eau distillée).
- Laisser reposer le mélange pendant 3 minutes à température ambiante.
- Ajouter ensuite 800  $\mu$ L de solution de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) à 7,5 % (m/v).
- Agiter doucement puis laisser incuber 30 minutes à l'obscurité (température ambiante).
- Mesurer l'absorbance à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible.
- Calculer la teneur en polyphénols totaux à partir d'une courbe d'étalonnage réalisée avec des solutions standard d'acide gallique.

- Exprimer les résultats en mg équivalent acide gallique (mg EAG/g d'échantillon).



Figure 10 : Dosage des composés phénoliques totaux

### 3. les indices physicochimiques

Les indices physico-chimiques sont réalisés pour évaluer la qualité, la pureté, la stabilité et la fraîcheur d'une huile végétale.

#### 3.1. Principaux indices physico-chimiques d'une huile végétale

Tableau 2: Indices physico-chimiques des huiles.

Indice	Symbole	Unité	Principe
Indice d'acide	IA	(mg KOH/g d'huile)	Titration des acides gras libres par une solution de KOH en milieu alcoolique → mesure de la quantité de KOH nécessaire pour neutraliser les acides.
Acidité	(A)	(% d'acide gras libre)	Calculée à partir de l'indice d'acide : {Acidité (%) = $IA \times M/56.1$ }, où M est la masse molaire de l'acide (ex. acide oléique = 282).
Indice d'ester	IE	(mg KOH/g d'huile)	Différence entre l'indice de saponification et l'indice d'acide : $IE = IS - IA$ → estimation des esters présents (triglycérides non hydrolysés).
Indice de peroxyde	IP	(meq O <sub>2</sub> /kg d'huile)	Réaction des peroxydes avec l'iodure de potassium → libération d'iode titrée par le thiosulfate de sodium.
Indice d'iode	II	(g I <sub>2</sub> /100 g d'huile)	Réaction d'addition de l'iode (I <sub>2</sub> ) sur les doubles liaisons des acides gras insaturés ; mesure par titrage de l'iode non réagi.
Indice de saponification	IS	(mg KOH/g d'huile)	Hydrolyse alcaline des esters (triglycérides), suivie du titrage de l'excès de KOH → détermine la masse molaire moyenne des acides gras.

<b>Indice de réfraction</b>	<b>IR</b>	<b>sans unité</b>	Mesure de la variation de vitesse de la lumière traversant l'huile → liée à sa composition et son degré d'insaturation.
<b>Densité relative</b>	<b>(P)</b>	<b>(g/cm<sup>3</sup>)</b>	Comparaison de la masse volumique de l'huile avec celle de l'eau, généralement mesurée à 20 ou 25 °C.

### 3.2. Mode opératoire

#### 3.2.1. Indice d'Acide (IA)

➤ Méthode de travail (selon la norme NF ISO 660:2017)

✓ Pesée de l'échantillon :

→ Peser exactement 1 g de l'huile à analyser dans un erlenmeyer de 100 ml.

✓ Dissolution :

→ Ajouter 5 ml d'éthanol à 95% pour dissoudre l'huile.

✓ Ajout d'indicateur :

→ Ajouter 2 gouttes de phénolphaléine à 0,2% (dans l'éthanol).

✓ Titrage :

→ Titrer avec une solution de KOH éthanolique 0,1 mol/L, jusqu'à l'apparition d'une coloration rose persistante pendant 30 secondes.

✓ Notation :

→ Noter le volume exact (V) de KOH utilisé.

✓ Calcul :

→ Utiliser la formule :

$$IA = \{5,61 * V\} / \{m\} = \text{masse d'huile en gramme (1 g)}.$$

- 5,61 g/l : correspond à 0,1mole/l de KOH
- V : Volume en ml de la solution éthanolique de KOH (0,1 mole /l) utilisée pour le titrage.
- m : masse en gramme de l'huile

« L'acidité (% acide oléique) a été calculée à partir de l'indice d'acide obtenu selon le protocole ci-dessus. »



### 3.2.2. Indice d'ester (IE)

#### Figure 11 : Indice d'Acide (IA)

- Méthode de travail (selon la norme AFNOR. (1981). NF T60-206)

Calcul simple : → Une fois l'IA et l'IS calculés, utiliser la formule :  $IE = IS - IA$

### 3.2.3. Indice de saponification (IS)

- Méthode de travail (selon la norme AFNOR. (2022). NF ISO 3657)

- ✓ Pesée de l'échantillon :

→ Peser exactement 2 g de l'huile à analyser dans un ballon à col rodé de 100 ml.

- ✓ Ajout de réactif : → Ajouter 25 ml de KOH alcoolique 0,5 mol/L.

- ✓ Préparation à l'ébullition :

→ Ajouter 2 à 3 morceaux de pierre ponce pour éviter les projections.

- ✓ Reflux :

→ Adapter un réfrigérant à reflux et porter le mélange à ébullition pendant 30 minutes.

- ✓ Refroidissement :

→ Retirer le ballon du chauffe-ballon et laisser refroidir quelques minutes.

- ✓ Titration de l'excès de potasse :

→ Titrer l'excès de KOH avec HCl 0,5 mol/L en présence de phénolphaléine.

- ✓ Essai à blanc (témoin) :

→ Réaliser en parallèle un essai sans huile ni chauffage pour doser uniquement la quantité de KOH ajoutée.

✓ Notation des volumes :

→Noter :

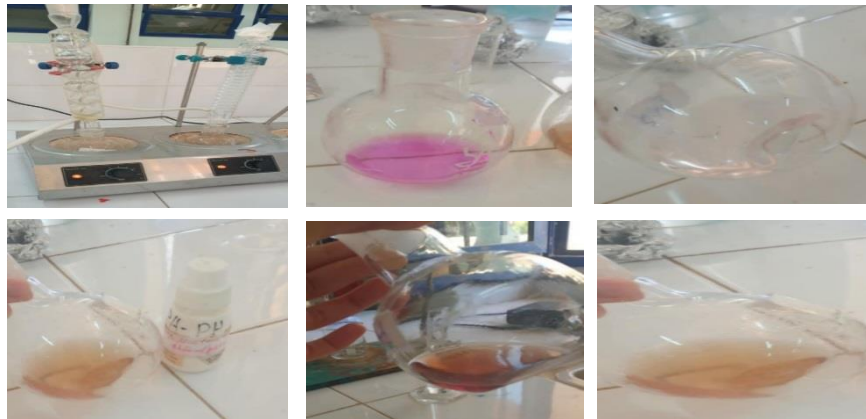
→Volume de HCl pour l'essai à blanc

→Volume de HCl pour l'échantillon contenant l'huile

✓ Calcul :

→ Utiliser la formule :  $IS = (V_0 - V) / \{m\} * 28$

- $V_0$  : Volume en ml de la solution HCl (0,5 mol/l) utilisée pour l'essai à blanc.
- $V$  : Volume en ml de la solution HCl (0,5 mol/l) utilisée
- $m$  : masse en gramme de l'huile



**Figure 12 : Indice de saponification (IS)**

### 3.2.4. *Indice de Peroxyde (IP)*

➤ Méthode de travail (selon la norme AFNOR. (2017). NF ISO 3960)

✓ Manipulation :

→Peser environ 1 g d'huile dans un erlenmeyer de 250 mL.

✓ Ajouter :

→10 ml de chloroforme

→15 ml d'acide acétique

→Immédiatement après, ajouter 1 ml d'une solution aqueuse saturée d'iodure de potassium (KI).

→Agiter pendant 1 minute, puis mettre à l'obscurité pendant 5 minutes.

→Ajouter 75 ml d'eau distillée, agiter vigoureusement, ajouter quelques gouttes d'empois d'amidon (indicateur).

→Titrer avec une solution de thiosulfate de sodium 0,01 N jusqu'à décoloration.

Faire un essai à blanc en parallèle (sans matière grasse).

✓ Calcul de l'IP :  $IP \text{ (mu g/g)} = \{(V - V_0) * 8000\} / \{P\}$

- V : Volume de thiosulfate pour l'essai à blanc (ml)
- V<sub>0</sub> : Volume pour l'essai avec huile (ml)
- N : Normalité du thiosulfate de sodium
- P : Masse d'huile (g)



**Figure 13 : Indice de Peroxyde (IP)**

### 3.2.5. Indice d'Iode (II)

➤ Méthode de travail (selon la norme AFNOR. (2017). NF ISO 3961)

✓ Manipulation :

→Peser précisément 0,2 ml de matière grasse (≈ 0,5 g) dans un erlenmeyer de 100 ml.

→Dissoudre dans 5 ml de tétrachlorure de carbone (CCl<sub>4</sub>) ou chloroforme (CHCl<sub>3</sub>).

→Ajouter 10 ml de réactif de Wijs, boucher et laisser réagir 1 h 30 à l'abri de la lumière.

→Ajouter ensuite 5 ml de solution d'iodure de potassium à 2 %.

→Ajouter une goutte d'empois d'amidon, titrer l'iode libéré avec thiosulfate de sodium 0,1 M jusqu'à décoloration.

→Réaliser un témoin (flacon sans huile) en parallèle.

✓ Calcul de l'II :

$$I. I = N (V_{\text{\{témoin\}}} - V_{\text{\{essai\}}}) * 127 / m * 10$$

- N : Normalité du thiosulfate ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ )
- V : Volumes consommés
- m : Masse de l'huile (g) .



**Figure 14 : Indice d'Iode (II)**

### 3.2.6. Indice de Réfraction

➤ Méthode de travail (suivant NF T 75-112 / ISO 280-1976)

✓ Préparation du matériel :

→ Utiliser un réfractomètre de type ABBE 1T (modèle : Atago, Japon).

→ Nettoyer soigneusement le prisme avec du papier Joseph pour éliminer toute trace d'huile ou de poussière.

✓ Étalonnage de l'appareil :

→ Verser une goutte d'eau distillée (indice de réfraction connu = 1,333 à 20°C) sur le prisme.

→ Régler la limite de la zone sombre et claire à l'aide du cercle jusqu'à obtenir une séparation nette.

→ Tenir compte de la température ambiante pour l'ajustement final.

✓ Mesure de l'échantillon :

→ Essuyer le prisme.

→ Déposer une goutte de l'huile à analyser.



**Figure 15 : un réfractomètre d'Abbe**

→ Régler la séparation du champ sombre/clair au milieu du cercle.

→ Lire directement la valeur de l'indice de réfraction, en tenant compte de la température.

### 3.2.7. Densité

➤ Méthode de travail (suivant NF T 75-111 / ISO 279-1981)

✓ Préparation du pycnomètre :

→ Laver et sécher soigneusement le pycnomètre.

→ Le peser vide avec une balance analytique (noter cette masse :  $m_0$ ).

✓ Mesure avec l'eau :

→ Remplir le pycnomètre avec de l'eau distillée bouillie puis refroidie à  $\sim 20^\circ\text{C}$ .

→ Le placer dans un bain-marie pour stabiliser la température à  $20^\circ\text{C}$ .

→ L'essuyer, puis le peser plein (noter cette masse :  $m_1$ ).

✓ Mesure avec l'huile :

→ Vider, rincer et sécher le pycnomètre.

→ Remplir avec l'huile à analyser.

→ Répéter le bain-marie pour stabiliser à  $20^\circ\text{C}$ .

→ Essuyer puis peser le pycnomètre plein d'huile (noter cette masse :  $m_2$ ).

➤ Calcul de la densité :

→ Utiliser la formule :  $d_{20}^{20} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$

## 4. Activités biologiques

### 4.1. Evaluation de l'activité antioxydante

➤ Test de piégeage du radical DPPH

#### 4.1.1. Principe

L'activité antiradicalaire est évaluée par la réduction du radical DPPH<sup>•+</sup>, un radical synthétique caractérisé par une coloration violette intense. En présence d'un antioxydant, le radical est neutralisé grâce à la saturation de sa couche électronique, ce qui entraîne la disparition progressive de sa coloration **Conforti et al. (2011)**

Cette perte de coloration traduit la capacité des extraits à neutraliser ce radical, conformément à la réaction ci-dessous, laquelle peut être suivie par spectrophotométrie UV.



#### 4.1.2. Mode opératoire

- 50 $\mu$ L de chaque solution méthanolique des extraits à différentes concentrations ou de standard (acide ascorbique) sont ajoutés à 1,95 ml de la solution méthanolique du DPPH (0,025g/l). En parallèle, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 50 $\mu$ l de méthanol Avec 1,95 ml de la solution méthanolique de DPPH.

- La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 517nm après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante.

- Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons.

✓ Expression des résultats :

Le pourcentage de réduction du radical libre DPPH est exprimé par la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(\text{Abs c} - \text{Abs e}) / \text{Abs c}] \times 100$$

- Abs c : Absorbance du contrôle négatif
- Abs e : Absorbance de l'échantillon testé

Pour chaque extrait déterminer la valeur IC50 qui est la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du DPPH.



**Figure 16 : l'activité antioxydante**

## 4.2. L'activité antimicrobienne

### 4.2.1 Principe

Cette méthode repose sur la diffusion d'un composé aux propriétés antimicrobienne dans un milieu solide placé dans une boîte de Pétri. Après une période de contact déterminée entre le produit testé et le microorganisme cible, l'efficacité antimicrobienne est estimée en mesurant la zone d'inhibition formée autour du produit, dont le diamètre reflète directement l'intensité de l'activité antimicrobienne **Blouin et al. (1972)**.

### 4.2.2. Mode opératoire

✓ Milieux de culture :

Gélose Mueller-Hinton (MH) : 21 g de poudre MH + 15 g d'agar/L d'eau distillée, pH ajusté à  $7,4 \pm 0,2$ .

Gélose Sabouraud : 15 g de bouillon Sabouraud + 7,5 g d'agar/L, pH ajusté à  $5,6 \pm 0,2$ .

Bouillon MH : 6,3 g/300 mL d'eau distillée.

Bouillon Sabouraud : 3 g/100 mL d'eau distillée.

→ Tous les milieux ont été stérilisés à 121 °C pendant 15 minutes à l'autoclave.

✓ Micro-organismes testés :

Cinq souches bactériennes (Gram positif et Gram négatif) et *Candida albicans*. Les souches ont été réactivées sur gélose nutritive, puis cultivées en bouillon pendant 24 h à 37 °C.

✓ Préparation des disques :

Disques de papier filtre Whatman (Ø 6 mm), stérilisés, imprégnés d'extrait végétal dissous dans du DMSO à différentes concentrations.

✓ Solvants utilisés :

DMSO (diméthylsulfoxyde) pour solubiliser l'extrait. Eau distillée et eau physiologique stériles pour les dilutions des suspensions bactériennes.

✓ Méthode de diffusion en disque :

Après ensemencement de la gélose MH avec l'inoculum à l'aide d'un écouvillon stérile, les disques imprégnés d'extrait sont déposés à la surface. L'incubation s'est faite à 37 °C pendant 24 h. L'activité antimicrobienne a été évaluée par mesure des zones d'inhibition en mm.

→ Chaque test a été réalisé en double.

✓ Matériel et appareils utilisés :

Boîtes de Pétri, tubes à essai, flacons stériles, écouvillons, disques de papier filtre, bec Bunsen.

Appareils : autoclave (stérilisation), étuve réglée à 37 °C (incubation), agitateur chauffant (préparation des milieux), réfrigérateur (conservation), bain-marie.



**Figure 17 : L'activité antimicrobienne**

---

## **Partie III : Résultats et discussion**

---

---

## *Conclusion et perspectives*

---

---

## *Références Bibliographiques*

---

### A

**Al-Asmari, A. K., Al-Abbasi, F. A., Al-Dhaheiri, M. M., & Al Sulaiman, A. M. (2022).** Exploring the therapeutic potential of bioactive lipophilic compounds from *Nigella sativa* and *Aloe vera*: Applications in skin health and wound healing. *Phytotherapy Research*, 36(9), 4213–4228.

**Ali, B. H., Al-Wabel, N. A., Shabrmi, F. M., & Al-Sawalha, N. A. (2020).** The therapeutic potential of *Nigella sativa* (black seed) and its active constituent thymoquinone: A review. *Pharmacological Research*, 155, 104758.

**Alberts, A., Moldoveanu, E.-T., Niculescu, A.-G., & Grumezescu, A. M. (2024).** *Nigella sativa*: A comprehensive review of its therapeutic potential, pharmacological properties, and clinical applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(24), 13410.

**Abbas, M., Gururani, M. A., Ali, A., Bajwa, S., Hassan, R., Batool, S. W., Imam, M., & Wei, D. (2024).** Propriétés antimicrobiennes et potentiel thérapeutique des composés bioactifs de *Nigella sativa* : une revue. *Molécules*, 29(20), 4914.

**Al-Jenoobi, F. I., Al-Thukair, A. A., Abbas, F. A., Ansari, M. J., Alkharfy, K. M., Al-Mohizea, A. M., Al-Suwayeh, S. A., & Jamil, S. (2010).** Effect of black seed on dextromethorphan O- and N-demethylation in human liver microsomes and healthy human subjects. *Drug Metabolism Letters*, 4(1), 51–55.

**Al Ameedy, T. H., & Omran, R. (2019).** Antimicrobial activity of *Nigella sativa* extract against some bacterial and fungal species. *Journal of University of Babylon, Pure and Applied Sciences*, 27(1), 277–286.

**Ait-Ouazzou, A., Espina, L., et al. (2011).** Antibacterial activity of essential oils against *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Food Control*, 22, 1111–1118.

**Aftab, M. N., Khan, S. A., & Rafiq, M. (2020).** Ultrasound-assisted extraction of *Nigella sativa* oil and its antibacterial activity against foodborne pathogens. *Journal of Food Safety and Hygiene*, 6(4), 171–177.

**Azwanida, N. N. (2015).** A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*, 4(3), 196.

## Références Bibliographiques

---

**Abdesselam, B. (2015).** Approche ethnopharmacologique de *Nigella sativa* : de ses utilisations traditionnelles ancestrales aux études cliniques actuelles de ses principes actifs

**Alrashidi, M., Alotaibi, B., & Suliman, M. (2020).** Investigation of physicochemical properties of *Nigella sativa* L. seed oil from Al-Qassim by different extraction methods. *Journal of King Saud University – Science*. ([jksus.org][1])

## B

**Belhachemi, M., Belabed, N. M., Belhachemi, S., & Bentabet, N. (2024).** Étude de l'effet anti-inflammatoire in vitro des extraits de graines de la plante médicinale *Peganum harmala* L. [Mémoire de master, Université d'Aïn Témouchent]. DSpace de l'Université d'Aïn Témouchent.

**Bakhshabadi, H., Ganje, M., Gharekhani, M., Mohammadi-Moghaddam, T., Aulestia, C., & Morshedi, A. (2025).** A review of new methods for extracting oil from plants to enhance the efficiency and physicochemical properties of the extracted oils. *Processes*, 13(4), 1124.

**Blouin, J., Llorca, L., Montreau, F. R., & Dufour, J. H. (1972).** Étude des conditions optimales pour la détermination des composés phénoliques totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu. *OENO One*, 6(4), 405-413.

**Barmanray, A., Kaushik, N., Nyemb, J. N., Yadav, A., & Boum Bindebe, S. M. L. K. (2024).** Study on extraction and surface coating of black cumin (*Nigella sativa* L.) seed oil on the shelf life of lemons. *Food Materials Research*, 4, e033.

**Bonnier, G., & Douin, R. (1993).** La grande flore en couleur (Tome 3). Paris : Belin.

**Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006).** Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99(1), 191–203.

## C

**Conforti, F., Marrelli, M., Carmela, C., Menichini, F., Valentina, P., Uzunov, D., ... & Menichini, F. (2011).** Bioactive phytonutrients (omega fatty acids, tocopherols, polyphenols), Références bibliographiques 49 in vitro inhibition of nitric oxide production and free radical

## Références Bibliographiques

---

scavenging activity of noncultivated Mediterranean vegetables. *Food chemistry*, 129(4), 1413-1419.

**Cheikh-Rouhou, S., Besbes, S., Hentati, B., Blecker, C., Deroanne, C., & Attia, H. (2007).** *Nigella sativa* L.: Chemical composition and physicochemical characteristics of lipid fraction. *Food Chemistry*, 101(2), 673–681.

### D

**Derosa, G., D'Angelo, A., Maffioli, P., Cucinella, L., & Nappi, R. E. (2024).** The use of *Nigella sativa* in cardiometabolic diseases. *Biomedicines*, 12(2), 405.

**Dar, I. H., Junaid, P. M., Ahmad, S., Shams, R., Dash, K. K., Shaikh, A. M., & Kovács, B. (2024).** Optimization of ultrasound-assisted extraction of *Nigella sativa* seed oil for enhancement of yield and antioxidant activity. *Discover Applied Sciences*, 6(3), 104.

### E

**Elouafy, Y., El Yadini, A., El Moudden, H., Harhar, H., Alshahrani, M. M., Al Awadh, A. A. A., Goh, K. W., Ming, L. C., Bouyahya, A., & Tabyaoui, M. (2022).** Influence of the extraction method on the quality and chemical composition of walnut (*Juglans regia* L.) oil. *Molecules*, 27(22), 7681.

### F

**Farhad Sharafati Chaleshtori, (2018).** Chemical Composition, Antioxidant and Antibacterial Activity of *Bunium persicum*, *Eucalyptus globulus*, and Rose Water on Multidrug-Resistant *Listeria* Species, 25 *Journal of evidence-Based integrative Medicine*.

### G

**Gueffai, A. (2024, janvier).** Optimisation et étude physicochimique et microbiologique d'un extrait d'une plante médicinale (*Nigella sativa* L.) et son pouvoir antioxydant. Thèse de doctorat, Université Mustapha Stambouli de Mascara.

**Ghahramanloo, K. H., Kamalidehghan, B., Akbari Javar, H., Widodo, R. T., Majidzadeh, K., & Noordin, M. I. (2017).** Comparative analysis of essential oil composition of Iranian and

## Références Bibliographiques

---

Indian *Nigella sativa* L. extracted using supercritical fluid and solvent extraction. *Drug Design, Development and Therapy*, 11, 2221–2226.

**Gharby, S., Harhar, H., Roudani, A., Sakar, E. H., El Yadini, A., & Charrouf, Z. (2020).** Chemical composition and oxidative stability of *Nigella sativa* seed oil extracted by different methods. *Journal of Food Quality*, 2020, 1–7.

## H

**Hossain, M. S., Sharfaraz, A., Dutta, A., Ahsan, A., Masud, M. A., Ahmed, I. A., Goh, B. H., Urbi, Z., Sarker, M. M. R., & Ming, L. C. (2021).** A review of ethnobotany, phytochemistry, antimicrobial pharmacology and toxicology of *Nigella sativa* L. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 143, 112182.

**Hassanein, M. M. M., El-Shami, S. M., & El-Mallah, M. H. (2019).** Physico-chemical, phytochemical and antimicrobial analysis of black cumin and fenugreek seed oils.

**Hassan, M. A., Ahmad, F., & Akhtar, N. (2021).** Antibacterial activity of *Nigella sativa* oil against multi-drug resistant bacteria. *Journal of Pathology Research and Practice*, 12(2), 45–50.

**Heiss, A. G., Wrobel, S., Yaneva, M., Marinova, E., & Elçi, H. (2013).** *Nigella sativa* L. (Ranunculaceae) from Byzantine Sagalassos (south-west Turkey) – an exceptional find?. *Journal of Archaeological Science*, 40(1), 145–154

## J

**Jabri Karoui, I., Ayari, J., Ghazouani, N., & Abderrabba, M. (2020).** Caractérisations physicochimiques et biochimiques de quelques huiles de graines tunisiennes. *OCL - Oilseeds and fats, Crops and Lipids*, 27(2), 29.

## K

**Khan, M. A., Ashfaq, M. K., & Rajoka, M. I. (2017).** Antibacterial activity of *Nigella sativa* seed extracts against pathogenic bacteria. *International Journal of Biosciences*, 11(3), 141–150.

**Kamal, M., Saeed, S., & Ahmed, A. (2021).** The antibacterial property of *Nigella sativa* (black seed) oil against Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Kurdistan Journal of Applied Research*, 6(2), 1–7.

## Références Bibliographiques

---

**Kiralan, M., Özkan, G., Bayrak, A., & 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.

**Koshak, A. E., et al. (2020).** Gélules molles d'huile de *Nigella sativa* pour les cas légers de COVID-19 : essai clinique randomisé. *Trials*, 21, 703.

## M

**Mohammed, N. K., Mzee, M. N., & Mtemeri, S. (2016).** Evaluation of physicochemical and phytochemical properties of black seed (*Nigella sativa* L.) oil from Saudi Arabia. *Pharmacognosy Journal*, 8(6), 524–531.

**Motri, S. (2023).** Étude des propriétés physicochimiques et nutritionnelles des huiles extraites de *Nigella sativa* et *Nigella arvensis*. *Annales de l'INRAT*, 96. High Institute of Technological Studies of Zaghuan, Tunisie.

**My Food Research. (2019).** Physicochemical properties of *Nigella sativa* oil extracted by different methods. *My Food Research*, 3(1), 100–107.

**Mehdiyeva, N., Alizade, V., Paniagua Zambrana, NY et Bussmann, RW (2016).** *Nigella sativa* L. Ranunculaceae. Dans *Ethnobotanique du Caucase* (pp. 1-3). Springer, Cham.

**Mezhoud, M. (2024).** La Nigelle, *Nigella sativa* L. : une plante au grand potentiel officinal [Mémoire de Master, Université non spécifiée]. Sciences pharmaceutiques.

**Mraihi, F., Kraiem, K., Ennouri, K., & El Feki, A. (2013).** Phytochemical composition and antioxidant activity of *Nigella sativa* (L.) seed extract in vitro and in vivo. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(35), 2630–2635.

**Mohammedi, Z. (2013).** Contribution à l'étude de l'impact des conditions opératoires sur la qualité des charbons actifs préparés à partir de noyaux de dattes [Thèse de doctorat, Université Kasdi Merbah – Ouargla]. Université Kasdi Merbah Ouargla.

### O

**Othman, R., Aggour, A., Elmorsy, E., & Fawzy, M. S. (2024).** Nigella sativa active principle thymoquinone attenuates palmitate-induced cytotoxicity, inflammation, and bioenergetic disruption in macrophages: An in vitro study model. *Toxicol*, 244, 107754.

**Othman, L., Sleiman, A., & Abdel-Massih, R. M. (2018).** Antimicrobial activity of Nigella sativa essential oil against multidrug-resistant pathogens. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 9(2), 537–543.

**Ollivier, D., Boubault, E., Pinatel, C., Souillol, S., Guère, M., & Artaud, J. (2004).** Analyse de la fraction phénolique des huiles d'olive vierges. *OCL - Oléagineux, Corps Gras, Lipides*, 11(5), 346–355.

**Organisation mondiale de la propriété intellectuelle (OMPI). (2023).** Ophthalmic microemulsion comprising thymoquinone and black seed oil (Brevet n° WO2023055321A1).

### P

**(Parakh, 2010; Naz, 2011; Toparlan, 2012).** Paarakh, P. M. 2010. Nigella sativa Linn. - A comprehensive review. *Indian J. Nat. Prod.* 1:409- 429.

### R

**(Rahman A.U., et al. 2024).** Rahman, A. U., Abdallah, A., Fayçal, S., Mansour, B., & Yahya, G. (2024). Libérer le potentiel thérapeutique de l'extrait de Nigelle sativa : analyse phytochimique et révélation des merveilles antimicrobiennes et antioxydantes. *BMC Médecine et thérapies complémentaires*, Volume 24, Article 266. [Accès libre, publié le 12 juillet 2024].

**Rasheed, A., Tariq, M., & Siddiqui, U. (2024).** Nigella sativa (Kalonji) and its therapeutic significance in Unani system of medicine: A review. *International Journal of Unani and Integrative Medicine*, 8(3), 111–115.

**Reveny, J., et al. (2020).** Formulation and evaluation of black cumin (Nigella sativa) ethanolic extract nanoemulsion gel. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development*, 8(4), 7–11.

### S

**Sidat, M. M., Kabir, M. H., & Rashid, M. H. (2017).** Antimicrobial activity of cold-pressed black seed (*Nigella sativa* L.) oil against multidrug-resistant bacteria. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 8(2), 100–105.

**Spigno, G., Tramelli, L., & De Faveri, D. M. (2007).** Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering*, 81(1), 200–208.

**Shokri-Mashhadi, N., et al. (2022).** The effect of black seed oil (*Nigella sativa*) oral and topical administration on inflammation, oxidative stress, and clinical outcomes in patients with knee osteoarthritis: A randomized clinical trial. *Complementary Therapies in Medicine*, 68, 102841.

**Sultan, M. H., et al. (2022).** Development and evaluation of black seed oil (*Nigella sativa*) nanoemulgel for periodontal therapy. *Processes*, 10(10), 2072.

### T

**Thani, P. R., Johnson, J. B., Bhattarai, S., Trotter, T., Walsh, K., Broszczak, D., & Naiker, M. (2024).** Optimization of the extraction temperature of *Nigella sativa* seed oil for sustainable production. *Applied Sciences*, 14(18), 8377.

### W

**Wahab S., et al. (2023).** Applications pharmacologiques potentielles des graines de *Nigella*, avec un accent sur *Nigella sativa* et ses constituants contre les maladies inflammatoires chroniques : progrès et perspectives futures. *Plants*, 12(22), 3829.

**Wiriansya, K. S., Putra, I. B. A., Mahardika, I. G., & Hartawan, I. G. N. (2022).** Black cumin (*Nigella sativa*) oil inhibits the growth of *Klebsiella pneumoniae*. *Global Scientific Journals*, 10(1), 254–260.

**Wulansari, S., et al. (2020).** Formulation of black cumin (*Nigella sativa*) ethanolic extract and dimethicone hair tonic gel. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development*, 8(6), 42–45.

### Z

**Ziridah, H., Lestari, P., & Rahmawati, D. (2019).** Antibacterial activity of black cumin (*Nigella sativa*) oil against *Bacillus subtilis*. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*,9(3),134–137.

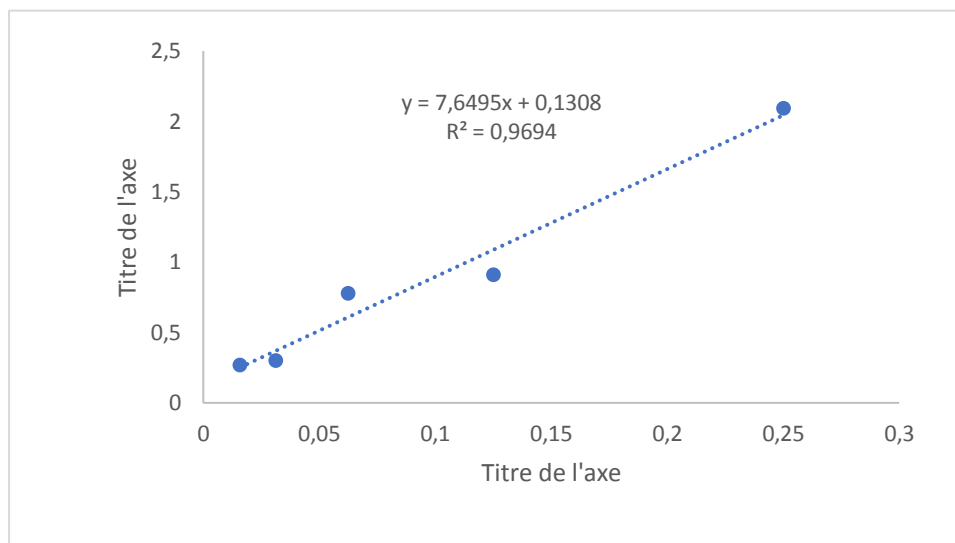
**Zouirech, O., Elami, M., Ibriz, M., & Bouyahya, A. (2024).** Comparative analysis of *Nigella sativa* L. oil extraction: Differences in yield and co-extraction of antioxidant and antibacterial compounds. *Journal of Risk Assessment and Management* [volume and issue if disponible ([tandfonline.com][1])

---

# *Annexes*

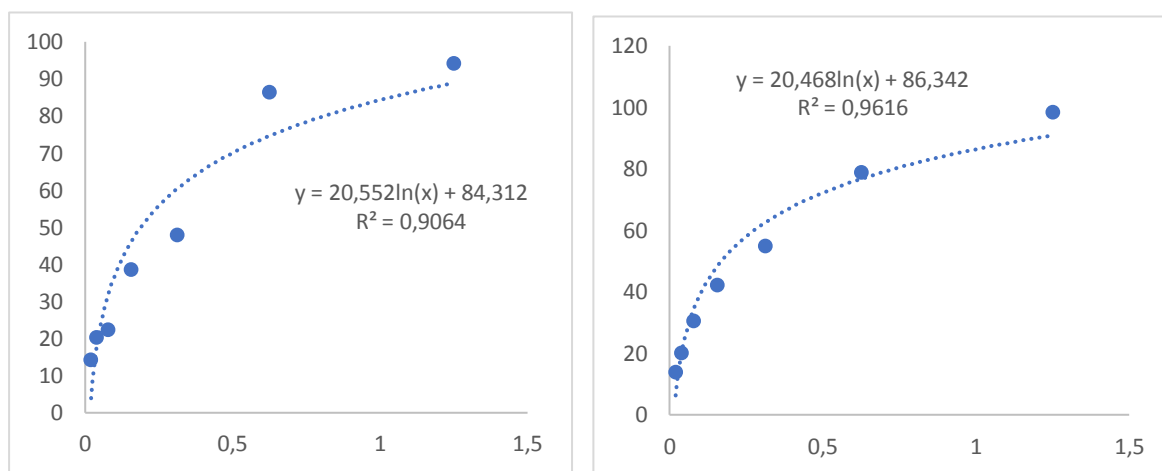
---

Annexe A



**Figure : courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux**

Annexe B



**Figure : Effet dose-dépendant de l'acide ascorbique sur l'inhibition du radical DPPH.**

## الملخص

تُعد الزيوت النباتية مصادر طبيعية غنية بالعناصر الغذائية والمركبات الفعالة بيولوجياً ذات تطبيقات متعددة وفوائد صحية عديدة. ومن بينها، تحظى الحبة السوداء باهتمام خاص نظراً لغناها بالمركبات النشطة المعروفة بخصائصها المضادة للأكسدة والالتهابات والميكروبات. وفي هذا السياق، ركز عملنا على دراسة مقارنة للخصائص الفيزيائية-الكيميائية، والقدرة المضادة للأكسدة، والأنشطة المضادة للميكروبات لمستخلص الحبة السوداء بالموجات فوق الصوتية وزيتها المستخلص بطرق مختلفة، بهدف تبيين إمكاناته كمكون طبيعي فعال.

أظهرت الدراسة المقارنة لثلاث طرق استخلاص (سوكهليت، العصر على البارد، والموجات فوق الصوتية) لبذور الحبة السوداء أن أعلى مردود تحقق بطريقة سوكهليت (33.74%)، تلتها طريقة العصر على البارد (16%)، بينما أعطت الموجات فوق الصوتية أقل مردود (4.49%). وعلى الصعيد الحيوي، تميز المستخلص بالموجات فوق الصوتية، رغم كميته الضئيلة، بغناه بالبوليفينولات ونشاطه القوي المضاد للأكسدة ( $IC_{50} = 19.14$  ملغ/مل، اختبار DPPH). أما من الناحية الفيزيائية-الكيميائية (مؤشر الحموضة، التصبن، البيروكسيد، واليود)، فقد تبين أن زيت العصر على البارد هو الأفضل جودة، إذ سجل نسبة حموضة منخفضة (5.93%) ومعامل انكسار مرتفع (1.435 عند 25 °م)، مما يعكس ثباتاً أفضل وحفظاً أمثل لخصائصه الكيميائية. أما التحليل الميكروبيولوجي فقد أظهر فعالية أوضح للعصر على البارد ضد البكتيريا موجبة الغرام، خاصة *Staphylococcus aureus* منطقة تثبيط (21 مم)، بينما أبدت طريقتا سوكهليت والموجات فوق الصوتية تأثيرات موجهة أكثر نحو بعض السلالات سالبة الغرام. وتؤكد هذه النتائج على أهمية اختيار طريقة الاستخلاص حسب الهدف المنشود: الكمية، الجودة، أو الفعالية الحيوية.

**الكلمات المفتاحية:** الزيوت النباتية، الحبة السوداء، طرق الاستخلاص، النشاط المضاد للأكسدة، الخصائص الفيزيائية-الكيميائية، النشاط المضاد للميكروبات.

## Résumé

Les huiles végétales sont des sources naturelles de nutriments et de composés bioactifs aux multiples applications bénéfiques. Parmi elles, la *Nigella sativa*, ou graine noire, attire une attention particulière en raison de sa richesse en composés bioactifs, reconnu pour ses effets antioxydants, anti-inflammatoires et antimicrobiens. Dans ce contexte, notre travail s'est intéressé à l'étude comparative des propriétés physico-chimiques, antioxydantes et antimicrobiennes de l'extrait ultrasonique et de l'huile de *N. sativa* extraite par différentes méthodes, dans le but de valoriser son potentiel en tant qu'ingrédient naturel bioactif.

L'étude comparative de trois méthodes d'extraction (Soxhlet, pression à froid, ultrasons) des graines de *Nigella sativa* a montré que le rendement le plus élevé est obtenu par Soxhlet (33,74 %), suivi de la pression à froid (16 %), tandis que les ultrasons présentent le rendement le plus faible (4,49 %). Sur le plan bioactif, l'extrait ultrasonique, malgré sa faible quantité, se distingue par une meilleure richesse en polyphénols et une forte activité antioxydante ( $IC_{50} = 19.14$  mg/mL, test DPPH). Concernant les caractéristiques physicochimiques (IA, IS, IP, II), l'huile extraite à froid se révèle de meilleure qualité, avec une acidité plus faible (5,93 %) et un indice de réfraction plus élevé (1,435 à 25 °C), traduisant une meilleure stabilité et conservation des propriétés chimiques. Sur le plan microbiologique, la pression à froid est la plus efficace contre les bactéries Gram positives, notamment *Staphylococcus aureus* (zone d'inhibition de 21 mm), tandis que Soxhlet et les ultrasons montrent des effets plus ciblés sur certaines souches Gram négatives. Ces résultats mettent en évidence l'importance du choix de la méthode selon l'objectif recherché : rendement, qualité ou bioactivité.

**Mots-clés :** Huiles végétales, *Nigella sativa*, méthodes d'extraction, activité antioxydante, propriétés physico-chimiques, activité antimicrobienne.

## Abstract

Vegetable oils are natural sources of nutrients and bioactive compounds with multiple beneficial applications. Among them, *Nigella sativa*, or black seed, has attracted particular attention due to its richness in bioactive compounds, recognized for their antioxidant, anti-inflammatory, and antimicrobial effects. In this context, our work focused on the comparative study of the physicochemical, antioxidant, and antimicrobial properties of the ultrasonic extract and the oil of *N. sativa* obtained by different extraction methods, with the aim of valorizing its potential as a natural bioactive ingredient.

The comparative study of three extraction methods (Soxhlet, cold pressing, and ultrasound) of *Nigella sativa* seeds showed that the highest yield was obtained by Soxhlet extraction (33.74%), followed by cold pressing (16%), while ultrasound gave the lowest yield (4.49%). From a bioactive perspective, the ultrasonic extract, despite its low yield, exhibited higher polyphenol content and strong antioxidant activity ( $IC_{50} = 19.14$  mg/mL, DPPH test). Regarding physicochemical characteristics (AI, SI, PI, II), the cold-pressed oil proved to be of better quality, with lower acidity (5.93%) and a higher refractive index (1.435 at 25 °C), indicating better stability and optimal preservation of its chemical properties. Microbiological analysis showed that cold pressing was the most effective against Gram-positive bacteria, particularly *Staphylococcus aureus* (inhibition zone of 21 mm), while Soxhlet and ultrasound showed more targeted effects against certain Gram-negative strains. These results highlight the importance of choosing the extraction method according to the intended objective: yield, quality, or bioactivity.

**Keywords :** Vegetable oils, *Nigella sativa*, extraction methods, antioxidant activity, physicochemical properties, antimicrobial activity.