

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



جامعة باجي مختار - عنابة  
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR - ANNABA



FACULTE DES SCIENCES  
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE  
LABORATOIRE DE BIOCHIMIE ET MICROBIOLOGIE APPLIQUEE

## THÈSE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de DOCTORAT LMD 3<sup>ème</sup> Cycle

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Fondamentale et Appliquée

### THÈME

**Effet préventif de la nigelle (*Nigella sativa*) contre la toxicité induite par les huiles de friture chez les rats wistar**

Présentée par : M<sup>lle</sup> LAOUAICHIA Rania

Directeur de thèse : SAKA Saad

Prof. Université Badji Mokhtar-Annaba

Membres de Jury:

Président: ABDENNOUR Cherif

Prof. Université Badji Mokhtar-Annaba

Examineurs : BOUASLA Ihcene

MCA. Université Badji Mokhtar-Annaba

BOUSSEKINE Samira

Prof. Université Larbi Tébessi-Tébessa

LAYACHI Naima

MCA. Université Med Chérif Messaadia-Souk Ahras

Année Universitaire : 2023/2024

## **Remerciements**

Tout d'abord, je remercie Allah, le Tout-Puissant, de m'avoir donné la force, la volonté, la santé et la patience pour réaliser et achever ce travail.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à mon directeur de thèse Pr. Saka Saad (Université Badji Mokhtar-Annaba), qui a accepté la conduite et la direction de ma thèse, pour ses précieux conseils, sa patience, son encadrement et ses encouragements tout au long de ce travail.

Je remercie amplement Pr. Abdennour Cherif. (Université Badji Mokhtar-Annaba), qui m'a fait l'honneur d'accepter d'être président de jury et de m'avoir accueillie dans son Laboratoire.

Mes remerciements les plus sincères s'adressent aux Pr. Boussekine Samira (Université Larbi Tébessi-Tébessa), MCA. Bouasla Ihcene (Université Badji Mokhtar-Annaba) et MCA. Layachi Naima (Université Med Chérif Messaadia- Souk Ahras) pour l'importance qu'elles ont accordée à mon travail en acceptant d'être membres de ce jury et pour le temps qu'elles ont consacré à l'évaluation de cette recherche scientifique.

Un immense merci à Dr. Bensouici Chawki et à son équipe du laboratoire de Biochimie du CRBT (Constantine, Algérie) pour leur accueil au sein du laboratoire et pour l'aide qu'ils m'ont apportée durant mon stage.

Je remercie également Pr. HadeF.Y et Pr. Amoura.K (Faculté de Médecine Annaba)

Je souhaite aussi remercier tous les membres du Laboratoire CGS Seybouse la Belle (Annaba, Algérie), du Laboratoire d'Analyses Médicales de l'Hôpital El-hadjar (Annaba, Algérie) et du Laboratoire d'Anatomie Pathologique de l'Hôpital "IBN ROCHD" (Annaba, Algérie).

Un grand hommage est rendu aux membres du Département de Biochimie, aux membres du laboratoire de Biochimie et Microbiologie Appliquées, à l'ensemble de mes enseignants tout au long de mon cursus.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à mes chers parents pour leur patience, leur soutien, leurs encouragements et leurs sacrifices pendant toutes ces années d'études

Je remercie chaleureusement mon frère, ma sœur et mon fiancé pour leur aide, leur motivation et leurs encouragements.

Enfin, je remercie tous ceux qui m'ont aidé et soutenu, de près ou de loin, lors de la réalisation de cette thèse.

---

### Résumé

**Objectif :** Les humains sont plus exposés que jamais aux risques liés à l'utilisation d'huile de friture, car de plus en plus de personnes consomment des aliments frits et des repas rapides. Le stress oxydatif résultant de la consommation d'huile de friture induit de nombreuses complications. Les antioxydants naturels faisant l'objet de recherches actuelles, cette étude vise à évaluer l'activité antioxydante des graines de la nigelle (*Nigella sativa*) contre les désordres métaboliques, oxydatifs et cytologiques induits par l'huile de friture.

**Matériels et méthodes :** les caractéristiques physicochimiques de deux types d'huile de friture et ordinaire ont été évaluées en déterminant l'indice de peroxyde, l'acidité, l'humidité et l'intensification de la couleur. Dans l'étude phytochimique, nous avons identifié les composés phénoliques par HPLC et déterminé les polyphénols totaux, les flavonoïdes et l'activité antioxydante par des tests DPPH, ABTS et CUPRAC. Dans l'étude *in vivo*, Quatre groupes de quarante rats *Albinos wistars* mâles ont été nourris avec de l'huile (ordinaire ou de friture) et/ou de la nigelle pendant trente jours de suite. Le premier groupe (HO-0): a servi de témoin et a reçu de l'eau avec un régime alimentaire normal contenant 7 % d'huile ordinaire. Le second groupe (HO-N): a reçu de l'eau et un régime alimentaire expérimental contenant 2 % de poudre de la nigelle. Le troisième groupe (HF-0): a reçu un régime alimentaire contenant 7 % d'huile de friture. Le quatrième groupe (HF-N): a reçu un régime expérimental contenant une combinaison de 7 % d'huile de friture et de 2 % de poudre de nigelle.

**Résultats :** Les taux de peroxydes toxiques dans l'huile de friture sont très élevés, d'après les analyses physico-chimiques. Trois composés phénoliques ont été identifiés dans l'extrait hydrométhanolique de *Nigella sativa*. Cet extrait a montré la présence de teneurs importantes en polyphénols totaux et en flavonoïdes et a ainsi démontré une bonne activité de piégeage des radicaux libres et de chélation des métaux de transition. La consommation d'huile de friture entraîne une augmentation significative des paramètres biochimiques, hématologiques et une intensification de l'état de stress oxydant par rapport au groupe témoin. En outre, les coupes histologiques hépatiques et rénales des rats nourris à l'huile de friture présentent une architecture perturbée. En revanche, le traitement avec des graines de nigelle a révélé une réduction de l'effet toxique d'huile de friture en améliorant tous les paramètres étudiés.

**Conclusion :** Nos résultats suggèrent que la nigelle peut réduire la toxicité induite par les huiles de friture. La supplémentation de cette épice pourrait être une méthode simple, peu coûteuse et utile pour protéger quiconque exposé à des composés toxiques produits de la friture des aliments.

**Mot clés:** Huile de friture, *Nigella sativa*, stress oxydatif, activité antioxydante, composé phénolique, HPLC.

---

## ملخص

إن الاستخدام المتكرر لزيت القلي يهدد الإنسان أكثر من أي وقت مضى، بسبب زيادة استهلاك الأطعمة المقلية والسريعة. الإجهاد التأكسدي الناتج عن استهلاك زيت القلي يسبب العديد من المضاعفات. نظرًا لأن مضادات الأكسدة الطبيعية هي موضوع البحث الحالي، تهدف هذه الدراسة إلى تقييم النشاط المضاد للأكسدة لبذور حبة البركة ضد الاضطرابات الأيضية والتأكسدية والخلوية التي يسببها زيت القلي.

**المواد والطرق:** قيمت الخصائص الفيزيائية والكيميائية لنوعين من الزيوت القلي والعادي من خلال تحديد قيمة البيروكسيد، الحموضة، الرطوبة وتكثيف اللون. في دراسة الكيمياء النباتية، لقد حددنا المركبات الفينولية بواسطة HPLC وإجمالي المركبات الفينولية والفلافونويد ونشاط مضادات الأكسدة بواسطة فحوصات DPPH، ABTS، وCUPRAC. في الجزء الحي، أربع مجموعات وتم علاجهم لمدة ثلاثين يومًا متتالية بزيت القلي و / أو حبة البركة. المجموعة الأولى **HO-0** استعملت كشاهدة وتلقت الماء ونظام غذائي عادي يحتوي على 7٪ زيت عادي. المجموعة الثانية **HO-N** تلقت الماء ونظام غذائي يحتوي على 2٪ مسحوق حبة البركة. المجموعة الثالثة **HF-0** تلقت نظام غذائي يحتوي على 7٪ زيت قلي. المجموعة الرابعة **HF-N** تلقت نظام غذائي يحتوي على مزيج من 7٪ زيت قلي و 2٪ مسحوق حبة البركة.

**النتائج:** تشير التحليلات الفيزيائية والكيميائية إلى أن زيت القلي يحتوي على تركيزات عالية جدًا من المواد السامة مقارنة بزيت الطعام. تم تحديد ثلاثة مركبات فينولية في المستخلص الهيدروميثانولي من حبة البركة. أظهر هذا المستخلص وجود مستويات عالية من البوليفينول الكلي والفلافونويد وبالتالي أظهر نشاطًا جيدًا في إزالة الجذور الحرة ومعادن الانتقال المستخلبة. يؤدي استهلاك زيت القلي إلى زيادة في المؤشرات البيوكيميائية والدموية وتكثيف حالة الإجهاد التأكسدي مقارنة بالمجموعة الشاهدة. بالإضافة إلى ذلك، أظهرت المقاطع النسيجية للكبد والكلية النسيجية للفئران التي تتغذت على الزيت اضطرابات في بنية المقاطع النسيجية. من ناحية أخرى، أظهرت المعاملة ببذور حبة البركة انخفاضًا في التأثير السام لزيت القلي من خلال تحسين جميع العوامل المدروسة.

**الختام:** تشير نتائجنا إلى أن حبة البركة قللت من السمية الناتجة عن زيوت القلي. يمكن أن تكون إضافة هذه التوابل طريقة بسيطة وغير مكلفة ومفيدة لحماية أي شخص يتعرض للمركبات السامة الناتجة عن قلي الأطعمة.

**الكلمات المفتاحية:** زيت القلي، حبة البركة، الإجهاد التأكسدي، نشاط مضادات الأكسدة، مركب فينوليكي، HPLC

## Summary

**Purpose:** More people than ever are exposed to the risks associated with the use of frying oil, as more and more people consume fried foods and fast food. The oxidative stress resulting from the consumption of fried oil induces many complications. As natural antioxidants are currently under investigation, this study aims to evaluate the antioxidant activity of nigella seeds (*Nigella sativa*) against metabolic, oxidative and cytological disorders induced by fried oil.

**Materials and methods:** The physicochemical characteristics of two types of frying and ordinary oil were evaluated by determining the peroxide value, acidity, moisture and colour intensification. In the phytochemical study, we identified the phenolic compounds by HPLC and determined total phenolic compounds, flavonoids and antioxidant activity by DPPH, ABTS and CUPRAC tests. In the in vivo part four groups of forty male *Albino wistar* rats were fed oil (ordinary or frying oil) and/or black cumin for thirty continuous days. The first group (HO-0): served as a control and received water with a normal diet containing 7% of ordinary oil. The second group (HO-N): received water and an experimental diet containing 2% nigella powder. The third group (HF-0): received a diet containing 7% frying oil. The fourth group (HF-N): received an experimental diet containing a combination of 7% frying oil and 2% nigella powder.

**Results:** The levels of toxic peroxides in frying oil are very high, according to physico-chemical analyses. Three phenolic compounds were identified in the hydromethanolic extract of *Nigella sativa*. This extract showed the presence of high levels of total polyphenols and flavonoids and thus demonstrated good free radical scavenging and transition metal chelation activity. Consumption of frying oil leads to a significant increase in biochemical and haematological parameters and an intensification of the oxidative stress state compared to the control group. In addition, the liver and kidney histological sections of the fried oil-fed rats show a disturbed architecture. In contrast, treatment with nigella seeds revealed a reduction in the toxic effect of frying oil by improving all parameters studied.

**Conclusion:** Our results suggest that nigella can reduce toxicity induced by frying oils. Supplementation with this spice could be a simple, inexpensive and useful method to protect anyone exposed to toxic compounds produced by frying foods.

**Keywords:** Frying oil, *Nigella sativa*, oxidative stress, antioxidant activity, phenolic compound, HPLC.

---

## Liste des abréviations

<b>ABTS:</b>	2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)
<b>AGI:</b>	Acide gras insaturé
<b>ALAT:</b>	Alanine aminotransférase
<b>ASAT:</b>	Aspartate aminotransférase
<b>Bil-D:</b>	Bilirubine directe
<b>Bil-T:</b>	Bilirubine totale
<b>BSA:</b>	Sérum de l'albumine bovine
<b>ADN:</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>BHA:</b>	2(3)-t-Butyl-4-hydroxyanisole
<b>BHT:</b>	,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol
<b>CAT:</b>	Catalase
<b>CCMH:</b>	Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine
<b>CDNB:</b>	1-chloro,2,4-dinitrobenzène
<b>Chol-T:</b>	Cholestérol total
<b>Cu<sup>2+</sup>:</b>	Ion cuivreux
<b>CUPRAC:</b>	Capacité antioxydante par réduction de cuivre
<b>DL<sub>50</sub>:</b>	Dose létal qui tue 50% d'une population
<b>DPPH:</b>	2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle
<b>DTNB:</b>	Acide 5,5 dithio-bis-2-nitrobenzoïque
<b>EDTA:</b>	Acide Ethylène Diamine Tétra-acétique
<b>ERA:</b>	Espèces réactives d'azote
<b>ERO:</b>	Espèces réactives de l'oxygène
<b>Fe<sup>2+</sup>:</b>	Ion ferreux
<b>Fe<sup>3+</sup>:</b>	Ion ferrique
<b>GB:</b>	Globules blancs
<b>GPx:</b>	Glutathion peroxydase
<b>GR:</b>	Glutathion réductase
<b>GSH:</b>	Glutathion réduit
<b>GSSG:</b>	Glutathion oxydé

---

<b>GST:</b>	Glutathion-S-transférase
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:</b>	Peroxyde d'hydrogène
<b>Hb:</b>	Hémoglobine
<b>HF:</b>	Huile de friture
<b>HO:</b>	Huile ordinaire
<b>HO<sub>2</sub>·:</b>	Radical ydroperoxyde
<b>HPLC:</b>	high performance liquid chromatography
<b>HT:</b>	Hématocrite
<b>IC<sub>50</sub>:</b>	Concentration inhibitrice a 50%
<b>INF:</b>	Interféron
<b>LDL:</b>	Low density lipoprotein
<b>LOO·:</b>	Radical peroxyde lipidique
<b>LOOH:</b>	Hydroperoxyde lipidique
<b>LY:</b>	Lymphocytes
<b>MDA:</b>	Malonyldialdéhyde
<b>MO:</b>	Monocytes
<b>Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>:</b>	Thiosulfate de sodium
<b>NADPH:</b>	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit
<b>NaOH:</b>	Hydroxyde de sodium
<b>NO·:</b>	Monoxyde d'azote
<b>NO<sub>2</sub>·:</b>	Radical dioxyde d'azote
<b>NOS:</b>	Oxyde nitrique synthase
<b>NS:</b>	<i>Nigella sativa</i>
<b><sup>1</sup>O<sub>2</sub>:</b>	Oxygène singulet
<b>O<sub>2</sub>·:</b>	Radical superoxyde
<b>O<sup>3</sup>:</b>	ozone
<b>OH·:</b>	Radical hydroxyle
<b>OMS:</b>	Organisation Mondiale de la Santé
<b>ONOO·:</b>	Anion peroxydinitrite
<b>PAL:</b>	Phosphatase alcaline
<b>PLT:</b>	Plaquettes

---

<b>Prx:</b>	Peroxyrédoxine
<b>RL:</b>	Radicaux libres
<b>ROO<sup>•</sup>:</b>	Radical peroxy
<b>ROOH:</b>	Hydroperoxyde lipidique
<b>ROS:</b>	Reactive oxygen species
<b>SOD:</b>	Superoxyde dismutase
<b>SSA:</b>	Acide sulfosalicylique
<b><math>\alpha</math>-To<sup>•</sup>:</b>	$\alpha$ -tocophéroxyle
<b><math>\alpha</math>-TocH:</b>	$\alpha$ -tocophérol
<b>TBA:</b>	Acide thiobarbiturique
<b>TBARS:</b>	Thiobarbituric acid-reactive species
<b>TBS:</b>	Tris-buffered saline
<b>TCA:</b>	Trichloroacétique
<b>TG:</b>	Triglycéride
<b>TQ:</b>	Thymoquinone
<b>TRP:</b>	Transient receptor potential
<b>Trx:</b>	Thiorédoxine
<b>VGM:</b>	Volume globulaire moyen des hématies

---

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Schéma générale des réactions d'oxydation des AGI	6
<b>Figure 2:</b> Mécanisme de la réaction de Diels-Alder de l'huile végétale	7
<b>Figure 3:</b> Mécanisme d'hydrolyses des huiles par l'effet de la vapeur des aliments pendant la friture	8
<b>Figure 4:</b> Le processus de formation de la réaction de Maillard	9
<b>Figure 5:</b> Les deux réactions de la synthèse du NO catalysées par la NOS	13
<b>Figure 6:</b> Mécanisme en chaîne de la peroxydation lipidique des acides gras polyinsaturés	15
<b>Figure 7:</b> Les conséquences les plus fréquentes de l'oxydation des protéines	16
<b>Figure 8:</b> Lésions de l'ADN causées par les attaques des radicaux libres	17
<b>Figure 9:</b> Conversion du glutathion oxydé (GSSG) en forme réduite (GSH) par la glutathion réductase	21
<b>Figure 10:</b> Le réseau redox antioxydant	22
<b>Figure 11:</b> Aspect morphologique de <i>Nigella sativa</i> Fleur	26
<b>Figure 12:</b> Schéma récapitulatif du protocole expérimental	38
<b>Figure 13:</b> Les étapes de l'étude histologiques	58
<b>Figure 14:</b> Chromatogramme (HPLC-UV) de l'extrait hydrométhanolique de <i>N. sativa</i>	60
<b>Figure 15:</b> Taux du glutathion tissulaire (nM/mg prot) chez les rats témoins (HO-0) et les rats traités (HO-N, HF-0, HFN) après 30 jours de traitement	66
<b>Figure 16:</b> Taux du malondialdéhyde tissulaires (nM/mg de tissu) chez les rats témoins (HO-0) et les rats traités (HO-N, HF-0, HF-N) après 30 jours de traitement	67

<b>Figure 17:</b> Variation de l'activité enzymatique de la GPx (nmol/ mg de protéines) chez les rats témoins (HO-0) et les rats traités (HO-N, HF-0, HF-N) dans le foie, les reins et l'intestins après 30 jours de traitement	68
<b>Figure 18:</b> Variation de l'activité enzymatique de la GST (nmol GSH-CDNB/min/mg de protéines) chez les rats témoins (HO-0) et les rats traités (HO-N, HF-0, HF-N) dans le foie, les reins et l'intestin après 30 jours de traitement	68
<b>Figure 19:</b> Variation de l'activité enzymatique de la CAT ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les rats témoins (HO-0) et les rats traités (HO-N, HF-0, HF-N) dans le foie, les reins et l'intestin après 30 jours de traitement	69
<b>Figure 20:</b> Coupe histologique du foie chez les rats témoins (HO-0) et les rats traités (HO-N, HF-0, HF-N) après 30 jours de traitement. Microscopie optique ( $\times 400$ , H&E)	70
<b>Figure 21:</b> Coupe histologique des reins chez les rats témoins (HO-0) et les rats traités (HO-N, HF-0, HF-N) après 30 jours de traitement	71

---

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Principaux types d'espèces radicalaires, non radicalaires et de l'azote	12
<b>Tableau 2:</b> Composition du régime alimentaire pour 1 kg d'aliment	36
<b>Tableau 3:</b> Analyses physico-chimiques des huiles ordinaire (HO) et friture (HF)	59
<b>Tableau 4:</b> Le rendement en pourcentage de l'extrait hydrométhanolique de <i>N. sativa</i>	59
<b>Tableau 5:</b> Teneur totale en polyphénols et flavonoïdes de l'extrait de <i>N. sativa</i>	60
<b>Tableau 6:</b> Activité antioxydante de l'extrait de <i>N. sativa</i>	61
<b>Tableau 7:</b> Variation des poids corporels (g) et des rapports organo-somatiques (%) chez les rats témoins (HO-0) et les rats traités (HO-N, HF-0, HF-N) après 30 jours de traitement	62
<b>Tableau 8:</b> Variation de la concentration du glucose sanguin chez les rats témoins (HO-0) et les rats traités (HO-N, HF-0, HF-N) après 30 jours de traitement	62
<b>Tableau 9:</b> Variation de la concentration sérique de l'urée, créatinine et acide urique chez les rats témoins (HO-0) et les rats traités (HO-N, HF-0, HF-N) après 30 jours de traitement	63
<b>Tableau 10:</b> Variation de l'activité enzymatique de l'ASAT, l'ALAT, la PAL, et la concentration sérique en TBIL et DBIL chez les rats témoins (HO-0) et les rats traités (HO-N, HF-0, HF-N) après 30 jours de traitement	64
<b>Tableau 11:</b> Variation de la concentration sérique des triglycérides et du cholestérol chez les rats témoins (HO-0) et les rats traités (HO-N, HF-0, HF-N) après 30 jours de traitement	64
<b>Tableau 12:</b> Variation des paramètres hématologiques chez les rats témoins (HO-0) et les rats traités (HO -N, HF-0, HF-N) après 30 jours	65

## Sommaire

Remerciements	
Résumés	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction . . . . .	1

### Chapitre 1 : Huiles Végétales

1. Huiles végétales. . . . .	4
1.1. Composition des huiles végétales. . . . .	4
1.2. Définition de la friture des huiles. . . . .	4
1.3. Types de fritures des huiles. . . . .	5
1.4. Réactions de dégradation des huiles de friture. . . . .	5
1.5. Modification de l'aliment au cours des fritures. . . . .	8
1.6. Choix des huiles utilisées lors de la friture. . . . .	9

### Chapitre 2 : Stress Oxydant

2. Stress oxydant. . . . .	11
2.1. Définition du stress oxydant. . . . .	11
2.2. Espèces réactives de l'oxygène et les radicaux libres. . . . .	11
2.3. Sources des espèces réactives oxygénées. . . . .	12
2.3.1. Sources endogènes des espèces réactives oxygénées. . . . .	12
2.3.2. Sources exogènes des espèces réactives oxygénées. . . . .	13
2.4. Cibles biologiques des espèces réactives oxygénées. . . . .	14
2.4.1. Stress oxydant et altérations des lipides. . . . .	14
2.4.2. Stress oxydant et altérations des protéines et des acides aminés . . . . .	15
2.4.3. Stress oxydant et altération des acides nucléiques. . . . .	16
2.5. Systèmes de défense contre le stress oxydant (antioxydants) . . . . .	17
2.5.1. Antioxydants enzymatiques. . . . .	17

---

2.5.1.1. Super oxyde dismutase (SOD) . . . . .	18
2.5.1.2. Catalase (CAT) . . . . .	18
2.5.1.3. Glutathion peroxydase (GPx) . . . . .	18
2.5.1.4. Glutathion réductases (GR) . . . . .	19
2.5.1.5. Glutathion S-transférase (GST) . . . . .	19
2.5.1.6. Système peroxyrédoxine/thiorédoxine (Prx/Trx) . . . . .	20
2.5.2. Antioxydants non enzymatique. . . . .	20
2.5.2.1. Glutathion (GSH) . . . . .	20
2.5.2.2. Vitamine E. . . . .	21
2.5.2.3. Vitamine C. . . . .	22
2.5.2.4. Caroténoïdes. . . . .	23
2.5.2.5. Polyphénols. . . . .	23

### Chapitre 3 : Nigelle (*Nigella sativa*)

3. Nigelle ( <i>Nigella sativa</i> ) . . . . .	24
3.1. Introduction sur la nigelle. . . . .	24
3.2. Historique sur la nigelle. . . . .	24
3.3. Description botanique de la nigelle. . . . .	25
3.4. Dénomination de la nigelle. . . . .	26
3.5. Habitat de la nigelle. . . . .	27
3.6. Composition chimique de la graine de <i>Nigella sativa</i> . . . . .	27
3.7. Utilisation de la nigelle en phytothérapie. . . . .	27
3.8. Activités pharmacologiques de <i>Nigella sativa</i> . . . . .	28
3.8.1. Activités antibactériennes. . . . .	28
3.8.2. Activités antifongiques. . . . .	28
3.8.3. Activités antivirales. . . . .	29
3.8.4. Activités antiparasitaires. . . . .	29
3.8.5. <i>Nigella sativa</i> dans l'infection des plaies. . . . .	29
3.8.6. Activités antioxydantes. . . . .	30
3.8.7. Activités anti-inflammatoires. . . . .	30
3.8.8. Activité anticancéreuse. . . . .	30

---

3.8.9. Activités antidiabétiques. . . . .	31
3.8.10. Activités cardiovasculaires. . . . .	31
3.8.11. Activité hépato-protectrice. . . . .	32
3.8.12. Activité néphroprotectrice. . . . .	32
3.9. La toxicité de <i>Nigella sativa</i> . . . . .	32

## Chapitre 4: Matériel et méthodes

4. Matériel et méthodes. . . . .	34
4.1. Matériel. . . . .	34
4.1.1. Produits chimiques. . . . .	36
4.1.2. Préparation de l'huile de friture. . . . .	36
4.1.3. Préparation de la poudre de la nigelle. . . . .	36
4.1.4. Entretien et traitement des animaux. . . . .	35
4.2. Méthodes. . . . .	38
4.2.1. Analyses physicochimiques des huiles . . . . .	38
4.2.1.1. Détermination de l'acidité des huiles. . . . .	38
4.2.1.2. Détermination de l'indice de peroxyde (PV) des huiles. . . . .	38
4.2.1.3. Détermination de l'humidité des huiles. . . . .	39
4.2.1.4. Détermination de la couleur des huiles. . . . .	39
4.2.2. Etude phyto-chimique de la nigelle. . . . .	39
4.2.2.1. Préparation d'extrait de la nigelle. . . . .	39
4.2.2.2. Analyse HPLC. . . . .	39
4.2.2.3. Dosages des polyphénols totaux (TPC) . . . . .	40
4.2.2.4. Dosage de la teneur totale en flavonoïdes (TFC). . . . .	41
4.2.3. Activité antioxydante de l'extrait de la nigelle. . . . .	42
4.2.3.1. Activité de piégeage des radicaux DPPH. . . . .	42
4.2.3.2. Activité de piégeage des radicaux ABTS. . . . .	43
4.2.3.3. Capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC). . . . .	44
4.2.4. Dosage des paramètres biochimiques. . . . .	45
4.2.5. Dosage des paramètres hématologiques. . . . .	46
4.2.6. Dosage des paramètres du stress oxydant. . . . .	47

---

---

4.2.6.1. Préparations des homogénats et surnageants tissulaires. . . . .	47
4.2.6.2. Dosage du glutathion. . . . .	47
4.2.6.3. Dosage du malondialdéhyde. . . . .	49
4.2.6.4. Dosage d'activité enzymatique de la glutathion peroxydase. . . . .	50
4.2.6.5. Dosage d'activité enzymatique de la glutathion S-transférase. . . . .	52
4.2.6.6. Dosage d'activité enzymatique de la catalase. . . . .	53
4.2.6.7. Dosage des protéines tissulaires. . . . .	53
4.2.7. Etude histologique. . . . .	54
4.2.8. Analyse statistique des résultats. . . . .	59

## Chapitre 5 : Résultats

5. Résultats. . . . .	60
5.1. Analyse physico-chimique des huiles. . . . .	60
5.2. Etude phytochimique de la nigelle. . . . .	60
5.2.1. Rendements d'extraction. . . . .	60
5.2.2. Analyse HPLC. . . . .	60
5.2.3. Teneur totale en polyphénols et en flavonoïdes. . . . .	61
5.2.4. Activité antioxydante. . . . .	62
5.3. L'effet du traitement sur les paramètres pondéraux. . . . .	62
5.4. Influence du traitement sur les paramètres biochimiques. . . . .	63
5.4. 1. Influence du traitement sur la glycémie. . . . .	63
5.4.2. Influence du traitement sur la fonction rénale. . . . .	64
5.4.3. Influence du traitement sur la fonction hépatique. . . . .	64
5.4.4. Influence du traitement sur le profile lipidique. . . . .	65
5.5. Influences du traitement sur les paramètres hématologiques. . . . .	65
5.6. Influence du traitement sur les paramètres du stress oxydant. . . . .	66
5.6.1. Influence du traitement sur le glutathion tissulaire. . . . .	66
5.6.2. Influence du traitement sur le malondialdéhyde. . . . .	67
5.6.3. Influence du traitement sur l'activité des enzymes antioxydantes. . . . .	68
5.7. Influence du traitement sur l'histologie. . . . .	70
5.7.1. Coupes histologiques hépatiques. . . . .	70

---

5.7.2. Coupes histologiques rénales. . . . . 71

**Chapitre 6 : Discussion**

Discussion. . . . . 74  
Conclusion et perspectives. . . . . 88  
Références bibliographiques. . . . . 90  
Annexes. . . . .

---

---

# *Introduction*

---

## **Introduction**

Au cours de ces dernières années, la consommation d'aliments frits a considérablement augmenté, Cela est dû à la préférence des consommateurs mais aussi au fait que la friture donne une saveur, une couleur et une texture attrayante aux aliments. Malheureusement, la plupart des consommateurs ne sont pas conscients des risques liés à la consommation répétée d'aliments frits en raison du faible niveau de sensibilisation du public aux conséquences de cette pratique. En effet, pendant la friture, diverses réactions chimiques se produisent, notamment l'oxydation thermique, due à l'exposition de l'huile à des températures élevées en présence d'air et d'humidité. Par conséquent, l'huile de cuisson se désintègre et génère des composants volatils et non volatils, différents monomères et polymères (Andrikopoulos *et al.*, 2002). Les températures élevées associées à l'utilisation répétée de la même huile entraînent la dégradation de certains acides gras, formant de nombreux composés polymères toxiques, des composés polaires et des peroxydes (Saka *et al.*, 2002). Ces composés toxiques finissent par dégrader la qualité de l'huile de friture. De nombreuses études suggèrent que l'utilisation répétée de l'huile de friture peut également modifier la configuration des acides gras, de l'isomère *cis* à l'isomère *trans*, ce qui donne des acides gras non naturels et indigestes (Ben Hammouda *et al.*, 2018).

Lorsque les gens consomment continuellement des aliments frits, qui contiennent une quantité considérable d'huile oxydée contenant des espèces réactives de l'oxygène (ROS) dangereuses et des composés toxiques, leur corps est constamment exposé à un état de stress oxydatif nocif. Ce phénomène est le résultat d'un déséquilibre entre le système de défense oxydatif et l'hyperformation de substances oxydantes, dont les radicaux libres (Saka *et al.*, 2002) qui font partie des espèces réactives de l'oxygène (ROS) telles que les radicaux hydroxyles (- OH), l'anion superoxyde (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) et l'oxygène singulet (1O<sub>2</sub>) (Kehili *et al.*, 2017).

Les ROS peuvent détruire les cellules en endommageant les lipides membranaires, les protéines et permettre une modification irréversible de l'ADN. De plus, les dommages oxydatifs peuvent être aggravés par la diminution des activités des enzymes antioxydantes telles que la catalase (CAT), la glutathion S-transférase (GST) et la glutathion peroxydase (GPx). Ils peuvent même provoquer une déplétion des antioxydants endogènes et stimuler la peroxydation des lipides membranaires (Aouacheri et Saka, 2020). Cela peut éventuellement provoquer des

maladies chroniques, notamment l'hypertension, le diabète, l'inflammation vasculaire et les maladies coronariennes (Gargiulo *et al.*, 2017).

Les antioxydants naturels ont reçu beaucoup d'attention au cours des dernières décennies pour leur incorporation dans les aliments en tant qu'additifs afin de retarder les réactions d'oxydation responsables de la perte de leurs qualités nutritionnelles et organoleptiques (Lourenço *et al.*, 2019). Parmi les substances phytochimiques, les polyphénols sont reconnus comme les antioxydants naturels les plus puissants que l'on trouve dans les plantes comestibles et non comestibles, en raison de leur structure avec des groupes hydroxyle leur conférant des propriétés redox potentielles (Shahidi et Ambigaipalan, 2015).

Les plantes sont également considérées comme une source importante de thérapies pour traiter de nombreuses maladies en raison de la présence de divers composés phytochimiques. De nos jours, de nombreuses recherches ont été menées sur l'utilisation de produits à base de plantes comme antioxydants naturels en raison de leurs effets secondaires réduits et de leur disponibilité facile et bon marché (Aouacheri et Saka, 2020). La nigelle (*Nigella sativa*) est l'une des épices les plus utilisées au monde en raison de son riche passé historique et religieux, ainsi que pour ses propriétés médicinales. Des preuves suggèrent que la nigelle agit comme un antioxydant en piégeant les ROS (Kehili *et al.*, 2017). Tous les principaux composants actifs de la nigelle, tels que les composés phénoliques, la thymoquinone (TQ), le thymol, le carvacrol, l' $\alpha$ -hédérine et le P-cymène, ont montré un effet thérapeutique en tant que propriétés antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires et hépatoprotectrices (Kooti *et al.*, 2016). La supplémentation en antioxydants exogènes ou le renforcement des défenses antioxydantes endogènes de l'organisme se sont avérés être une méthode intéressante pour lutter contre les effets indésirables du stress oxydatif (Kasote *et al.*, 2013).

Partant de ce constat, la présente étude vise à évaluer l'effet protecteur de la nigelle en tant qu'antioxydant naturel sur le stress oxydatif chez les rats nourris avec de l'huile de friture. Notre travail sera divisé en deux parties, la première étant une revue de la littérature composée de trois chapitres. Dans le premier chapitre, nous présentons l'altération de l'huile de friture et son effet néfaste sur la santé. Le deuxième chapitre traite le stress oxydatif, les systèmes de défense antioxydants et les cibles du stress oxydatif. Le dernier chapitre est consacré à la description botanique de la nigelle, son utilisation en médecine traditionnelle et ses activités

pharmacologiques. La deuxième est la partie expérimentale, où nous exposons le protocole expérimental suivi avec les différentes méthodes de dosage ainsi que les résultats obtenus et leur discussion et à la fin une conclusion et des perspectives.

---

***Chapitre 1 :***  
***Huiles Végétales***

---

## Chapitre 1 : Huiles Végétales

### 1. Huiles végétales

Les graisses et les huiles comestibles font partie des composants de base de l'alimentation humaine, avec les glucides et les protéines. Les huiles végétales comestibles sont des triglycérides d'origine végétale qui comprennent l'huile d'olive, de palme, de soja, de canola et de tournesol (Ramadhas *et al.*, 2004). L'huile et la graisse sont des composants nutritionnels importants qui remplissent diverses fonctions dans le corps humain, comme source d'énergie, structures membranaires et régulation de la température corporelle (Endo, 2018).

#### 1.1. Composition des huiles végétales

Une matière grasse (parfois appelée huile ou graisse) est constituée de nombreux composants différents. La plus grande partie (95-99%) est constituée de triacylglycérols, qui se composent d'acides gras (90-95%) et de glycérol (3-5%). D'autres composants, tels que les lipides polaires comme les phospholipides (0,1-0,2%) et les substances dites insaponifiables appartenant à une fraction non glycéridique (0,1-3%) composée principalement de stérols, de tocophérols et de tocotriénols, sont naturellement présents en plus petites quantités. Des caroténoïdes, des alcools terpéniques, du squalène et des composés chimiques phénoliques sont également présents dans cette fraction (Morin et Pagès- Xatart-Parès, 2012).

#### 1.2. Définition de la friture des huiles

La friture est une méthode de préparation des aliments très ancienne et est encore très répandue de nos jours. La procédure de friture est largement utilisée dans les foyers, les restaurants et les industries alimentaires pour rendre les aliments plus attrayantes et délicieuses. Dans le processus de friture, les aliments sont cuits dans des graisses et des huiles chaudes. Les températures utilisées pour la friture se situent entre 160 °C et 200 °C. Les températures élevées favorisent les réactions entre les composants alimentaires comme les protéines et les glucides, la déshydratation superficielle de la croûte et l'absorption d'huile (Gertz, 2014).

### 1.3. Types de fritures des huiles

Les types de friture les plus utilisés à l'échelle culinaire sont avec et sans immersion complète dans l'huile. Sans immersion complète, elle est appelée friture plate ou friture à la poêle pour cuire un aliment avec une petite quantité d'huile, tandis qu'avec immersion complète, elle est appelée friture profonde est réalisée par immersion de l'aliment dans un grand volume d'huile (Fredot, 2012). Seule cette dernière a été industrialisée car c'est le seul moyen d'assurer un traitement uniforme et homogène sur toutes les surfaces du produit (Gertz, 2014).

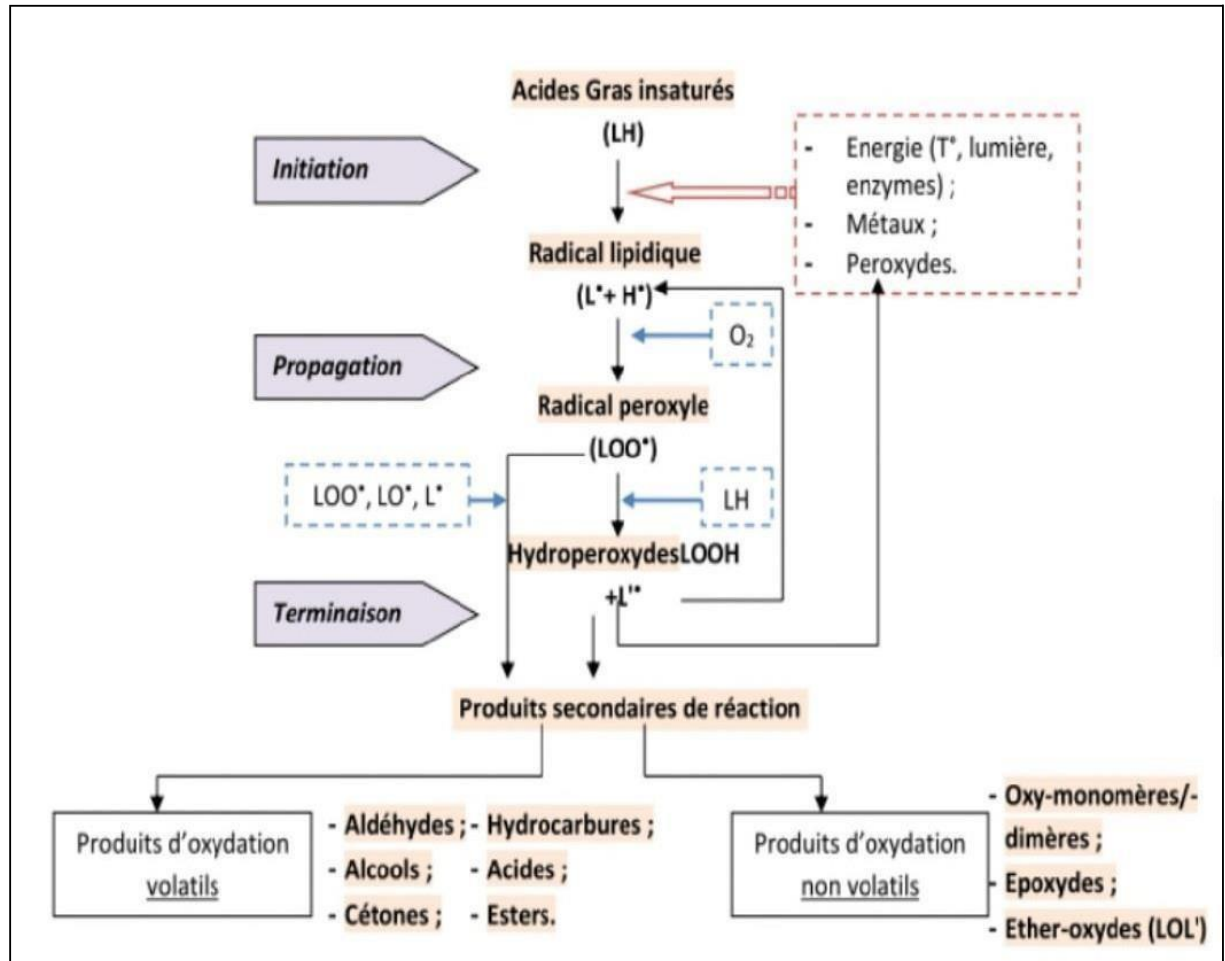
### 1.4. Réactions de dégradation des huiles de friture

Malgré le fait que la consommation d'une quantité limitée d'aliments frits ne nuit pas à la santé d'une personne normale, mais lorsque la même huile est frite de manière répétée, les dommages commencent à se produire (Goswami *et al.*, 2015). La formation d'acides gras, l'absorption d'oxygène et la température de l'huile jouent tous un rôle majeur dans la rapidité de la dégradation de l'huile de friture. L'oxydation, la polymérisation et l'hydrolyse sont les trois principales familles de réactions complexes que subissent les triglycérides lorsque les huiles et les graisses sont chauffées à des températures comprises entre 160°C et 200°C au contact de l'eau et de l'oxygène lors de la friture, qui donne naissance à des composés non volatils qui, en grande quantité, peuvent être toxiques, et à des composés volatils qui dégagent des odeurs indésirables à la suite de la dégradation des huiles. Warner, 2004).

✚ **Réaction d'oxydation :** les huiles comestibles contiennent principalement des acides gras, saturés et insaturés, qui sont liés au glycérol sous forme de triglycérides. Au contact de l'oxygène de l'air, les molécules de triglycérides dans l'huile de friture subissent une oxydation primaire en espèces lipidiques instables appelées hydroperoxydes, qui sont ensuite décomposés en composés volatils (Sikorski et Kolakowska, 2002). Ces composés, également appelés produits secondaires, comprennent des aldéhydes, des cétones, des alcools, des acides, des hydrocarbures, des furanones et des lactones (Choe et Min, 2007).

Les composés volatils présents dans les huiles peuvent être décomposés en utilisant les monohydroperoxydes comme précurseurs par différents mécanismes ; ce processus génère un mélange complexe de substances volatiles et des composés à chaîne courte attachés au squelette glycéridique faisant partie des molécules non volatiles (composés conjugués, aldéhydes de poids moléculaire élevé, et autres). Alors que les substances volatiles sont en grande partie éliminées

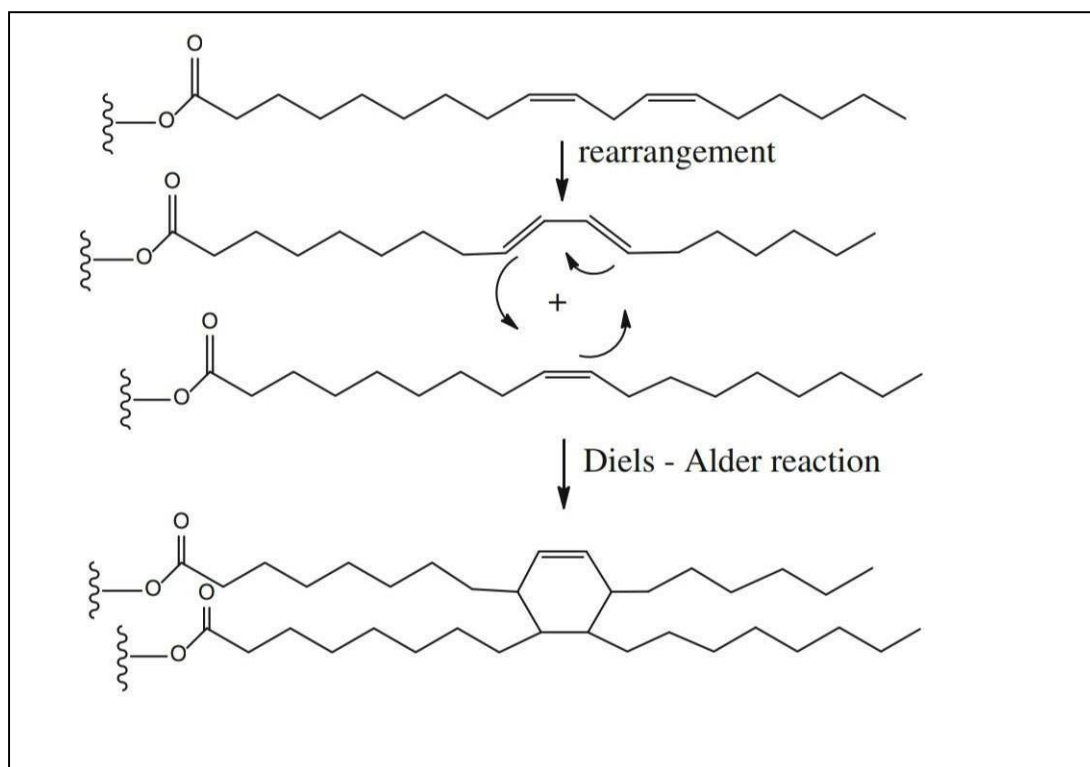
de l'huile pendant la friture et ont des répercussions sur le goût de l'huile de friture et des aliments frits, les composés non volatils restent dans l'huile de friture et sont absorbés par les aliments, ce qui modifie les propriétés nutritionnelles et physiologiques de l'huile (Boskou, 2015)(Figure 1).



**Figure 1** : Schéma générale des réactions d'oxydation des AGI (Eymard, 2003)

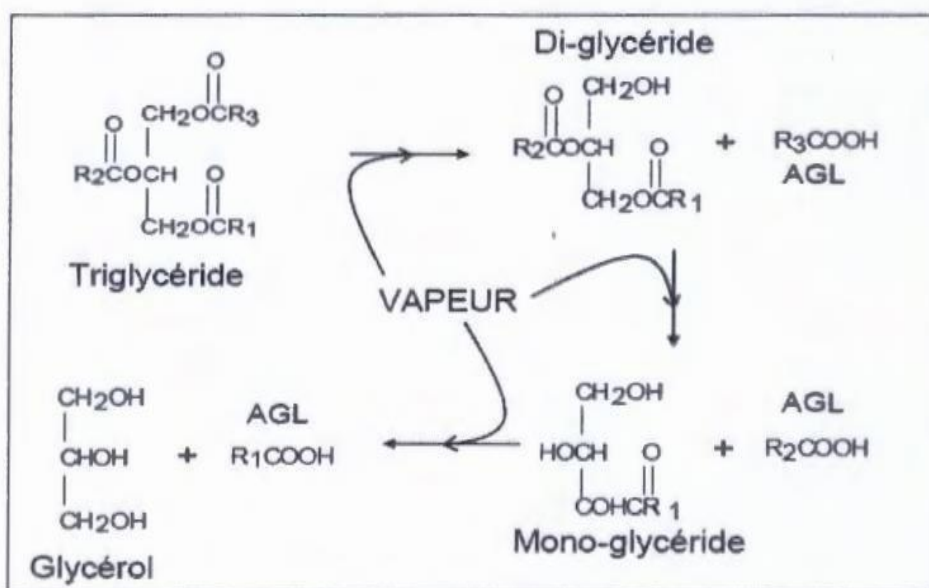
✚ **Réactions de polymérisation** : la polymérisation se produit pendant la friture, produisant une grande variété de réactions chimiques qui sont responsables de réarrangements inter et intramoléculaires et aboutissent à la formation des polymères à partir de radicaux libres ou de triglycérides par la réaction de Diels-Alder (Figure 2). La formation de polymères dépend du type d'huile, de la température de friture et du nombre de fritures. Plus le nombre de fritures et la température de friture augmentent, plus les quantités de polymères augmentent. L'huile riche en acide linoléique (18: 2 cis-9,12) est plus facilement polymérisée pendant la friture que l'huile

riche en acide oléique (18:1 cis-9). Les polymères formés lors de la friture sont riches en oxygène. Les composés polymères oxydés accélèrent l'oxydation de l'huile, ce qui entraîne une dégradation de l'huile, une augmentation de la viscosité, une réduction du transfert de chaleur, la formation de mousse pendant la friture et une couleur alimentaire indésirable. Les polymères sont également à l'origine de la forte absorption d'huile par les aliments (Dgcerf, 2012).



**Figure 2 :** Mécanisme de la réaction de Diels-Alder de l'huile végétale (Hwang *et al* 2013).

🌈 **Réactions d'hydrolyse :** L'humidité introduite dans les aliments frits et l'utilisation de températures très élevées entraînent une hydrolyse, qui est l'une des principaux processus de la friture. L'eau, la vapeur et l'oxygène déclenchent les réactions chimiques dans l'huile de friture au cours du processus de friture. L'eau, un nucléophile faible, rompt la liaison ester des triglycérides pour produire des di- et mono-glycérides, du glycérol et des acides gras libres. Ces substances sont extrêmement vulnérables aux réactions d'oxydation et de polymérisation, et les sous-produits qui en découlent sont à l'origine de la majorité des défauts de goût et d'odeur (figure 3). La teneur en acides gras libres de l'huile augmente au fur et à mesure qu'elle est utilisée pour la friture. Les acides gras insaturés courts sont plus solubles dans l'eau que les acides gras saturés longs. L'hydrolyse est donc davantage recommandée dans les huiles d'acides gras insaturés courts que dans les huiles d'acides gras saturés longs (Perkins, 2006).



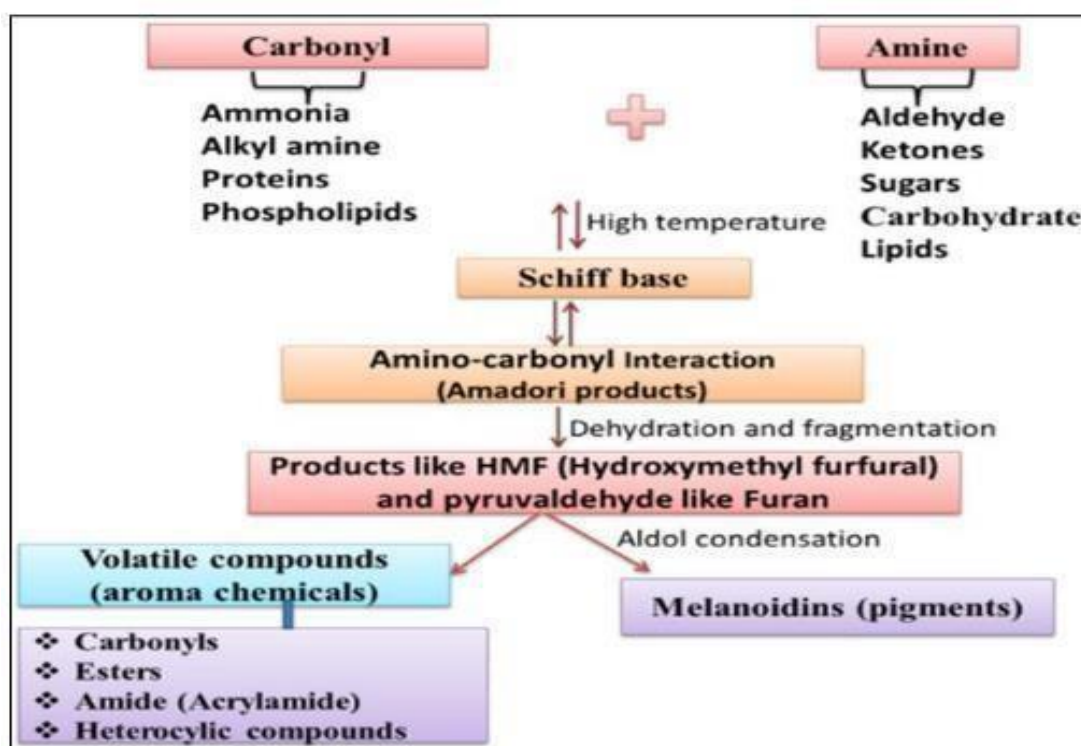
**Figure 3** : Mécanisme d'hydrolyses des huiles par l'effet de la vapeur des aliments pendant la friture (Warner, 2004)

### 1.5. Modification de l'aliment au cours des fritures

Les changements à la surface des aliments peuvent être causés par la caramélisation et/ou la réaction de Maillard (toutes deux responsables du développement de teintes dorées à brunes), ainsi que par l'évaporation de l'eau de surface, qui caractérise la formation de la croûte, responsable de la texture des aliments frits. Le développement de la couleur dans les aliments frits, est proportionnel à la quantité de sucres réducteurs dans l'aliment, puisque les réactions de brunissement et de Maillard sont toutes deux stimulées par le niveau d'oxydation de l'aliment, et aussi par les caractéristiques des pigments hémiques (Murata, 2020). La réaction de Maillard (brunissement non enzymatique) est considérée comme la réaction la plus importante dans le brunissement des aliments (Davis, 1994). Au cours de la friture, il s'agit de la principale réaction affectant les sucres qui implique les groupements amines libres ( $-NH_2$ ) des acides aminés, des peptides, des protéines, et les groupements carbonyles ou autres aldéhydes, et cétones des sucres. Plusieurs produits intermédiaires, appelés produits d'Amadori ou pré-mélanoïdines, sont rapidement polymérisés aux températures de friture, formant des molécules de couleur foncée (mélanoïdines). Le brunissement est plus rapide à des températures supérieures à 150 °C (Navas,

2005) (Figure 4).

Parmi tous les composés produits par la réaction de Maillard, on constate un intérêt croissant pour les composés toxiques, comme l'acrylamide. Ce dernier est connu pour être un composé neurotoxique, génotoxique et cancérigène chez l'animal, et est classé comme cancérigène probable chez l'homme (Iarc, 1994). La formation de l'acrylamide n'a pas été entièrement élucidée, mais il est établi qu'il se forme via la réaction de Maillard lorsque l'asparagine et les sucres réducteurs sont chauffés à haute température. L'activité de l'eau peut également influencer la formation de ce composé, avec la diminution de l'activité de l'eau, la formation d'acrylamide augmente (Miao *et al.*, 2013).



**Figure 4 :** Le processus de formation de la réaction de Maillard (Quelhas *et al.*, 2010; Viegas *et al.*, 2012).

### 1.6. Choix des huiles utilisées lors de la friture

Pour une consommation saine, les huiles insaturées sont préférables aux huiles saturées. Des études ont recommandé de passer des graisses saturées aux graisses insaturées en raison du risque de maladie cardiovasculaire associé à une consommation élevée d'acides gras saturés (De Souza *et al.*, 2015). Pour préserver sa qualité, l'huile de friture doit contenir le moins possible de

graisses polyinsaturées. Les huiles de friture les plus stables et celles qui se conservent le plus longtemps sont celles fabriquées à partir d'acides gras saturés (Bouchon, 2009).

L'influence du degré d'insaturation sur la stabilité oxydative des huiles a fait l'objet du plus grand intérêt. En général, Neff et ses collègues (1994) ont constaté que les taux de formation de peroxyde et de volatiles totaux dans l'espace de tête dépendaient du degré d'insaturation et des teneurs en acides linoléique et linolénique en position 2 de la fraction glycérol. Cependant, l'influence de l'emplacement des groupements acyles gras insaturés dans la molécule de triglycéride (TG) sur la stabilité oxydative est encore controversée (Neff et List, 1999). Cette stabilité dépend également de la teneur en tocophérols dans l'huile (dont Vit E), susceptibles d'exercer une action protectrice antioxydante (Xiu-Qin *et al.*, 2009).

Il est également important de tenir compte du point de fumée, qui est la température à laquelle les huiles et les graisses alimentaires commencent à brûler ou à se décomposer. Dans les processus de friture industrielle à pression atmosphérique, les graisses dont le point de fumée frais est inférieur à 200°C sont généralement considérées comme instables et ne doivent pas être utilisées. L'huile de friture sélectionnée doit présenter une bonne stabilité à la friture, une fluidité, une saveur fade, une faible tendance à mousser ou à fumer, une stabilité oxydative de l'huile dans les aliments frits pendant le stockage et un coût abordable (Kochhar, 1999).

---

***Chapitre 2 :***  
***Stress Oxydant***

---

## Chapitre 2 : Stress Oxydant

### 2. Stress oxydant

#### 2.1. Définition du stress oxydant

Un déséquilibre entre la production d'oxydants et les mécanismes de défense antioxydants d'un organisme est connu sous le nom de stress oxydatif. Cette définition du stress oxydatif implique que les cellules possèdent des systèmes pro- oxydants/antioxydants intacts qui génèrent et détoxifient en permanence les oxydants au cours du métabolisme aérobie normal (Luczaj *et al.*, 2017). Lorsque des événements oxydatifs supplémentaires se produisent, les systèmes pro- oxydants l'emportent sur les systèmes antioxydants, ce qui peut entraîner des dommages dans les biomolécules comme les lipides, les protéines et les acides nucléiques (Niki, 2018; Tu *et al.*, 2019), qui peuvent déclencher un certain nombre de maladies telles que le diabète, le cancer, etc. (Matschke *et al.*, 2019). (Matschke *et al.*, 2019).

#### 2.2. Espèces réactives de l'oxygène et les radicaux libres

Les molécules ou les espèces chimiques qui possèdent un électron non apparié (unique) dans leur orbite externe sont appelées radicaux libres (RL). Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les espèces réactives de l'azote (ERA) sont deux sources de ces substances (Dhawan, 2014). En raison de leur caractère électrophile, les espèces radicales ont tendance à arracher un électron à une molécule voisine afin d'apparier leur électron célibataire pour assurer leur stabilité. La molécule attaquée perd son électron et devient elle-même un radical libre, ce qui déclenche une cascade de réactions qui finissent par endommager la cellule vivante (Peña-Bautista *et al.*, 2019). Deux molécules d'eau sont produites lorsque plus de 90 % de l'oxygène utilisé par les cellules est réduit par catalyse par quatre électrons, mais lorsque certaines oxydases réduisent l'O<sub>2</sub> de moins de quatre électrons, elles peuvent donner naissance à des espèces d'oxygène partiellement réduites et très réactives (ROS). Ces espèces jouent un rôle important dans les fonctions physiologiques des organismes pendant une production contrôlée, mais au-delà de cette production, elles deviennent toxiques (Delattre *et al.*, 2005).

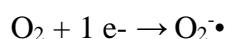
**Tableau 1:** Principaux types d'espèces radicalaires, non radicalaires et de l'azote (Patterson et al., 2019 ; Singh et al., 2019).

<b>Espèces radicalaires</b>	OH <sup>•</sup>	Hydroxyle
	O <sub>2</sub> <sup>•-</sup>	Anion superoxyde
	HOO <sup>•</sup>	Hydroperoxyde
<b>Espèces non radicalaires</b>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peroxyde d'hydrogène
	<sup>1</sup> O <sub>2</sub>	L'oxygène singulet
	ONOO <sup>-</sup>	Peroxynitrite
<b>Espèces réactives de l'azote</b>	NO <sub>2</sub> <sup>•</sup>	Radical dioxyde d'azote
	ONOO <sup>-</sup>	Anion peroxynitrite
	NO <sup>•</sup>	Monoxyde d'azote

### 2.3. Sources des espèces réactives oxygénées

#### 2.3.1. Sources endogènes des espèces réactives oxygénées

Les mitochondries constituent la principale source de production des ERO dans les systèmes biologiques. Lors de la respiration cellulaire environ 2 % de l'oxygène subit une réduction monoélectronique (addition d'un seul électron) conduisant à la formation d'O<sub>2</sub><sup>•-</sup>, précurseur de plusieurs des EROs (Barja, 2004).

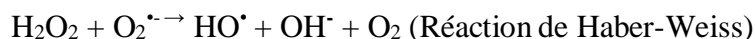
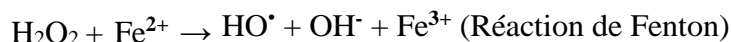


La réaction suivante indique que l'activité enzymatique de complexes protéiques spécifiques, tels que les NADPH oxydases, peut également conduire à la formation du radical superoxyde :

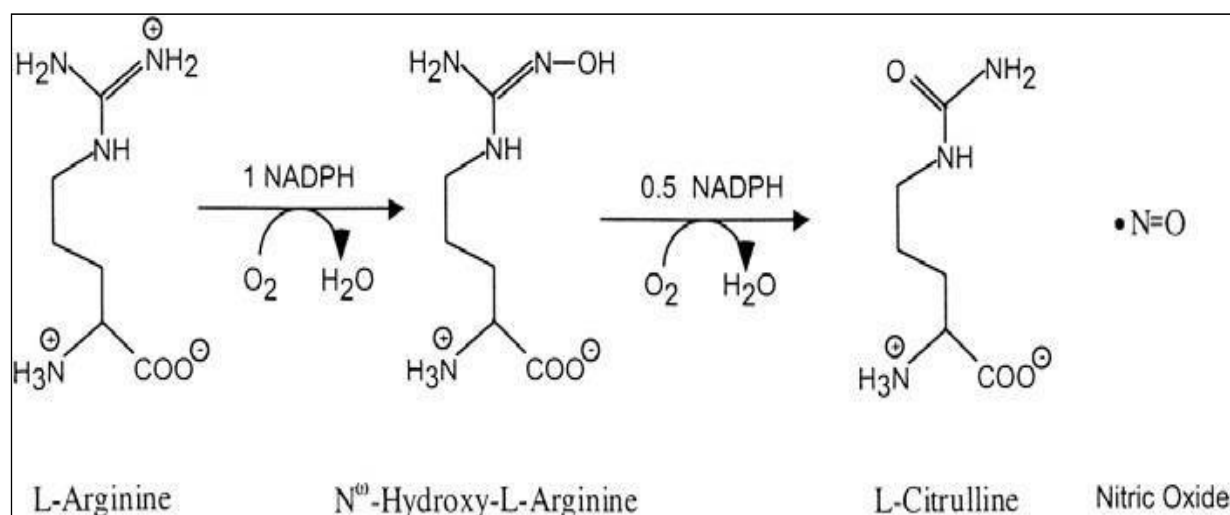


La majeure partie de l'O<sub>2</sub><sup>•-</sup> est dismutée en peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) par la super oxyde dismutase (SOD) (Di Meo *et al.*, 2016). Le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) n'est pas un radical libre car il ne possède pas d'électrons non appariés, mais il est capable de régénérer le radical hydroxyle (OH<sup>•</sup>), un ROS très réactif, par la réaction de Fenton ou de Haber-Weiss. Le premier,

processus utilise du peroxyde d'hydrogène et des métaux de transition comme le cuivre (Cu<sup>++</sup>) et le fer (Fe<sup>++</sup>) dans la réaction de Fenton. L'anion superoxyde est impliqué dans le second processus de formation, connu sous le nom de réaction de Haber-Weiss. (Liochev, 1999).



Le mono oxyde nitrique (NO) est produit à partir de la catalyse de l'oxydation de l'acide aminé L-arginine par l'oxyde nitrique synthase (NOS) (Arzumanian *et al.*, 2003), cette réaction entraîne la formation de NO ainsi que de L-citrulline comme produit secondaire (Yang et Ming, 2013). Cependant, lorsqu'il est produit en grande quantité, il peut réagir avec l'anion superoxyde pour former une molécule relativement réactive, le peroxyde nitrique (ONOO<sup>-</sup>) (Salisbury et Bronas, 2015). Les radicaux libres peuvent également provenir d'autres sources au sein de la cellule, comme l'enzyme xanthine oxydase, qui catalyse la conversion de la xanthine en acide urique en présence d'oxygène. (Birben *et al.*, 2012) (Figure 5).



**Figure 5 :** Les deux réactions de la synthèse du NO catalysées par la NOS (Stuehr, 2004)

### 2.3.2. Sources exogènes des espèces réactives oxygénées

Les espèces réactives de l'oxygène peuvent être produites par une multitude de processus exogènes, soit par des facteurs environnementaux, y compris les médicaments, les rayonnements, les xénobiotiques (pesticides, métaux lourds, toxines) et les radiations, qui à l'intérieur de l'organisme, sont métabolisés en radicaux libres (Tsai *et al.*, 2017), soit par notre mode de vie, comme l'alimentation, le tabac et l'alcool. Une autre source importante d'ERO, les solvants

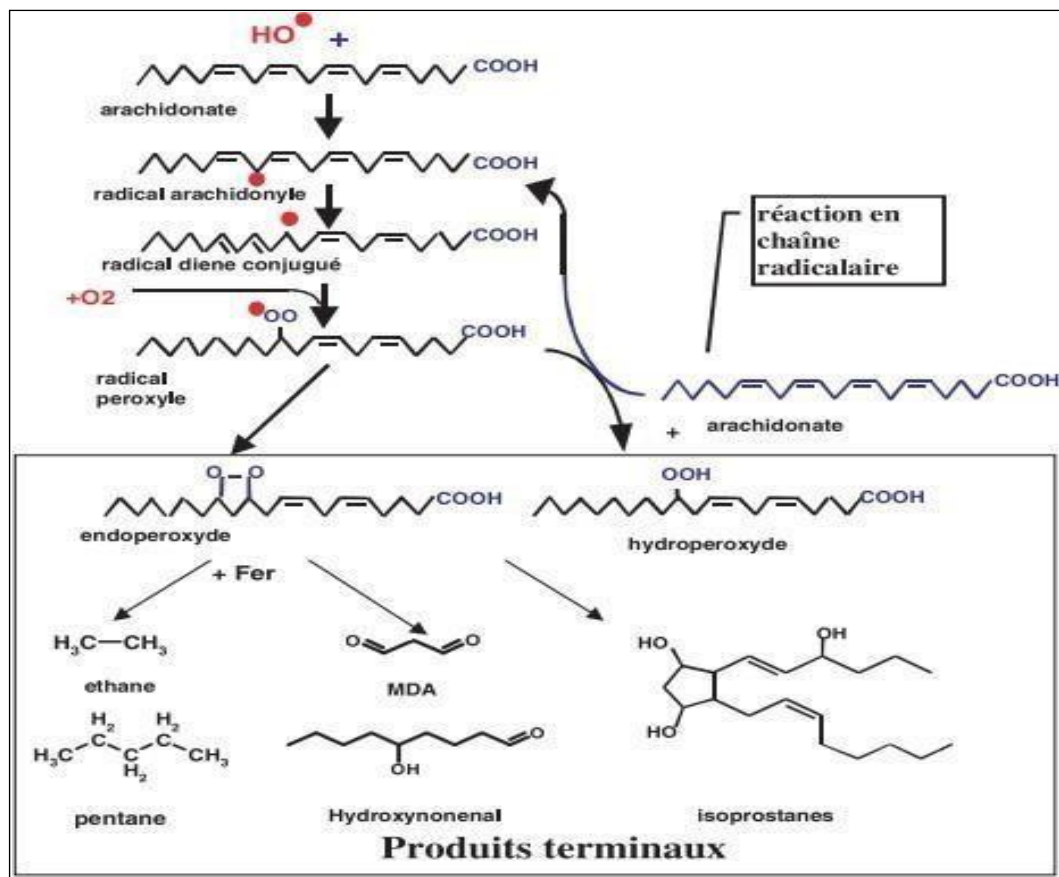
industriels, peut endommager l'organisme par interaction directe avec la peau ou après inhalation dans les poumons (Al-Gubory, 2014).

#### **2.4. Cibles biologiques des espèces réactives oxygénées**

Dans un état de stress oxydatif, la production excessive d'espèces réactives de l'oxygène peut altérer les constituants cellulaires et les biomolécules tels que les lipides, les protéines, et l'ADN (Oueslati *et al.*, 2017; Bensakhria, 2018).

##### **2.4.1. Stress oxydant et altérations des lipides**

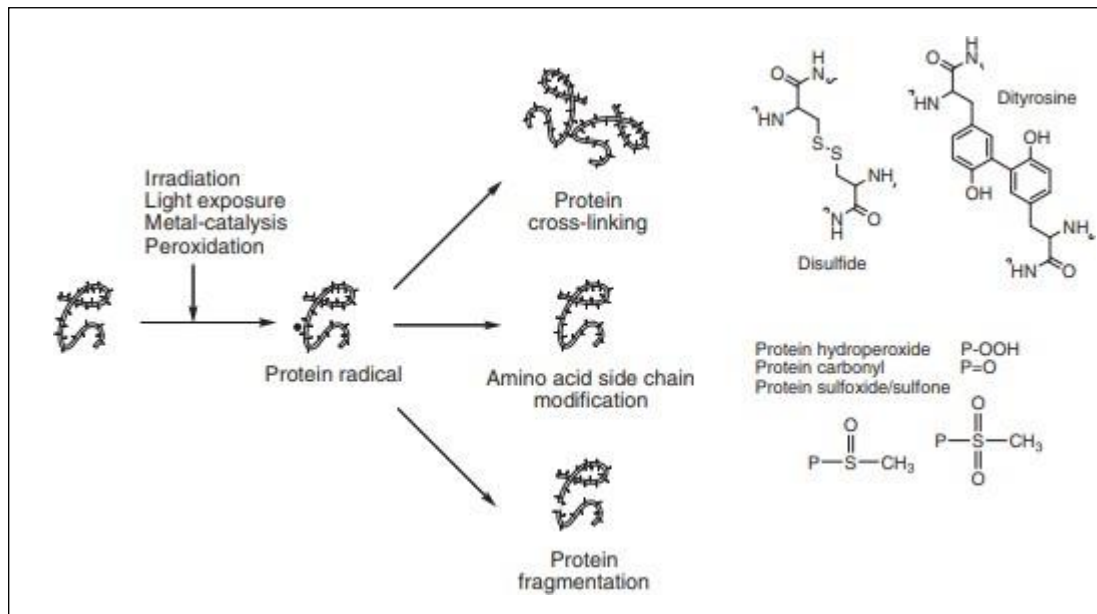
Les lipides membranaires sont vulnérables aux dommages causés par les radicaux libres en raison de la présence d'acides gras polyinsaturés, qui sont d'excellents substrats pour la peroxydation des lipides à cause de la double liaison porteuse de carbone qui cède facilement l'atome d'hydrogène. La peroxydation des lipides implique trois étapes distinctes : l'initiation, la propagation et la terminaison (Valko *et al.*, 2005) (Figure 6). L'initiation, la première étape, implique l'attaque d'une espèce réactive de l'oxygène capable d'abstraire un atome d'hydrogène à partir d'une molécule d'acide gras polyinsaturé. Le processus d'extraction de l'hydrogène laisse derrière lui un acide gras ayant un électron non apparié (Jacques et André, 2004). Lorsque l'oxygène est présent dans les tissus environnants, le radical d'acide gras peut réagir avec lui, ce qui entraîne la formation de radicaux peroxydes ( $\text{ROO}^\cdot$ ) au cours de la phase de propagation. Les radicaux peroxydes sont eux-mêmes très réactifs et sont capables d'extraire un autre hydrogène de la molécule d'acide gras voisine, créant ainsi des hydroperoxydes lipidiques qui sont eux-mêmes instables, réactifs et ils ont une durée de vie relativement courte. Ils peuvent soit être réduits par les glutathion peroxydases (GPx) en alcools d'acides gras non réactifs, soit réagir avec des métaux redox pour produire une variété de produits qui sont eux-mêmes réactifs par exemple les aldéhydes et les hydrocarbures (Favier, 2003). Vu l'instabilité des acides gras (LOOH), Le malondialdéhyde (MDA) et le 4-hydroxynonéal sont les deux aldéhydes les plus utilisés pour la détection de la peroxydation lipidique membranaire dans les études toxicologiques (Niki, 2009; Poprac *et al.*, 2017).



**Figure 6 :** Mécanisme en chaîne de la peroxydation lipidique des acides gras polyinsaturés (Favier, 2003)

#### 2.4.2. Stress oxydant et altérations des protéines et des acides aminés

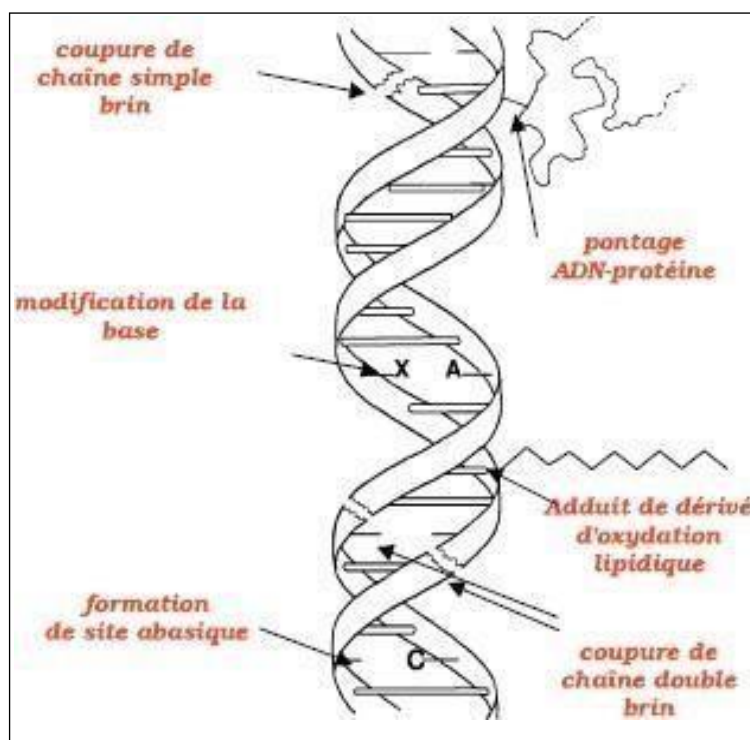
Les protéines sont susceptibles d'être oxydées par les radicaux libres au niveau des chaînes latérales des acides aminés. Les plus sensibles aux attaques radicalaires sont surtout ceux qui comportent un groupement sulfhydryle ( $-\text{SH}$ ) (cystéine et méthionine) et aromatiques (tyrosine, tryptophane, et histidine) (Haleng *et al.*, 2007). L'oxydation des protéines provoque l'introduction d'un groupe carbonyle, l'oxydation des thiols et l'hydroxylation aromatique, ces derniers sont utilisés comme marqueurs du stress oxydatif (Zhang *et al.*, 2013; Pisoschi et Pop, 2015). La perte de fonction résulte de ces changements de conformation, qui augmentent également l'activité protéolytique du protéasome (Rosenfeld *et al.*, 2018) (Figure 7).



**Figure 7 :** Les conséquences les plus fréquentes de l'oxydation des protéines (Lund *et al.*, 2011)

### 2.4.3. Stress oxydant et altération des acides nucléiques

Le stress oxydatif peut conduire à un certain nombre de lésions de l'ADN, notamment la modification directe des bases nucléotidiques soit en affectant la liaison entre la base et le pentose créant un site abasique, soit en ciblant le sucre lui-même créant une cassure simple brin (Van Houten *et al.*, 2018). La guanine est la plus sensible aux modifications oxydatives conduisant à la formation de 8-hydroxy-2' désoxyguanosine qui va s'accumuler si les mécanismes de réparation enzymatiques échouent. À son tour, cette accumulation entraînera des mutations génomiques néfastes, en particulier au niveau des mitochondries. (Nemmar *et al.*, 2016) (Figure 8).



**Figure 8** : Lésions de l'ADN causées par les attaques des radicaux libres (Favier, 2003)

## 5. Systèmes de défense contre le stress oxydant (antioxydants)

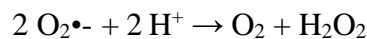
Les antioxydants sont des substances qui empêchent ou retardent l'oxydation d'un substrat. Il comprend plusieurs lignes de défense qui visent à prévenir la formation et à réparer les dommages causés par les radicaux libres ou encore à les éliminer lorsqu'ils sont déjà formés. (Dias, 2019). Les antioxydants enzymatiques et les antioxydants non enzymatiques constituent les deux principales catégories d'antioxydants. Les enzymes, les molécules de faible poids moléculaire et les cofacteurs enzymatiques sont des exemples de sources endogènes de certains de ces antioxydants, tandis que d'autres sont exogènes, c'est-à-dire qu'ils sont apportés de l'extérieur, par exemple par l'alimentation (Ratnam et al., 2006).

### 5.1. Antioxydants enzymatiques

Des enzymes endogènes existent pour protéger les cellules des radicaux libres générés naturellement au cours du métabolisme cellulaire normal. Les superoxydes dismutases (SOD), la catalase (CAT) et diverses enzymes glutathion peroxydase (GPx, GR, GST) sont les principaux systèmes enzymatiques.

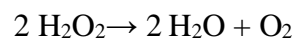
### 5.1.1. Super oxyde dismutase (SOD)

Les enzymes qui utilisent des métaux comme cofacteurs sont appelées métallo-enzymes, comme la superoxyde dismutase (EC. 1.15.1.1). C'est l'une des premières lignes de défense contre les ROSs. La SOD catalyse la dismutation de deux molécules d'anion superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ) en oxygène et hydrogène peroxyde ( $H_2O_2$ ) (Ighodaro et Akinloye, 2017). Les superoxyde dismutases au manganèse (MnSOD) protègent les mitochondries, tandis que les superoxyde dismutases au cuivre-zinc (cCu-ZnSOD) protègent le cytosol, la membrane externe des cellules épithéliales (ecCu-ZnSOD) ou le plasma sanguin (pCu-ZnSOD). Cette distinction est due à la nature du métal au centre de l'enzyme (Younus, 2018).



### 5.1.2. Catalase (CAT)

La catalase (EC. 1.11.1.6) est une oxydoréductase ferrihème tétramérique, qui catalyse la dismutation de  $H_2O_2$  en eau et oxygène moléculaire. Le  $Fe^{3+}$  est lié au site actif de chacune des quatre sous-unités protéiques qui composent la catalase. Chacune de ces sous-unités possède un groupe hème. Des molécules de NADPH+ $H^+$  sont généralement attachées à chaque molécule, la protégeant ainsi d'une inactivation potentielle par le peroxyde d'hydrogène. Cette enzyme est responsable de la dismutation du peroxyde d'hydrogène à la suite de cette réaction (Grigoras, 2017).

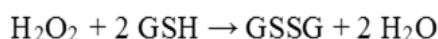
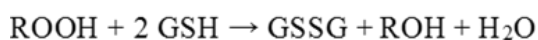


Les catalases sont majoritairement retrouvées dans le foie et les globules rouges. En raison de leur compartimentation au sein des peroxysomes, ils sont incapables d'accepter le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) produit dans les mitochondries et le cytosol (Awad *et al.*, 2018).

### 5.1.3. Glutathion peroxydase (GPx)

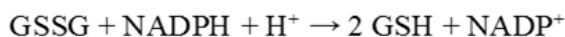
La glutathion peroxydase (EC. 1.11.1.19) est une séléno-enzyme (Se-GPx) réagit avec le peroxyde d'hydrogène ou les peroxydes lipidiques tout en jouant un rôle dans la détoxification de ces molécules en combinant l'oxydation de substrats réducteurs comme le glutathion réduit avec la réduction de ces dérivés réactifs (Benhar, 2018). Des résidus de séléno-cystéine (Se-Cys) se trouvent dans chacune des quatre sous-unités qui composent toutes les glutathion peroxydases. Il existe trois types différents de glutathion peroxydases au sélénium : cytosolique (cGPx),

plasmatique (pGPx) et membranaire (HPGPx). isoenzyme spécifique du tube digestif (GIGPx), dans la membrane cellulaire (HPGPx) et dans la membrane cellulaire (cGPx). spécifique du tube digestif (GIGPx) (Kleniewska *et al.*, 2016).



#### 5.1.4. Glutathion réductases (GR)

Aux dépens du NADPH comme cofacteur, la glutathion réductase (EC. 1.6.4.2) est une enzyme avec un groupe flavine (flavoprotéine) qui catalyse la réduction du glutathion oxydé (GSSG) en glutathion réduit (GSH) (Romero-Puertas *et al.*, 2006).



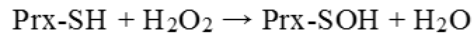
Le rôle principal de cette enzyme (GR) est de restaurer le milieu cellulaire réduit et de maintenir le rapport GSH/GSSG élevé, en catalysant les réactions du cycle redox du GSSG ou des protéines-disulfures mixtes (protéines-SSG) au GSH en présence du co-enzyme NADPH+H<sup>+</sup>. En d'autres termes, la glutathion réductase régule et maintient le rapport GSH/GSSG normal, qui est estimé à 100:1. En raison de cette haute spécificité vis-à-vis du GSSG, la glutathion réductase ne peut que réduire le GSSG, mais ne peut pas oxyder le GSH. La défense de cette enzyme contre le stress oxydatif consiste à empêcher l'accumulation de glutathion oxydé, de protéine-SSG et d'autres composés disulfures mixtes dans les cellules vivantes (Saka *et al.*, 2002). Le cytosol et les mitochondries contiennent la glutathion réductase (GR) et la glutathion peroxydase (GPx) (Ulrich et Jakob, 2019).

#### 5.1.5. Glutathion S-transférase (GST)

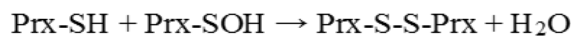
Les glutathion S-transférase (EC. 2.5.1.18) sont une superfamille d'isoenzymes multifonctionnelles impliquées dans la détoxification cellulaire de plusieurs composés endogènes et exogènes. En plus d'exprimer des activités non catalytiques telles que l'interaction avec divers ligands ou la modification de la signalisation cellulaire, les GST peuvent également présenter des activités de peroxydase, d'isomérase ou de thiol-transférase (Hayes, 2005). Les isoenzymes de GST catalysant les réactions redox sont des glutathion peroxydases seleno-indépendantes (non Se-GPx), qui ne peuvent réduire que des peroxydes organiques (ROOH) (Do *et al.*, 2019).

### 5.1.6. Système peroxyrédoxine/thiorédoxine (Prx/Trx)

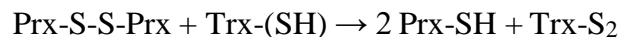
Les peroxyrédoxines (Prx) (EC. 1.11.1.15) sont des antioxydants thiol-dépendants capables de réduire le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et d'autres peroxydes organiques aux dépens du NADPH avec les systèmes de thiorédoxine (Nicolussi *et al.*, 2017). Les peroxiredoxines fonctionnent plus lentement que les autres peroxydes pour catalyser l'élimination de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et sont facilement inactivées par ce dernier lorsque les cellules détectent un excès de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Halliwell et Gutteridge, 2007). Le résidu cystéine à leur extrémité N-terminale, qui servira de site principal d'oxydation par H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, est ce qui les unit.



Un pont disulfure est alors formé lorsque la Prx oxydée se combine avec une autre molécule de Prx-SH.



Enfin, le dimère disulfure est régénéré en Prx réduite par l'oxydation de la thiorédoxine (Trx), une molécule dotée de deux groupes thiol adjacents.



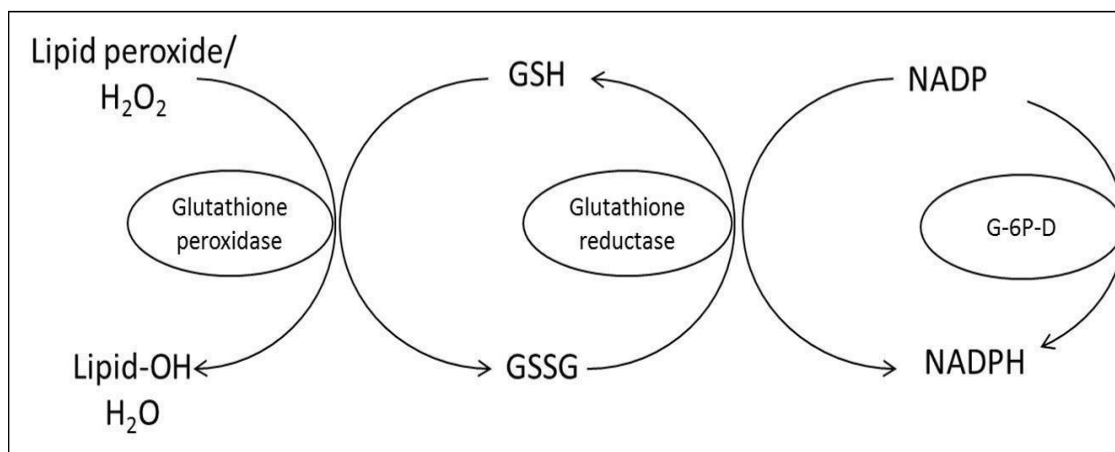
Le cytoplasme et les mitochondries contiennent la majorité des six isoformes de Prx. Elles ont une forte affinité pour le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, mais leur activité catalytique n'est pas aussi forte que celle de la GPx ou de la catalase (Rhee *et al.*, 2005).

## 5.2. Antioxydants non enzymatique

### 5.2.1. Glutathion (GSH)

L'acide L-glutamique, la L-cystéine et la glycine se condensent pour former le glutathion (également connu sous le nom de L- $\gamma$ -glutamyl-L-cystéinyl-glycine), un pseudo-tripeptide qui joue un rôle antioxydant grâce à sa fonction thiol (Narayanankutty *et al.*, 2019). Il se trouve soit sous sa forme réduite (GSH), soit sous sa forme oxydée (GSSG), soit sous sa forme de protéines-disulfures mixtes (protéines-SSG). dans de nombreux compartiments intracellulaires (cytosol, noyau, mitochondries). Étant donné que la consommation de glutathion réduit et la production de glutathion oxydé sont plus importantes lorsque le flux d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est plus élevé, le rapport entre le

glutathion réduit et le glutathion oxydé (GSH/GSSG) est fréquemment utilisé comme signe de stress oxydatif (Herzog et al., 2019). Grâce à la réaction catalysée par la GPx, le glutathion réduit (GSH) réduit H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et/ou les peroxydes organiques (ROOH) (Pacula et al., 2017). Le glutathion favorise la régénération de nombreux antioxydants, dont les vitamines C et E, et sert de cofacteur à la GPx et à la glutathion S-transférase (GST) (Honda *et al.*, 2017; Kobayashi *et al.*, 2017) (Figure 9).

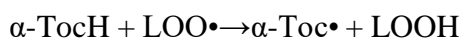


**Figure 9** : Conversion du glutathion oxydé (GSSG) en forme réduite (GSH) par la glutathion réductase (Suwannasom *et al.*, 2020)

### 5.2.2. Vitamine E

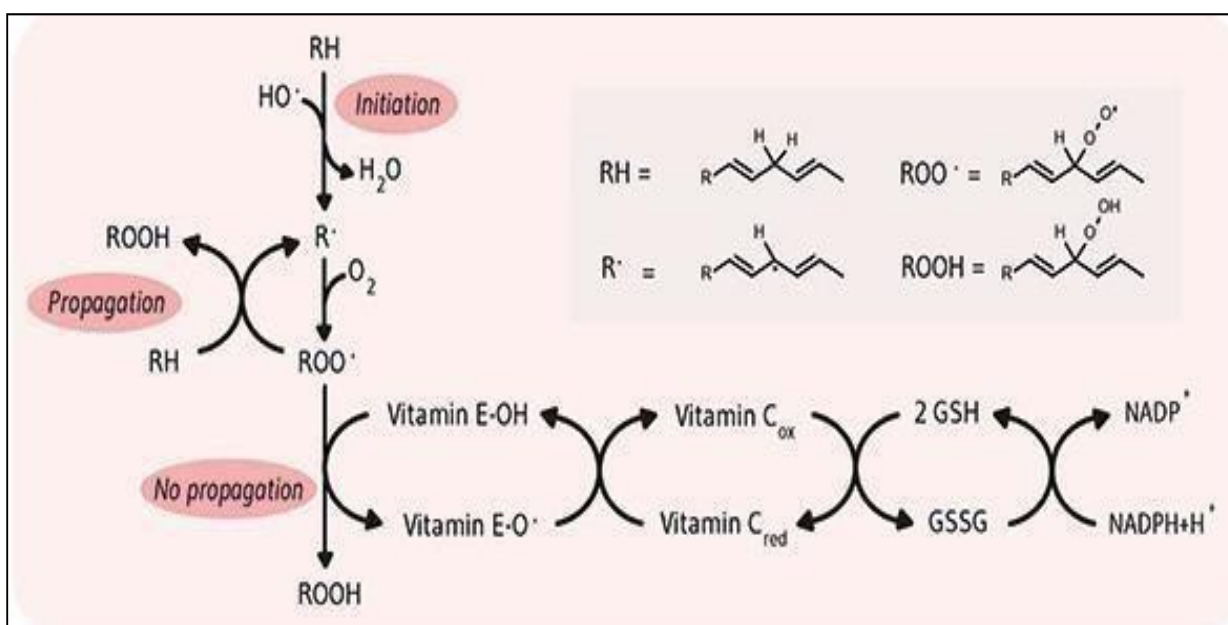
La vitamine E est une vitamine liposoluble, principalement présente dans les huiles végétales, les noix, le brocoli, le poisson, le germe de blé et les céréales (Blumberg *et al.*, 2018). Huit formes différentes ont été rapportées ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  et  $\delta$ -tocophérol, et  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  et  $\delta$ -tocotriénol), mais l' $\alpha$ -tocophérol ( $\alpha$ -Toch) est la forme la plus active de la classe des tocophérols, elle se lie aux membranes et piège les radicaux peroxydes et alkoxydes (RO•) ce qui va empêcher la propagation des réactions de peroxydation lipidique. Elle devient un radical moins actif que LOO• et peut être considérée comme un antioxydant (Liu *et al.*, 2018). Une protéine connue sous le nom de protéine de transfert de l' $\alpha$ -Toch ( $\alpha$ -tocophérol transfer protein) est responsable de l'incorporation de l' $\alpha$ -Toch dans les particules de LDL au cours de leur métabolisme (Sontag et Parker, 2007). Suite à une attaque radicalaire lors du déclenchement de la peroxydation lipidique, l' $\alpha$ -TOH, un inhibiteur de la propagation des radicaux lipidiques, chaque molécule d' $\alpha$ -tocophérol (Vit E) peut réagir avec un radical peroxyde de lipide (LOO•) formant un hydroperoxyde

lipidique (LOOH) et un radical  $\alpha$ -tocophéroxyle ( $\text{To}\bullet$ ), et empêchant la propagation de la peroxydation lipidique. Et comme mentionné précédemment, l' $\alpha$ - $\text{To}\bullet$  est régénéré en  $\alpha$ - $\text{ToCH}$  active sous l'action de la vitamine C ( $\text{Asc-H}^-$ ) (Traber et Atkinson, 2007) (Figure 12).



### 5.2.3. Vitamine C

- ✓ La vitamine C, également connu sous le nom de l'acide ascorbique, est une vitamine hydrosoluble qui est vulnérable à la chaleur, aux rayons UV et à l'oxygène (Costantini, 2014). Les sources essentielles de vitamine C sont les fruits et les légumes à feuilles (Ashor *et al.*, 2016). Elle est présente le plus couramment sous forme d'anion ascorbate ( $\text{Asc-H}^-$ ). Elle possède une très bonne réactivité envers plusieurs ERO comme le radical hydroxyle ( $\text{HO}\bullet$ ), superoxyde ( $\text{O}_2^-$ ), le dioxyde d'azote ( $\text{NO}_2\bullet$ ), l'hypochlorite ( $\text{HOCl}$ ), l'oxygène singulet ( $^1\text{O}_2$ ), l'ozone ( $\text{O}_3$ ) ou encore le trioxyde et le tétraoxyde d'azote ( $\text{NO}_x$ ). Elle est également capable de recycler la vitamine E ( $\alpha$ -tocophérol) afin d'agir en synergie avec cette dernière dans la prévention de la peroxydation des lipides (Adwas *et al.*, 2019) en arrêtant les espèces réactives de l'oxygène (ROS) produites par différents systèmes générateurs de radicaux libres d'oxyder les lipoprotéines de basse densité (LDL). En outre, il peut réduire le radical  $\alpha$ -tocophérol (Xiong *et al.*, 2017). Cela lui permet de remplir plusieurs fois sa fonction d'antioxydant (Ashor *et al.*, 2016) (Figure 10).



**Figure 10 :** Le réseau redox antioxydant (Packer et Valacchi, 2002).

Les radicaux libres lipidiques formés par les pré-oxydants (UV, O<sub>3</sub>, polluants) sont réduits par la vitamine E localisée dans les membranes. Ainsi, le radical tocophéroxyde (To•) est formé. Celui-ci peut être réduit à nouveau dans la membrane directement par l'ubiquinol ou à la limite membrane-cytosol par l'ascorbate. La forme oxydée, le déhydroascorbate (Vit C<sub>ox</sub>), peut être recyclée par le glutathion et finalement par des enzymes dépendant du NADPH. Le radical de la vitamine C peut également être régénéré par une réductase semiascorbique NADH (Packer et Valacchi, 2002).

#### 5.2.4. Caroténoïdes

Les cinq caroténoïdes les plus importants sont la lutéine, la zéaxanthine, le bêta-carotène, l'alpha-carotène et le lycopène. Les caroténoïdes sont des pigments liposolubles fabriqués par des micro-organismes et des plantes. Ils sont responsables des colorations orange, rouge et jaune des fruits et légumes (Benaziza et Semad, 2016). Les caroténoïdes sont des puissants neutraliseurs de l'oxygène singulet (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>). Ils assurent une protection contre la photo-oxydation et inhibent la peroxydation des lipides en piégeant les radicaux hydroxyle et peroxyde (Zuluaga *et al.*, 2017). Les caroténoïdes sont également des précurseurs de la vitamine A, qui fournit à l'organisme une activité vitaminique et antioxydante (Malbos *et al.*, 2021).

#### 5.2.5. Polyphénols

Les polyphénols sont des antioxydants puissants qui complètent les fonctions des vitamines et des enzymes antioxydantes. Ils constituent un groupe important de substances phytochimiques naturelles qui comprennent principalement les acides phénoliques, les flavonoïdes, les catéchines, les tanins, et sont largement présents dans les céréales, les légumes, les épices, les fruits et les chocolats (Khan *et al.*, 2021). Ils peuvent être extraits des plantes ou synthétisés (Bouider, 2016). Leur capacité antioxydante réside dans la terminaison des chaînes de radicaux libres par des mécanismes de transfert d'électrons et de protons, et dans la chélation des ions de métaux de transition capables de catalyser la peroxydation lipidique (Lycaon, 2012).

---

***Chapitre 3 :***  
***Nigelle (Nigella Sativa)***

---

---

## Chapitre 3 : Nigelle (*Nigella Sativa*)

### 3. Nigelle

#### 3.1. Introduction

L'intérêt pour les antioxydants naturels s'est considérablement accru ces dernières années en raison de leur potentiel en tant qu'agents thérapeutiques. L'extraction, l'identification et la quantification de ces composés à partir d'une variété de substances naturelles, y compris les produits agroalimentaires et les plantes médicinales, ont fait l'objet de recherches scientifiques dans un large éventail de spécialités (Sanchez-Moreno, 2002; Huang *et al.*, 2005). Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), environ 65 % de la population mondiale dépend de la médecine conventionnelle, qui utilise des extraits de plantes ou des substances phytochimiques pour traiter plusieurs maladies (Fabricant et Farnsworth, 2001).

#### 3.2. Historique sur la nigelle

Il a été souligné que la nigelle a l'histoire la plus riche et la plus mystique parmi toutes les plantes utilisées en médecine. L'échantillon d'huile de la nigelle qui a été découvert dans les vestiges de la tombe de Toutankhamon témoigne de son utilisation depuis les temps anciens. Selon certaines sources, l'huile obtenue à partir de cette plante était utilisée comme produit de beauté par Cléopâtre. Ce qui indique que la nigelle avait joué un rôle important dans les traditions égyptiennes anciennes (Zahoor *et al.*, 2004). Dans la civilisation islamique, cette plante a occupé une grande importance en raison de ses nombreuses utilisations, notamment à des fins de guérison, et ce grâce au hadîth du prophète Mohammed (paix et miséricorde sur lui) qui avait dit: «*Soignez-vous en utilisant la graine de nigelle, c'est un remède contre tous les maux à l'exception de la mort*» (Ahmad et Beg, 2013; Islam *et al.* 2019). La nigelle était déjà largement utilisée dans la médecine de la Grèce antique. Les Grecs l'appellent melanthion (petite graine noire). Elle était utilisée dans les recettes hippocratiques pour renforcer le foie, pour résoudre les problèmes liés au système digestif et pour traiter les infections de la tête et le rhume. Il a également été suggéré que, plus tard, le Pedanius Dioscoride utilisait l'huile de nigelle pour soulager les maux de tête et les maux de dents, pour dégager la congestion nasale et pour détruire les entérozoaires. L'huile de nigelle aurait également été utilisée comme traitement par Ibni Sina pour stimuler le métabolisme et soulager l'asthénie et la léthargie (Botnick *et al.*, 2012;

Tembhurne *et al.*, 2014).

### 3.3. Description botanique de la nigelle

<p><b>La plante</b> (Ramadan <i>et al.</i>, 2012)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Membre de la famille des Renonculacées</li> <li>➤ Herbacée annuelle</li> <li>➤ Atteint une hauteur de 30 à 60 cm.</li> <li>➤ Hermaphrodite à reproduction autonome</li> <li>➤ Les fruits murs constitués de follicules soudés</li> </ul>
<p><b>Les feuilles</b> (Ghedira, 2006).</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Pennatiséquées</li> <li>➤ Linéaires finement divisées</li> <li>➤ Divisées en lobes étroits sont lancéolées à linéaires et présentent des onglets nectarifères.</li> <li>➤ Les feuilles inférieures sont petites et pétaloïdes</li> <li>➤ Les supérieures sont longues</li> </ul>
<p><b>Les fleurs</b> (Ghedira, 2006; Ghedira et Le Jeune, 2010)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Couleur blanche, jaune, rose, bleu pâle ou pourpre pâle</li> <li>➤ 5 à 10 pétales</li> </ul>
<p><b>les grains</b> (Ghedira, 2006; Ghedira et Le Jeune, 2010)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Couleurs noir mat</li> <li>➤ Ovoïdes, mesurant de 2 à 3 mm de long et présentant trois ou quatre angles</li> </ul>



**Figure 11** : Aspect morphologique de *Nigella sativa* Fleur (Dollah *et al.*, 2013) Graines (Photopersonnelle)

### 3.4. Dénomination de la nigelle

La nigelle était cultivée depuis des milliers d'années mais c'est en 1753 qu'elle a été nommée *N. sativa* par le botaniste Suédois Carl Linnaeus.

Les noms latins de la nigelle	<i>Cuminum nigrum</i> , <i>Nigella indica</i> et <i>Nigella sativa</i> L (le plus employé) (Moussaoui, 2014).
Le nom de genre «nigelle»	découle du latin «niger» ou «nigellus» qui signifie noirâtre, se référant à la couleur noire de ses graines (Moussaoui, 2014).
Le nom d'espèce «sativa»	nom d'espèce «sativa», il signifie «semer» ou «cultiver» car <i>Nigella sativa</i> est une variété cultivée spécialement pour ses graines comestibles à usage culinaire comme épice ou à des fins comestiques et médicinales (Moussaoui, 2014).
Appellations de la nigelle	Habbah sauda, Habbet el beraka, Sinouj, Sanouz, Shunez, Kamun aswad en arabe (Azzi <i>et al.</i> , 2012).

### 3.5. Habitat de la nigelle

Le Moyen-Orient, l'Europe centrale et l'ouest de l'Asie sont les habitats d'origine de la *Nigella sativa*. Elle est cultivée dans les régions tropicales et semi-arides. Selon Abidi et al. (2019), les principaux pays producteurs de nigelle sont la Syrie, l'Égypte, l'Arabie saoudite, la Turquie, l'Iran, le Pakistan et l'Inde. La culture traditionnelle de la nigelle en Algérie se limite aux régions de Ouargla, Biskra, Timimoune, Adrar (Benkaci, 2007).

### 3.6. Composition chimique de la graine de *Nigella sativa*

La composition des graines de *Nigella sativa* varie selon les régions géographiques, les techniques de culture, de récolte et de stockage. La partie de la plante utilisée en phytothérapie sont les graines. Les recherches sur la composition chimique des graines de *N. sativa* ont commencé en 1880 avec Greenish, qui a publié le premier rapport mentionnant la présence de

37 % d'huiles et de 4,1 % d'éléments minéraux (Zielińska *et al.*, 2021). Les graines contiennent une huile grasse (fixe) riche en acides gras insaturés, se compose principalement d'acides linoléique (50-60 %), oléique (20-23,4 %), palmitique (12,5 %), dihomolinoléique (10 %) et eicosadiénoïque (3 %); ainsi que d'acides arachidonique, stéarique et myristique, de  $\beta$ -sitostérol, de cycloeucalénol, de cycloarténol, d'esters de stérol et de glucosides de stérol (Tembhurne *et al.*, 2014) avec quelques autres constituants lipidiques mineurs tels que le méthylnonadéc-15,17- diénoate, l'hexadéc-12-énoate de pentyle et le pentadéc-11-énoate de pentyle (Nickavar *et al.*, 2003). L'huile essentielle (volatile) de la plante contient divers constituants pharmacologiquement actifs, tels que la thymoquinone (30-48 %), la thymohydroquinone, la dithymoquinone, le p-cymène (7-15 %), le carvacrol (6-12 %), le 4-terpinéol (2-7 %), le  $\alpha$ -anéthole (1-4 %), le 4-terpinéol et longifoline (1-8 %), le  $\alpha$  et  $\beta$ -pinène et le thymol (Ahmad *et al.*, 2013; Tembhorn *et al.*, 2014). Les graines de la plante contiennent également de nombreux composants non huileux, notamment des alcaloïdes isoquinoléines (nigellimine et nigellimine-N-oxyde), des alcaloïdes pyrazoliques ou des alcaloïdes portant un cycle indazole (nigellidine et nigellimine), des tanins et des saponines. Les graines de nigelle contiennent également des protéines (20,8 %), des graisses (38,5 %), des glucides (31,9 %), la teneur en eau (4,64 %), des fibres brutes (7,94 %) et des cendres totales (4.64 %), des

vitamines telles que vitamines A et C, thiamine, niacine, pyridoxine et des minéraux comme le

---

cuivre, le phosphore, le zinc et le fer (Mamun et Absar 2018; Kazmi *et al.* 2019).

### 3.7. Utilisation de la nigelle en phytothérapie

Les graines et les feuilles de *N. sativa* sont ingérées par voie orale, consommées en poudre, en tisane, en décoction ou en inhalation. Aujourd'hui, la poudre de graines de la nigelle est recommandée à 0,5-4 g dans la pharmacopée indienne (Tajmiri *et al.*, 2016), qui est utilisée comme stimulant pour soulager les problèmes intestinaux et d'indigestion et comme carminatif. Elle est utilisée dans la médecine traditionnelle algérienne pour le traitement du diabète et aussi pour traiter l'hypertension artérielle (Bouzabata, 2013). De même, les Bédouins (Égypte) utilisaient les graines pour traiter l'hypertension artérielle, ainsi que les maladies cardiaques et utilisaient la tige de bois pour traiter la jaunisse (El-Seedi *et al.*, 2013). En outre, l'infusion de graines est utilisée pour traiter le paludisme dans la médecine traditionnelle malaisienne (Al-Adhroey *et al.*, 2010), ainsi que les graines (formes fraîches, séchées et en poudre) et les feuilles en Éthiopie (Alrawi *et al.*, 2017). L'attention du monde entier a été dirigée vers l'épidémie de maladie à coronavirus (COVID-19) qui a été signalée pour la première fois à Wuhan, en Chine, le 31 décembre 2019. L'effet de l'extrait de *Nigella sativa* sur la réplication du coronavirus (CoV) et sur l'expression du gène TRP pendant l'infection par le CoV a été évalué par Ulasli *et al.* (2014). Les résultats montrent que l'extrait de *Nigella sativa* a un impact sur l'expression du gène TRP ainsi que sur la diminution de la charge virale.

### 3.8. Activités pharmacologiques de *Nigella Sativa*

#### 3.8.1. Activités antibactériennes

Les différents extraits des graines de *Nigella sativa* L. présentent un large spectre d'inhibition contre de nombreuses souches bactériennes, qu'elles soient gram-positives (*Staphylococcus aureus*) ou gram-négatives (*Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*). Elle a montré des effets synergiques avec la streptomycine et la gentamycine, tout en étant additive avec la spectinomycine, l'érythromycine, la tobramycine, la doxycycline, le chloramphénicol, l'acide nalidixique, l'ampicilline, la lincomycine et le co-trimoxazole et similaire à la mupirocine topique (Hanafy et Hatem, 1991). Les extraits aqueux et méthanoliques de *N. sativa* ont été efficaces pour tuer les bactéries isolées dans l'arthrite septique. Les souches de *Shigella dysenteriae*, d'*E. coli* et de *V. cholerae* qui sont résistantes aux antibiotiques n'ont pas résisté aux extraits testés. (Morsi, 2000).

### 3.8.2. Activités antifongiques

La *Nigella Sativa* inhibe la croissance de *Candida albicans* et de *Madurella mycetomatis*, tandis que la thymoquinone (TQ) agit contre *Aspergillus niger*, *Fusarium solani* et *Scopulariopsis brevicaulis* plus efficacement que l'amphotéricine-B et la griséofulvine. La TQ a également agi contre *Trichophyton spp*, *Epidermophyton spp* et *Microsporum spp*. En outre, il a été démontré que la TQ, la thymohydroquinone et le thymol ont un effet antifongique contre de nombreux isolats cliniques, y compris les dermatophytes, les moisissures et les levures (Ahmad *et al.*, 2013).

### 3.8.3. Activités antivirales

Dans une étude, la *Nigella Sativa* a amélioré le ratio des cellules T auxiliaires (T4) et des cellules T suppressives (T8) et a augmenté l'activité des cellules tueuses naturelles (NK) chez l'homme. En outre, il a inhibé de manière significative la protéase du virus de l'immunodéficience humaine (VIH) et le cytomégalo virus murin. Dans ce dernier cas, on a constaté qu'il augmentait le nombre et la fonction des cellules M-phi et des cellules T CD4+ve avec la production d'interféron-gamma (INF- $\gamma$ ) (Ahmad *et al.*, 2013).

### 3.8.4. Activités antiparasitaires

Il est évident que la *Nigella sativa* a un potentiel anti-leishmaniose, anti-miracle, anti-cercaire et anti-schistosoma mansoni. Dans ce dernier cas, l'huile de la graine noire a montré une forte activité par rapport au médicament anti-schistosomal et anthelminthique pour les animaux domestiques, le praziquantel, où elle a produit un effet de potentialisation avec le co-traitement (Mohamed *et al.*, 2005). En outre, Simalango et Utami (2014) ont suggéré que l'extrait éthanolique de NS (0,5 - 8 %) a une activité anti-*Ascaris suum* significative.

### 3.8.5. *Nigella Sativa* dans l'infection des plaies

La capacité de cicatrisation de la *Nigella Sativa* a été évaluée chez des animaux de ferme, des souris et des fibroblastes gingivaux humains. Le résultat cumulé suggère une réduction du nombre absolu de leucocytes différentiels (WBC), de l'infection et de l'inflammation locale, de l'expansion bactérienne et de l'altération des tissus, ainsi que de la production de radicaux libres. Une élévation du facteur de croissance fibroblastique de base (FGF) et du facteur de

croissance transformant bêta (TGF- $\beta$ ) a également été signalée (Ab Rahman *et al.*, 2014).

### 3.8.6. Activités antioxydantes

Un certain nombre d'études antioxydantes *in vitro* et *in vivo* ont été menées avec des extraits de *Nigella sativa* (NS), de l'huile de graines et du thymoquinone (TQ). Les résultats suggèrent que le NS et ses composants dérivés ont des capacités puissantes de piégeage des radicaux et d'inhibition du stress oxydatif. La thymoquinone modifie de manière significative les paramètres, notamment les activités enzymatiques de l'adénosine désaminase (ADA), de la catalase (CAT), de la myloperoxydase (MPO), de la lipide peroxydase (LPO), de la glutathion S-transférase (GST), de la glutathion peroxydase (GPx), de la superoxyde dismutase (SOD) et le taux du glutathion réduit (GSH) et d'oxyde nitrique (NO), en faveur de la réduction du stress oxydatif. Il a également réduit les niveaux de malonilealdéhyde (MDA), de diène conjugué (CGD) et les médiateurs pro-inflammatoires interleukine (IL)-1-beta, IL-6, facteur de nécrose tumorale-alpha (TNF- $\alpha$ ), IFN- $\gamma$ , et prostaglandine (PGE2) plutôt que IL-10 (Ahlatci *et al.*, 2014; Erboga *et al.*, 2016).

### 3.8.7. Activités anti-inflammatoires

Les résultats de différents modèles animaux suggèrent que les extraits de *Nigella sativa*, l'huile de graines et la thymoquinone (TQ) ont de fortes activités anti-inflammatoires. Dans certaines études, on a constaté qu'ils réduisaient la synthèse de NO, IL-1, cyclooxygénase (COX)-1, COX-2, histone désacétylase (HDAC) ainsi que d'autres médiateurs pro-inflammatoires tels que - IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , et PGE<sub>2</sub> (Ahlatci *et al.*, 2014). On a constaté que l'application topique de la TQ induit une expression de l'hèmeoxygénase (HO)-1, de la NAD(P)H-quinone oxidoreductase-1, de la GST et de la glutamate cystéine ligase chez les souris ; tandis que l'huile de graines inhibe les COX, la 5-LPO dans les voies du métabolisme de l'arachidonate chez les rats (Ahmad *et al.*, 2013).

### 3.8.8. Activité anticancéreuse

On a étudié que l'activité anticancéreuse de *N. sativa* avait l'activité des cellules tueuses naturelles (NK) chez les patients atteints de cancer avancé recevant un programme d'immunothérapie multimodale (Mohamed *et al.*, 2022). Dans une autre étude, l'activité antinéoplasique de la thymoquinone a été étudiée en utilisant des kératinocytes de souris, des cellules de papillome (SP-1) et de carcinome spindle-17. Dans les cellules SP-1, la

thymoquinone a induit un arrêt du cycle cellulaire G0/G1, ce qui a permis à la thymoquinone de jouer un rôle potentiel en tant qu'agent de prévention des tumeurs, en particulier aux premiers stades de la tumorigenèse cutanée (Gali-Muhtasib *et al.*, 2004). L'activité antitumorale de la thymoquinone et de la thymohydroquinone a également été démontrée en utilisant des lignées cellulaires tumorales et des fibrosarcomes, ainsi que des carcinomes cellulaires murins et squameux (Ivankovic *et al.*, 2006). Dans un modèle de xénogreffe de souris, l'association de la thymoquinone et du diosgène a permis de réduire significativement le volume et la masse des tumeurs et d'augmenter l'apoptose (Das *et al.*, 2012).

### 3.8.9. Activités antidiabétiques

Une étude met en avant les mécanismes moléculaires d'action de l'extrait éthanolique de graine de *Nigella sativa*. Le principal transporteur de glucose, Glut4, qui contrôle les états d'hyperglycémie, serait surexprimé dans les tissus périphériques en raison de l'activation de la voie AMPK, qui permet une absorption rapide du glucose par les muscles et, par conséquent, une diminution de la glycémie (Benhaddou-Andaloussi *et al.*, 2011). Après quatre semaines d'administration intragastrique de l'extrait éthanolique à des gerbilles, la glycémie s'est normalisée et l'insulinémie a augmenté. Il semblerait que la stimulation et la prolifération des cellules B du pancréas soient à l'origine de l'augmentation du taux d'insuline. (Benhaddou-Andaloussi *et al.*, 2008). La nigelle réduit également la résistance périphérique à l'insuline, ce qui augmente la sensibilité à l'insuline. Cet effet serait dû à l'activation par les cellules musculaires de l'AKT, une protéine impliquée dans la voie de signalisation de l'insuline.

### 3.8.10. Activités cardiovasculaires

Il est évident que la thymoquinone (TQ) diminue la pression artérielle systolique induite par le carburant (particules de diesel), les leucocytes, l'IL-6 et l'activité SOD du plasma. Elle empêche également de diminuer le nombre de plaquettes et les événements de prothrombine plutôt que l'agrégation plaquettaire (Ahlatci *et al.*, 2014). L'huile de graines noires réduit le cholestérol total (TC), le cholestérol des lipoprotéines de basse densité (LDL-C), et la thyroglobuline (TG) avec une augmentation du niveau de cholestérol des lipoprotéines de haute densité (HDL-C) (Huseini *et al.*, 2016).

### 3.8.11. Activité hépato-protectrice

Il est rapporté que l'administration de *Nigella sativa* protège les tissus hépatiques des effets délétères des métaux toxiques tels que le plomb, et atténue la peroxydation lipidique hépatique suite à une exposition à des produits chimiques tels que le carbontetrachloride (Kapoor, 2009). L'hépatotoxicité est associée à une altération des niveaux et des activités de certaines enzymes telles que la glutamique oxaloacétique transaminase sérique (SGOT), la glutamique-pyruvique transaminase sérique (SGPT), le système d'élimination des oxydants comprenant le glutathion (GSH), la superoxyde dismutase (SOD) et la catalase (CAT). L'action protectrice de la thymoquinone contre l'hépatotoxine : l'hydroperoxyde de terbutyle a été démontrée en utilisant des hépatocytes isolés de rat (Daba et Abdel-Rehman, 1998).

### 3.8.12. Activité néphroprotectrice

L'effet néphroprotecteur de la vitamine C et de l'huile de *Nigella sativa* a été observé contre la néphrotoxicité associée à la gentamicine chez les lapins. Il a été révélé que la vitamine C et l'huile de *Nigella sativa* ont toutes deux un effet néphroprotecteur car elles ont réduit les valeurs de la créatinine sérique, de l'azote de l'urée sanguine et de l'activité antioxydante par rapport aux valeurs du groupe témoin. Lorsque ces deux antioxydants ont été donnés en combinaison, ils se sont avérés avoir un effet néphroprotecteur synergique (Saleem *et al.*, 2012).

## 3.9. La toxicité de *Nigella sativa*

Bien que depuis des siècles, un mélange de graines noires et de miel soit utilisé dans la médecine traditionnelle, en particulier dans les pays islamiques en raison de sa mention dans le Hadith, ses effets toxiques ne sont pas clairs. Pour cette raison, une étude a été menée pour évaluer l'effet de l'administration pendant 14 jours de doses de 100, 500, 1000 et 2000 mg/kg de BSH à des rats *Sprague Dawley* mâles et a trouvé une DL50 > 2000 mg/kg. Les résultats ont montré une altération non notable du poids corporel et de la numération leucocytaire différentielle, ou des anomalies de l'histopathologie du foie et des reins (Lou *et al.*, 2018). Une autre étude menée sur l'administration de graines de *N. sativa* en poudre (0,01, 0,1 et 1 g/kg/jour) pendant 28 jours à des rats *Sprague Dawley* mâles n'a montré aucun effet sur le poids corporel des rats, ni sur les taux sériques des transaminases (AST, ALT) par rapport à un groupe témoin.

Des examens histologiques ont montré qu'un traitement de 28 jours avec ces doses de *N. sativa* n'avait aucuns effets nocifs sur le tissu hépatique des rats (Dollah *et al.*, 2013). Les graines de *N.*

sativa (3 g/jour pendant 3 mois) consommées par 39 sujets atteints d'obésité centrale n'ont pas entraîné d'effets secondaires marqués (Datau *et al.*, 2010). De même, les patients diabétiques qui ont consommé des graines de *N. sativa* (1, 2 et 3 g/jour pendant 3 mois) n'ont montré aucune altération significative de la fonction rénale ou hépatique (Bamosa *et al.*, 2010). Cependant, la consommation de graines de *N. sativa* (5 g/jour) a eu un effet inhibiteur sur le CYP2D6 et le CYP3A4 dans les microsomes du foie humain et chez des volontaires humains sains (Al-Jenoobi *et al.*, 2010). L'administration quotidienne d'un extrait aqueux de graines de *N. sativa* (2, 6, 4, 21,33 et 60 g/kg, par voie orale) à des souris pendant 6 semaines a produit des effets hépatotoxiques (basés sur des examens histopathologiques) à des doses supérieures de 21 g/kg, mais n'a pas influencé les tissus rénaux (en termes de niveaux d'urée et d'albumine). Un taux de mortalité élevé a été constaté après l'administration de 60 g/kg de l'extrait. Les résultats ont mis en évidence l'innocuité de *N. sativa* à des doses inférieures à 21 g/kg; cependant, l'extrait aqueux des graines n'a pas été caractérisé (Bensiameur-Touati *et al.*, 2017).

---

***Chapitre 4:***  
***Matériel et méthodes***

---

## Chapitre 4: Matériel et méthodes

### 4. Matériel et méthodes

L'étude expérimentale a été réalisée au niveau de plusieurs laboratoires.

Analyses	Laboratoires
Analyse physico- chimique	Laboratoire de CGS Seybouse la Belle (Annaba, Algérie).
Analyse HPLC	Laboratoire de Recherche de Chimie Analytique, Faculté de Médecine, Université Badji Mokhtar (Annaba, Algérie).
Dosage phyto- chimique	Laboratoire de Biochimie du Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBt) (Constantine, Algérie).
Dosage des paramètres biochimiques.	Laboratoire d'Analyses Médicales de l'Hôpital El-hadjar (Annaba, Algérie).
Dosage des paramètres hématologiques	Laboratoire d'Hématologie de l'Hôpital Ibn Roched (CHU d'Annaba, Algérie).
Dosage des paramètres du stress oxydatif	Laboratoire de Recherche de Biochimie et Microbiologie Appliquées, Faculté des Sciences, Université Badji Mokhtar (Annaba, Algérie).

### 4. Matériel

#### 4.1. Produits chimiques

<p>Tous les réactifs utilisés sont de grade analytique et proviennent de Sigma Aldrich, Fluka et prolabo</p>	<p>le Folin-Ciocalteu (FCR), le carbonate de sodium (<math>\text{Na}_2\text{CO}_3</math>), l'acide 3,4,5-trihydroxybenzoïque (acide gallique), le nitrate d'aluminium (<math>\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}</math>), le potassium acétate (<math>\text{CH}_3\text{COOK}</math>), 3,3',4',5,7-pentahydroxy-2-phénylchromén-4-one(quercétine), le 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle(DPPH) le 2,6-Di-tert-butyl-4-méthylphenol (BHT), le 2(3)-t- Butyl-4-hydroxyanisole (BHA), 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS), le persulfate de potassium (<math>\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8</math>), le chlorure de cuivre(II) (<math>\text{CuCl}_2</math>), 2,9-diméthyl-1,10- phenanthroline (néocuproïne), l'acétate d'ammonium (<math>\text{AcNH}_4</math>), le 5,5-dithiobis-2 nitro acide benzoïque (DTNB), le glutathion (GSH), l'acide thiobarbiturique (TBA), le 1-chloro,2.4- dinitrobenzène (CDNB).</p>
--	---

#### 4.1.1. Préparation de l'huile de friture

L'huile ordinaire (HO) (comestible) de la marque Elio (Cevital Agro-Industrie, Algérie) est composée de 80 % d'huile de soja et de 20 % d'huile de tournesol. L'huile de friture (HF) est obtenue à partir des utilisations répétées et à haute température (190 - 220 °C) d'huile comestible pour la confection de Zalabia (confiserie traditionnelle algérienne).

#### 4.1.2. Préparation de la poudre de la nigelle

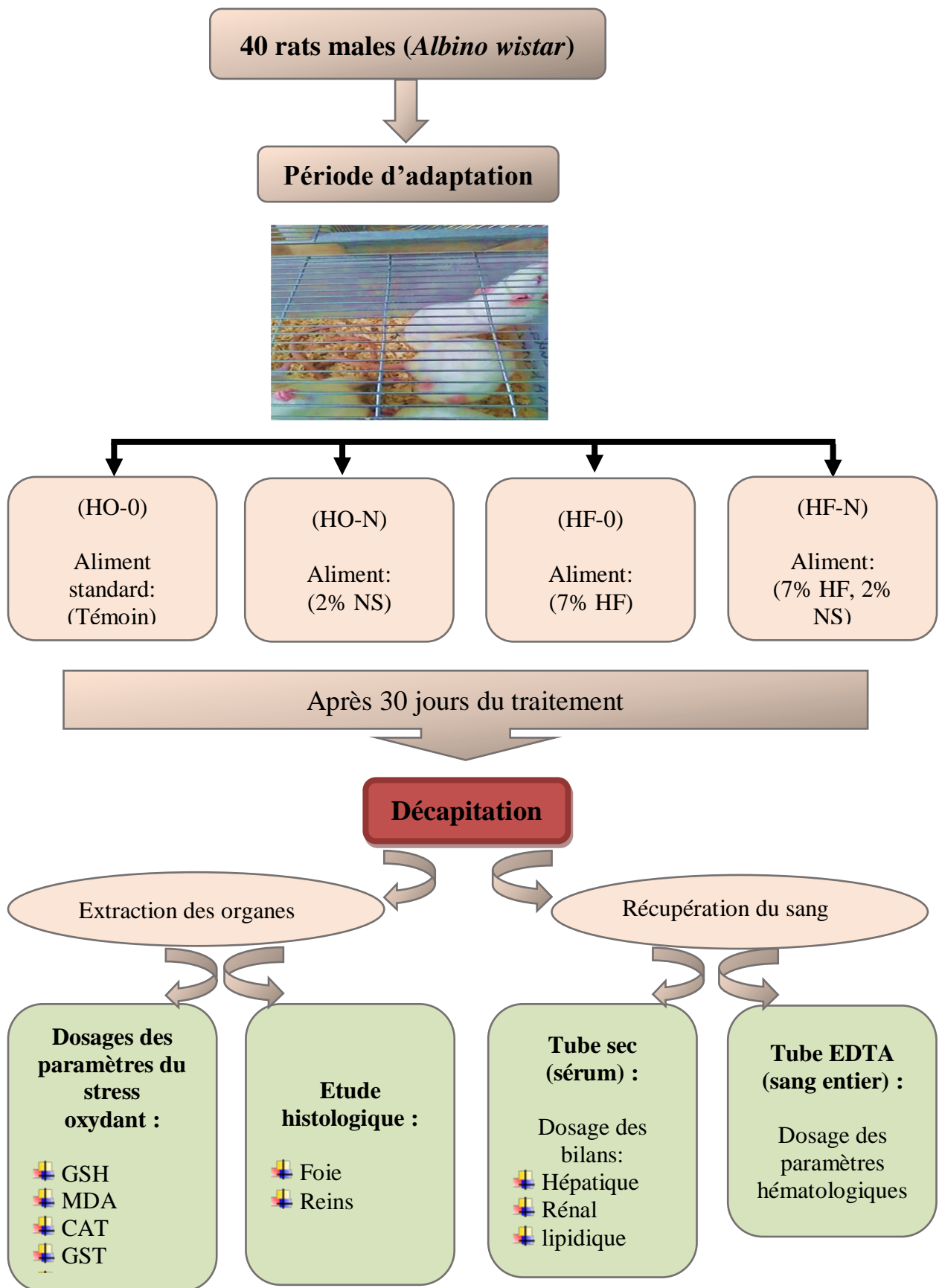
Les graines de *Nigella sativa* importées d'Arabie saoudite ont été achetées sur le marché local d'Annaba, Algérie. Elles ont été débarrassées des résidus végétaux, broyées dans un mixeur pour obtenir une poudre, puis conservées dans des récipients hermétiques à une température ambiante jusqu'à la préparation du régime expérimental. Cette poudre diététique a été donnée aux rats à raison de 2 % d'aliments.

#### 4.1.3. Entretien et traitement des animaux

L'expérimentation animale a été réalisée conformément aux directives approuvées par le comité d'éthique de l'université d'Annaba en Algérie. La déclaration de Bâle (Abbott, 2010) sur le soin et l'utilisation des animaux de laboratoire a été respectée pour le traitement des animaux utilisés dans cette étude.

**Tableau 2:** Composition du régime alimentaire pour 1 kg d'aliment (Upreti *et al.*, 1989).

Matériau alimentaire	Quantité en g/kg d'aliment	Pourcentage (%)
Amidon (maïs)	250	25
Saccharose	250	25
Soja	380	38
Composant Minéro-Vitaminique (CMV)	30	3
Huile (HO/HF)	70	7
Son	20	2



**Figure 12:** Schéma récapitulatif du protocole expérimental

## 4.2. Méthodes

### 4.2.1. Analyses physicochimiques des huiles

#### 4.2.1.1. Détermination de l'acidité des huiles

Le principe de la méthode consiste à dissoudre l'échantillon dans l'alcool en présence de phénolphthaléine, puis à effectuer un titrage à chaud des acides gras libérés présents dans l'huile avec une solution de NaOH (0,1 N) (ISO).

L'acidité a été déterminée en prenant 10 grammes de chaque échantillon des deux huiles (ordinaire et de friture) et en ajoutant 75 ml d'éthanol à 95° puis en neutralisant en présence de quelques gouttes de phénolphthaléine à 1 %. Le processus de titrage a été arrêté lorsque la solution a pris une couleur rose. L'acidité a été calculée à l'aide de l'équation ci-dessous:

$$\text{Indice d'acidité} = (N \times V \times \text{Geq}) / (P \times 10)$$

N : normalité du NaOH (0,1 N)

V : volume dépensé pour le titrage (ml)

Geq : équivalent gramme d'acide oléique (282 g/mol)

P : poids (g) de l'échantillon analysé

#### 4.2.1.2. Détermination de l'indice de peroxyde (PV) des huiles

L'indice de peroxyde est le nombre de milliéquivalents d'oxygène actif par kilogramme d'iodure de potassium oxydant d'acide gras avec libération d'iode (ISO).

Peser 10 grammes de chaque échantillon de deux huiles (HO et HF), Ajouter 20 ml du mélange (acide acétique + chloroforme), puis 0,5 ml de solutions d'iodure de potassium. Boucher immédiatement le ballon, l'agiter pendant 1 minute et le laisser reposer pendant 5 minutes exactement, à l'abri de la lumière et à une température de 15 à 25 °C. Après 5 minutes, ajouter 75 ml d'eau distillée et un peu d'amidon. Titrer l'iode libéré avec la solution de thiosulfate en agitant vigoureusement jusqu'à l'apparition d'une couleur blanche en présence de quelques gouttes de pâte d'amidon. Un blanc a également été établi en même temps. Les indices de peroxyde des échantillons d'huile ont été calculés à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Indice de peroxyde} = (V - V_0) \times 10 / p$$

V : volume (ml) de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (0,01 N) nécessaire pour titrer l'échantillon

Vo : volume (ml) de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (0,01 N) nécessaire pour titrer l'essai à blanc

p : portion d'essai (g) de l'échantillon.

#### **4.2.1.3. Détermination de l'humidité des huiles**

La méthode est basée sur la détermination du poids de l'huile avant et après le séchage (ISO). Dans ce cas, la teneur en eau de l'huile est déterminée.

Peser environ 20 g de deux types d'huile (HO et HF) dans deux béchers préalablement séchés et pesés, puis mettre les deux béchers contenant la partie à tester dans le four pendant 2 heures. Ensuite, on le laisse refroidir en dessiccation pendant une heure, au bout de laquelle il est pesé une seconde fois. La valeur de l'humidité a été calculée comme suit:

$$\text{Humidité} = (M1-M2) / (M1-M0)$$

M1 : poids du bécher et de la prise d'essai avant le chauffage

M2 : poids du bécher et de la prise d'essai après le chauffage

M0 : poids du bécher vide

#### **4.2.1.4. Détermination de la couleur des huiles**

Pour cette détermination, un colorimètre électronique "Lovibond" est utilisé. L'échantillon d'huile à analyser est versé dans une cellule de verre de cinq pouces de ¼-sprout. La valeur de la couleur est lue directement sur l'appareil. Les résultats sont déterminés en unités (J) et rouge (R) (ISO).

### **4.2.2. Etude phyto-chimique de la nigelle**

#### **4.2.2.1. Préparation d'extrait de la nigelle**

38,8 g de la nigelle en poudre ont été macérés dans 388 ml d'extrait hydrométhanolique (80:20 V/V) sous agitation continue pendant 72 heures à une température ambiante. Ensuite, la solution hydrométhanolique a été filtré sur papier Wattman et concentré à 40 °C sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif (BUCHI) pour donner l'extrait brut, qui est conservé à 4 °C jusqu'à l'analyse. Le rendement d'extraction a été déterminé en pourcentage à l'aide de la formule :  
Rendement (%) = (poids sec de l'extrait/poids sec de la plante) × 100.

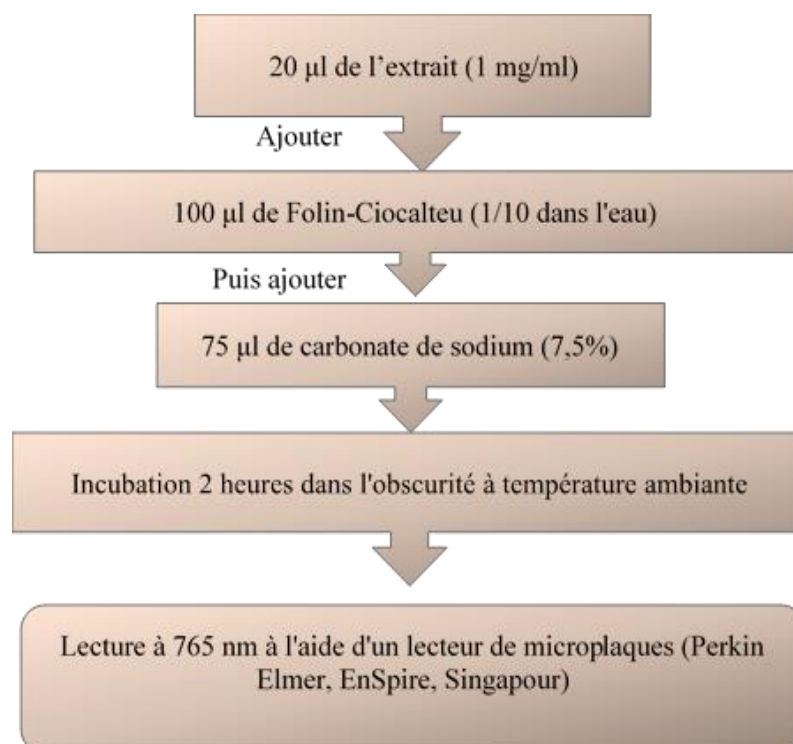
#### **4.2.2.2. Analyse HPLC**

Les composés phénoliques et bioactifs ont été mesurés par chromatographie liquide haute performance (Shimadzu Prominence-I LC-2030c) avec un détecteur UV. La séparation a été réalisée à 40 °C sur une colonne chromatographique C18 (250 mm X 4,6, 5 µm). La phase mobile était composée d'un solvant A (mélange de 80 % eau + 19 % acétonitrile + 1 % acide formique), et d'un solvant B (mélange de 59 % acétonitrile + 40 % méthanol + 1 % acide formique). Le débit était de 1 ml/min. L'analyse a été effectuée en utilisant le gradient d'élution suivant: 95 % A/5 % B à 5 min; ensuite, 85 % A/15 % B à 15 min; 80 % A/20 % B à 20 min; 40 % A/60 % B à 40 min; 0 % A/100 % B à 45 min; 100 % A/0 % B à 50 min. Le volume d'injection étant de 10 µL, temps d'analyse: 60 min et la détection s'est faite à une longueur d'onde de 350 nm. L'identification et les analyses quantitatives ont été réalisées en comparant les spectres UV et les temps de rétention avec ceux des standards.

#### 4.2.2.3. Dosages des polyphénols totaux (TPC)

La teneur en polyphénols totaux a été estimée par spectrophotométrie dans une microplaque 96 puits par la méthode de Folin-Ciocalteu selon (Müller *et al.*, 2010).

**Mode opératoire:** Un blanc a été préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (Méthanol).

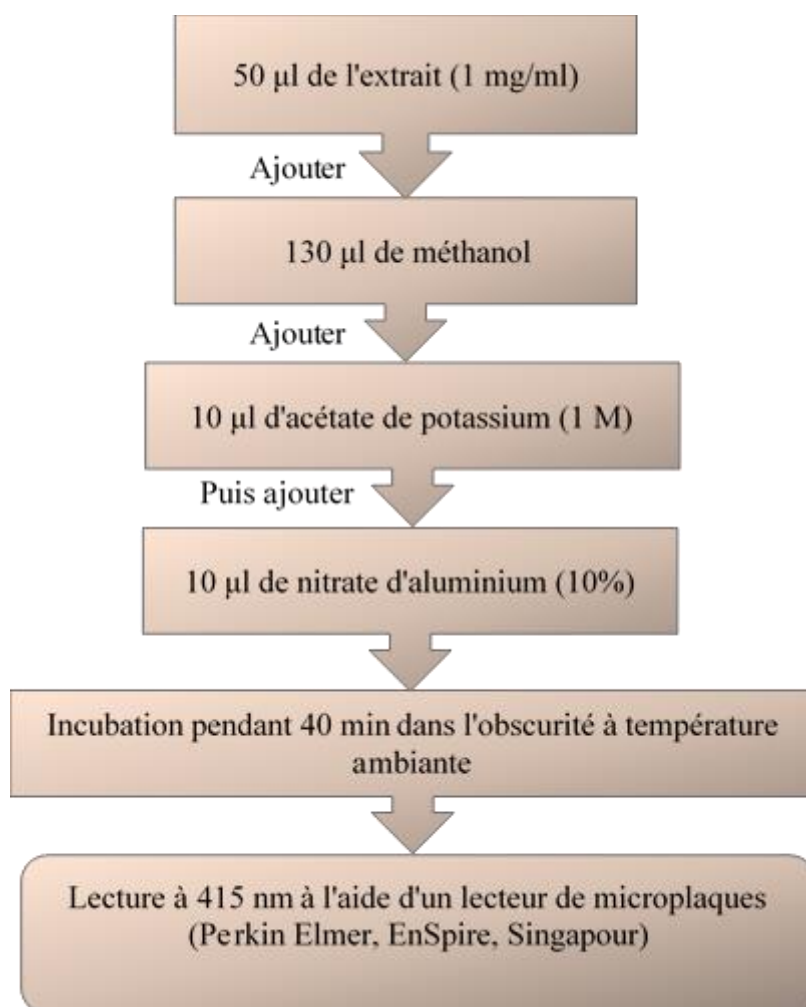


La concentration phénolique totale a été calculée en utilisant l'équation de régression linéaire obtenue à partir de la courbe standard d'acide gallique et est exprimée en ( $\mu\text{g EAG/mg}$  d'extrait). ( $y=0.0034x+0,1044$ ) avec  $R^2 = 0.9972$  (Figure A, Annexe 2).

#### 4.2.2.4. Dosage de la teneur totale en flavonoïdes (TFC)

La teneur totale en flavonoïdes a été évaluée selon la méthode rapportée par Topçu *et al.* (2007) avec quelques modifications pour une détermination sur microplaque 96 puits.

**Mode opératoire:** Un blanc a été préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (Méthanol).



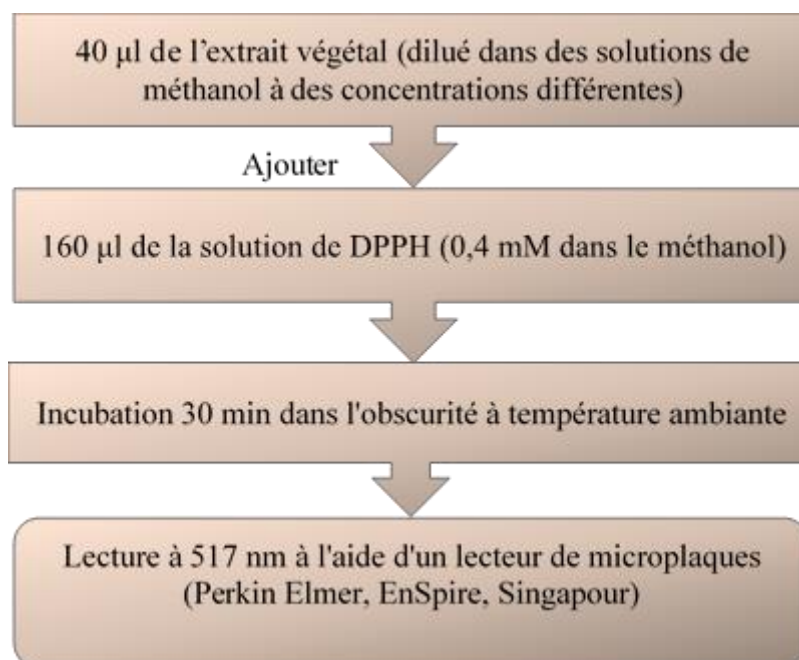
La teneur en flavonoïdes a été déterminée en utilisant la courbe d'étalonnage réalisée avec la quercétine (0,2mg/ml) et est exprimée en ( $\mu\text{g EQ/mg}$  d'extrait). ( $y=0,0048x$ ) avec  $R^2 = 0,997$  (Figure B, Annexe 2).

### 4.2.3. Activité antioxydante de l'extrait de la nigelle

#### 4.2.3.1. Activité de piégeage des radicaux DPPH

L'activité de piégeage des radicaux libres est déterminée par spectrophotométrie dans une microplaque à 96 puits par le dosage du DPPH (Blois, 1958). Le principe de cette méthode est basé sur la réduction du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette en 2,2 diphényl-1-picrylhydrazine de couleur jaune.

*Mode opératoire:* Un blanc a été préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (Méthanol).



L' $\alpha$ -tocophérol, le BHT et le BHA sont utilisés comme standards antioxydants. Les pourcentages d'inhibition ont été calculés en employant l'équation suivante:

$$\% \text{ d'inhibition} = (\text{AC}-\text{AS}/\text{AC}) \times 100$$

Ac: absorbance du contrôle

As: absorbance de l'échantillon

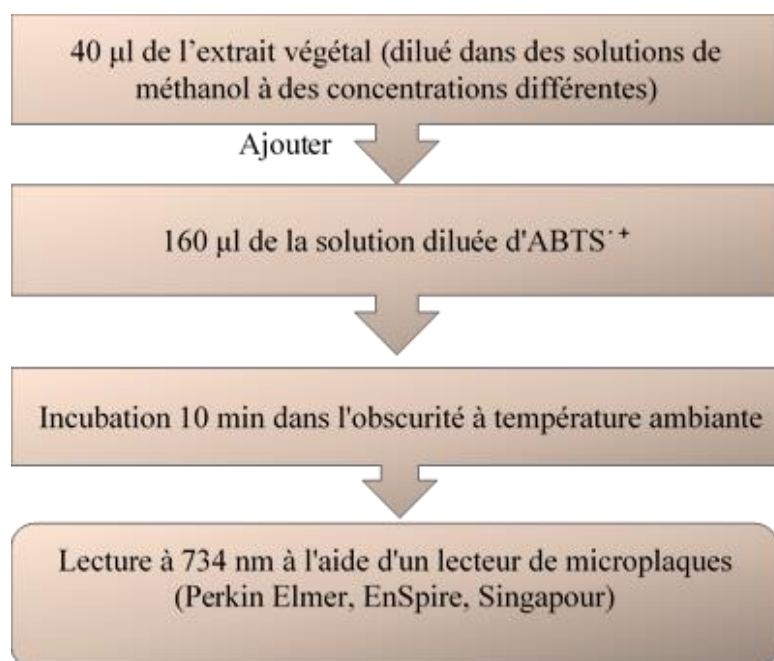
IC<sub>50</sub>: correspondant à la concentration de l'extrait inhibant 50 % du radical libre DPPH

#### 4.2.3.2. Activité de piégeage des radicaux ABTS

L'ABTS<sup>+</sup> est un radical cationique de couleur bleu-verte, ce radical est généré en réagissant le persulfate de potassium (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) avec l'ABTS (acide 2,2'-azino-bis 3-éthylbenz-thiazoline-6-sulfonique). L'ajout d'antioxydants va réduire ce radical et le transforme en ABTS<sup>+</sup> incolore. Cette décoloration mesurée par spectrophotométrie à 734 nm reflète la capacité de capture du radical libre (Walker *et al.*, 2009).

L'activité de piégeage de l'ABTS a été évaluée selon la méthode de Re *et al.* (1999), avec de légères modifications. Le radical ABTS<sup>•+</sup> est généré en ajoutant 7 mM de la solution aqueuse d'ABTS et 2,45 mM de persulfate de potassium (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) pendant 16 h dans l'obscurité et à une température ambiante. La solution obtenue a ensuite été diluée jusqu'à l'obtention d'une absorbance de 0,7 à 734 nm.

**Mode opératoire:** Un blanc a été préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (Méthanol).



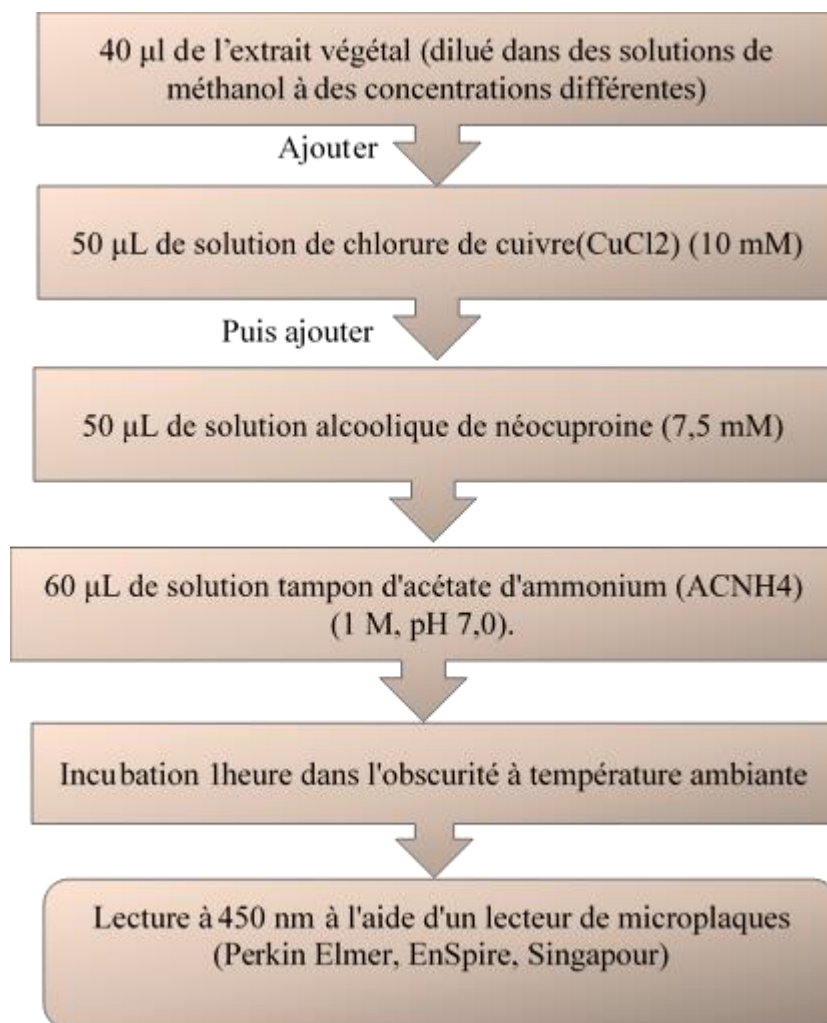
Le BHA et le BHT ont été utilisés comme standards antioxydants pour la comparaison. L'activité de piégeage de l'ABTS a été exprimée en pourcentages d'inhibition calculés à l'aide de la formule suivante:

$$\text{Piégeage du radical ABTS (\%)} = (A \text{ contrôle} - A \text{ sample}) \times 100 / A \text{ contrôl}$$

#### 4.2.3.3. Capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC)

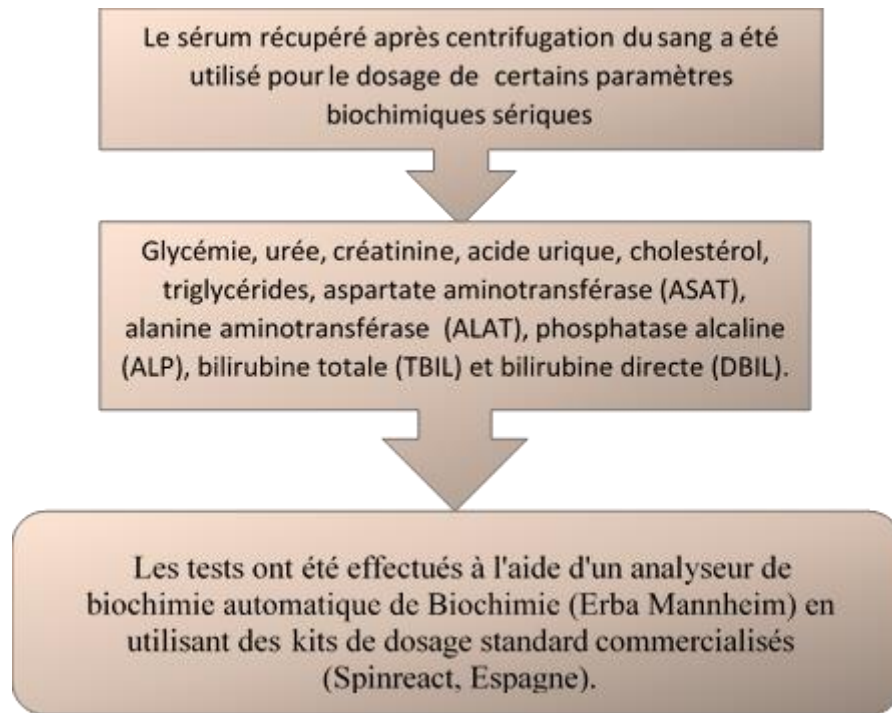
La méthode CUPRAC est basée sur le suivi de la diminution de l'absorbance accrue du complexe Cu (II)-Néocuproïne de couleur bleu claire. En effet, en présence d'un agent antioxydant, ce complexe est réduit en Cu (I)-Néocuproïne de couleur jaune orangé, cette réaction est quantifiée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 450 nm (Tütem *et al.*, 1991). La capacité antioxydante par réduction de cuivre est testée par la méthode d'Apak et ses collaborateurs (2004) avec légère modification.

**Mode opératoire:** Un blanc a été préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (Méthanol).

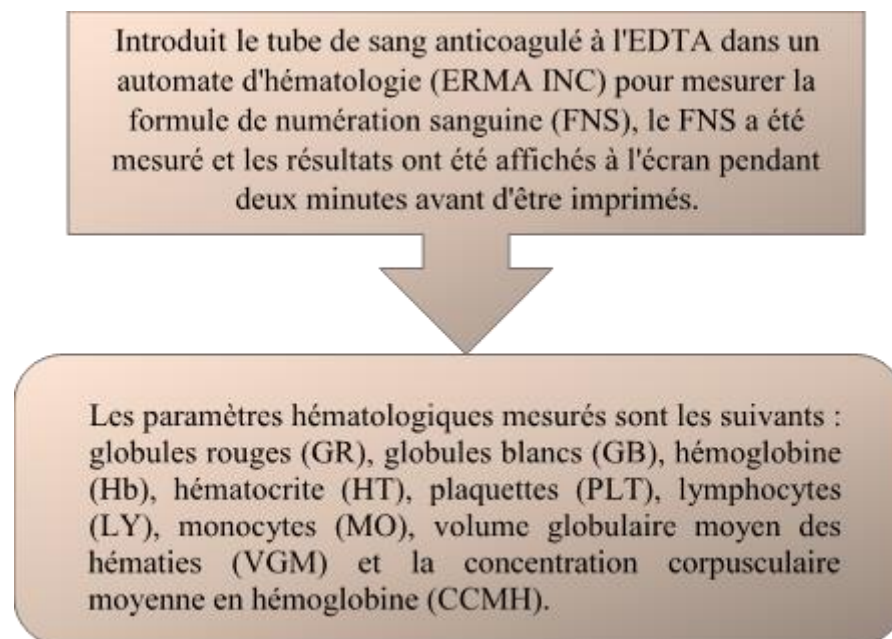


La capacité de réduction de l'extrait de la nigelle a été comparée à celle du BHA et du BHT et les résultats ont été exprimés en  $A_{0,50}$ (µg/ml) qui signifie la concentration qui indique une absorbance de 0.5.

#### 4.2.4. Dosage des paramètres biochimiques



#### 4.2.5. Dosage des paramètres hématologiques



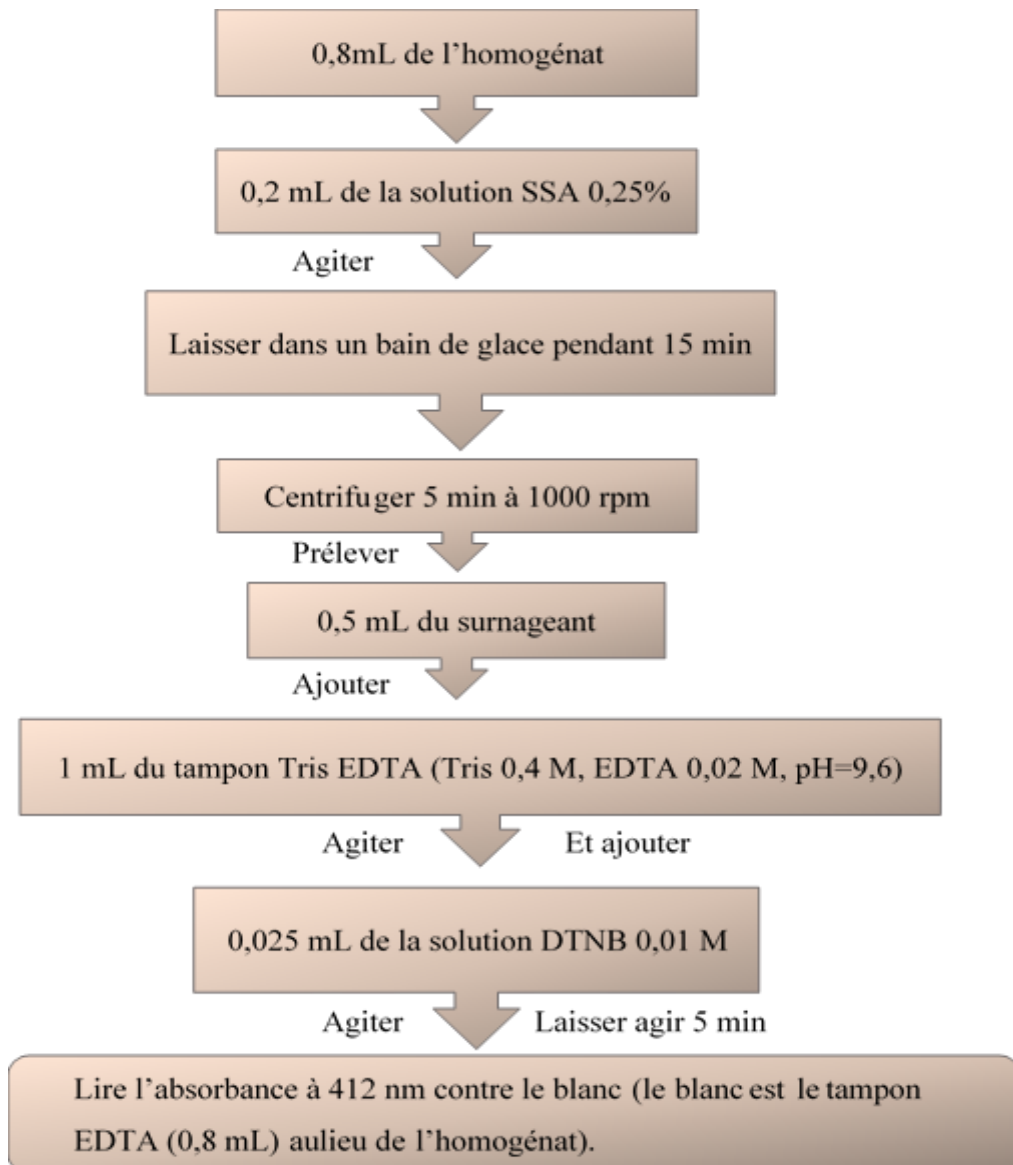
#### 4.2.6. Dosage des paramètres du stress oxydant

##### 4.2.6.1. Préparations des homogénats et surnageants tissulaires

Pour déterminer le taux du glutathion réduit (GSH), environ 100 mg de chaque tissu (foie, reins, cœur, rate, intestins, testicule) ont été placés en présence de 4 mL d'une solution 0,02 M d'acide éthylène diamine tétra acétique (EDTA), puis ont été homogénéisés à l'aide d'un broyeur ultrason (WiseTis) à froid (4 °C) pour obtenir un homogénat. Pour le dosage des activités de la glutathion peroxydase (GPx) et de la glutathion S-transférase (GST), environ 200 mg du foie, reins et intestins ont été homogénéisés par un broyeur ultrason (WiseTis) à froid (4 °C) dans 2 mL d'une solution TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7,4). Alors que pour la détermination le niveau du malondialdéhyde (MDA) et l'activité enzymatique de la catalase (CAT), 200 mg de chaque tissu des trois organes précédents ont été mis en présence de 2 ml de tampon phosphate (0,1 M, pH 7,4), puis ont été broyés à froid (4 °C) en utilisant un broyeur ultrason (WiseTis).

##### 4.2.6.2. Dosage du glutathion (GSH)

**Principe :** La méthode colorimétrique de Weckbecker et Cory (1988) a été utilisée pour effectuer le dosage du glutathion. Ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5-mercapturique. L'acide mercapturique est produit lorsque les groupes (-SH) du glutathion réduisent l'acide 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoïque (réactif d'Ellman, DTNB). Il est nécessaire de déprotéiniser l'homogénat afin de ne conserver que les groupements thiols propres au glutathion. L'acide nitromercaptobenzoïque a une couleur jaune qui peut être déterminé spectrophotométrique à une longueur d'onde de 412 nm.

**Mode opératoire:**

**Calcul de la concentration de GSH :** la concentration du glutathion est obtenue par la formule suivante:

$$[\text{GSH}] \text{ (nmol/mg protéines)} = (\text{DO} \times 1 \times 1,525) / (13,1 \times 0,8 \times 0,5 \times [\text{mg proteins}])$$

**DO:** Densité optique.

**1:** Volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation (0.8mL homogénat + 0,2 ml de l'acide salicylique).

**1,525:** Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant(0,5 ml surnageant +1 ml Tris + 0,025 ml DTNB).

**13,1:** Coefficient d'absorbance du groupement –SH à 412 nm.

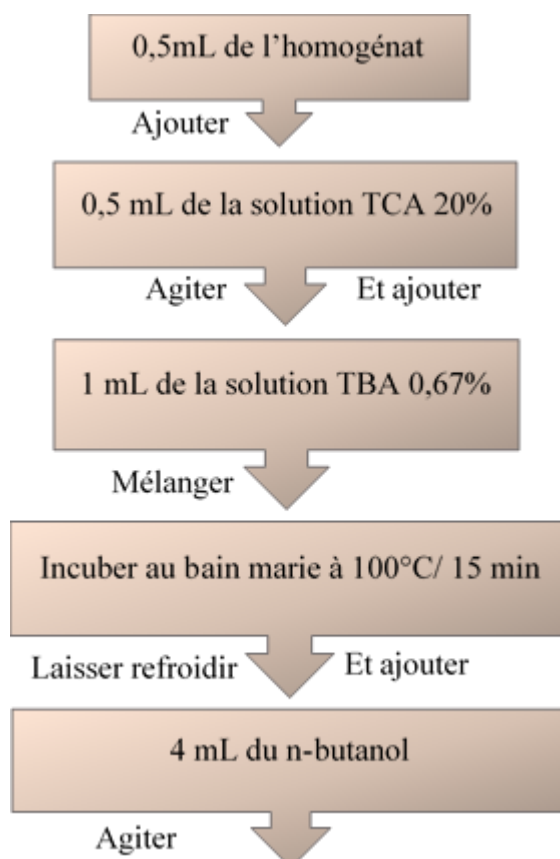
**0,8:** Volume de l'homogénat.

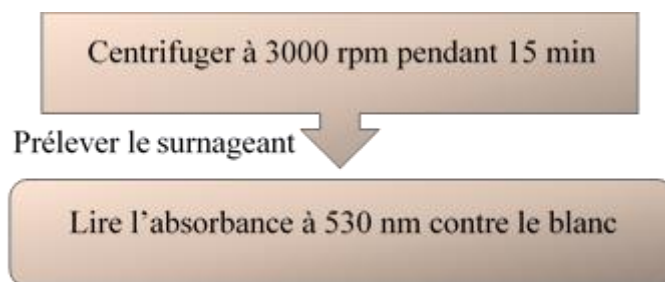
**0,5:** Volume du surnageant.

#### 4.2.6.3. Dosage du malondialdéhyde (MDA)

**Principe :** Le MDA est l'un des sous-produits créés lorsque les radicaux libres produits pendant le stress oxydatif décomposent les acides gras polyinsaturés (AGPI). Dans notre étude, la méthode Ohkawa et al. (1979) a été utilisée pour mesurer les taux de MDA dans les tissus. Le dosage repose sur la formation d'un pigment coloré entre le MDA et l'acide thiobarbiturique (TBA) dans un milieu acide extrêmement chaud (100°C), qui absorbe à 530 nm et peut être extrait à l'aide de solvants organiques tels que le butanol.

**Mode opératoire :**

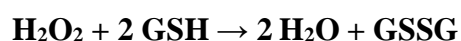




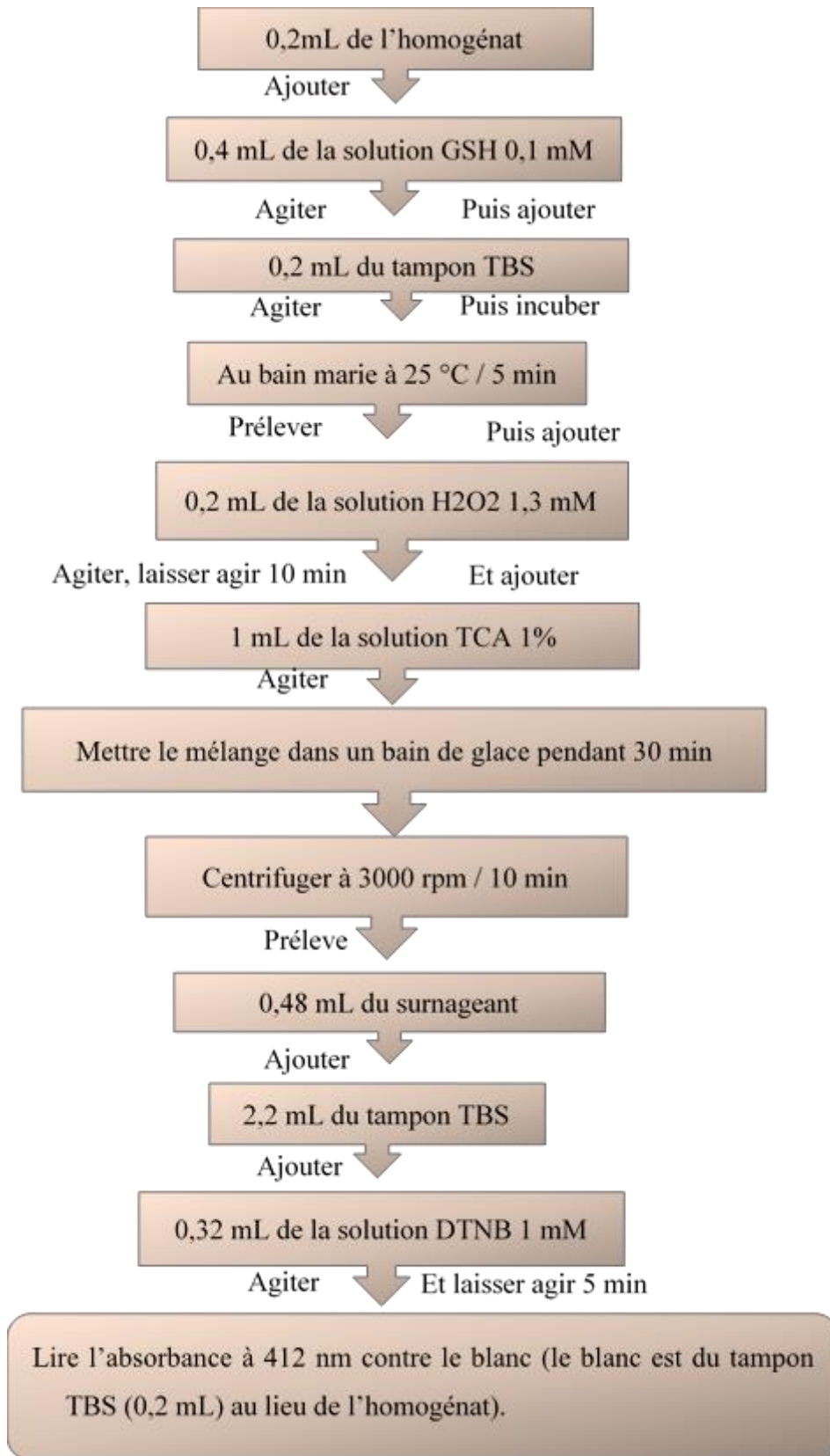
**Calcul de la concentration du MDA:** Afin de calculer la concentration de MDA exprimée en nmol/g de tissu, la densité optique obtenue est rapportée à la courbe d'étalonnage réalisée avec le 1,1'3,3'-tétraéthoxypropane dans les mêmes conditions de travail (figure D, appendice 2).

#### 4.2.6.4. Dosage de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx)

**Principe:** l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx) a été mesurée par la méthode de Flohé et Günzler (1984.) Cette procédure consiste à réduire le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en présence de glutathion réduit (GSH), qui est ensuite converti par l'action de la GPx en sa forme oxydée (GSSG). selon la réaction suivante :



**Mode opératoire:**



**Calcul de l'activité enzymatique de la GPx:** la détermination de l'activité enzymatique de la GPx se fait à l'aide de la formule suivante :

$$Q = (\text{DO échantillon} - \text{DO étalon}) \times 0,04 / \text{DO étalon}$$

$$\text{GPx } (\mu\text{mol GSH}/\text{min}/\text{mg de prot}) = Q \times 5 / [\text{mg de protéines}]$$

- Q: Quantité de GSH disparue (oxydée).
- DO échantillon: Densité optique de l'échantillon
- DO étalon: Densité optique de l'étalon
- 0,04: Concentration de substrat (GSH)
- 5 : Volume total des solutions.

#### 4.2.6.5. Dosage de l'activité enzymatique de la glutathion S-transférase (GST)

**Principe:** La méthode Habig et al. (1974) a été utilisée pour mesurer l'activité de la GST. Cette méthode consiste à donner à l'enzyme un substrat, généralement le 1-chloro, 2,4-dinitrobenzène (CDNB), qui est facilement conjugué avec le glutathion par une variété d'isoenzymes de la GST. Le complexe GSH-CDNB est généré par la réaction de conjugaison entre ces deux produits et est mesuré pendant 1 minute durant 5 minutes à 340 nm.

#### Mode opératoire:

Réactifs	Blanc (μL)	Essai (μL)
Tampon phosphate (0,1 M) pH 6,5	850	830
CDNB (0,02 M)	50	50
GSH (0,1 M)	100	100
Homogénat	-	20

**Calcul de l'activité enzymatique de la GST:** l'activité enzymatique de la GST est obtenue par la formule suivante:

$$\text{GST (nmol GSH-CDNB}/\text{min}/\text{mg prot}) = (\text{DOe}/\text{min} - \text{DOb}/\text{min}) / (9,6 [\text{mg protéines}])$$

**DOe/min:** Densité optique de l'échantillon par minute.

**DOb/min:** Densité optique du blanc par minute.

**9,6:** Coefficient d'extinction du GSH-CDNB exprimé en  $\text{mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ .

#### 4.2.6.6. Dosage de l'activité enzymatique de la catalase (CAT)

**Principe:** La méthode développée par Aebi (1984) est utilisée pour évaluer l'activité enzymatique de la CAT. Le peroxyde d'hydrogène est décomposé en eau et en oxygène par la CAT. Un spectrophotomètre a été utilisé pour mesurer l'activité de la CAT à 240 nm toutes les 15 secondes pendant une minute. La variation de la densité optique causée par la dismutation du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à une température d'incubation de 25°C .

#### Mode opératoire

Réactifs	Blanc (µL)	Essai (µL)
Tampon phosphate (0,1 M) pH 7,5	800	780
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (0,5 M)	200	200
Homogénat (S9)	-	20

**Calcul de l'activité enzymatique de la CAT:** l'activité de la CAT exprimée en micromoles de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> par minute par milligramme de protéines (µmol de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/min/mg prot) selon la formule suivante:

$$\text{CAT } (\mu\text{mol de H}_2\text{O}_2/\text{min/mg prot}) = \Delta \text{ DO} / \varepsilon \times L \times [\text{mg protéines}]$$

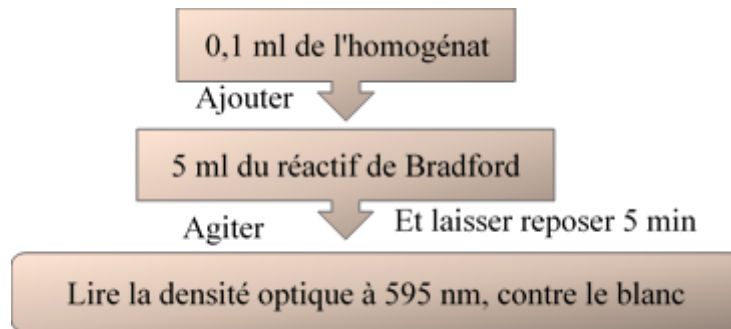
**ΔDO :** Variation de la densité optique par minutes.

**ε :** Coefficient d'extinction du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0,04 mM<sup>-1</sup>.Cm<sup>-1</sup>).

**L :** Largeur de la cuve ou longueur du trajet optique (1 cm).

#### 4.2.6.7. Dosage des protéines tissulaires

**Principe:** En utilisant le bleu de Coomassie (G 250) comme réactif, la méthode Bradford (1976) est utilisée pour calculer la concentration en protéines. Ce réactif réagit avec les groupes amines (-NH<sub>2</sub>) des protéines pour créer un complexe bleu dont l'aspect dépend de l'ionisation du milieu acide et dont l'intensité est liée à la concentration en protéines.

**Mode opératoire**

**Calcul de la concentration des protéines :** Une courbe d'étalonnage est utilisée pour représenter la densité optique obtenue. La concentration en protéines est calculée en comparant la concentration en protéines à une gamme standard d'albumine sérique bovine (1 mg/ml) produite dans des circonstances identiques (figure C, annexe 2).

**4.2.7. Etude histologique**

Les coupes histologiques ont été réalisées au Service d'Anatomie Pathologique du CHU 'Ibn Roched' à Annaba, suivant la technique décrite par (Houlot,1984). La technique comporte les étapes suivantes:

**Fixation des échantillons:**

Elle a pour but la conservation des structures dans un état aussi proche que possible de leur état vivant, avec arrêt de toutes activités mitotique et enzymatique. Ainsi que le durcissement de la pièce anatomique. Le temps de la fixation est essentiel pour la réussite de la technique histologique

La fixation des échantillons (foie et rein) dans une solution de formol à 10 %.

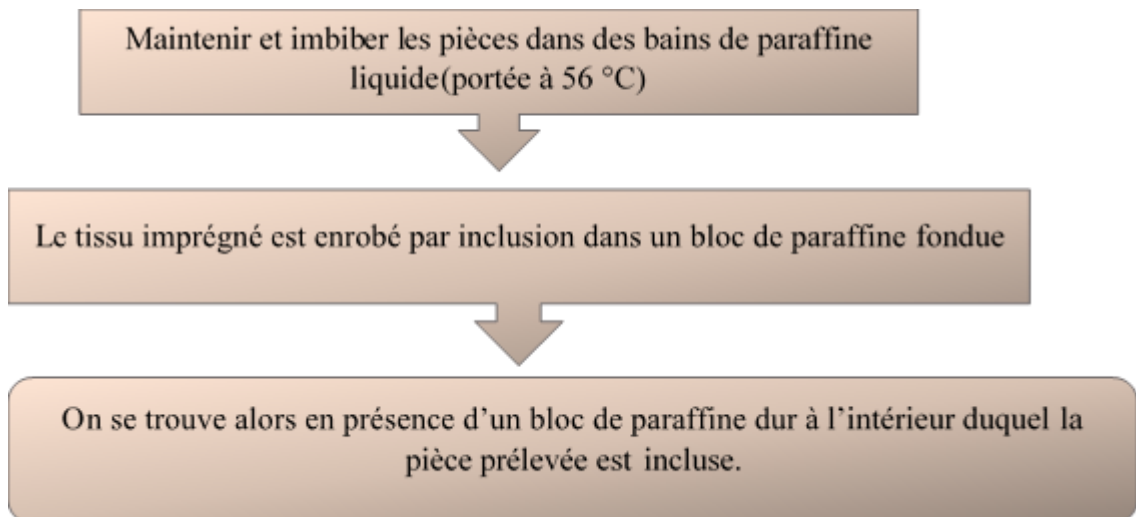
Retirer les organes du formol et les couper à l'aide de couteaux tranchant avec une surface de 1 à 2 cm<sup>2</sup> et une épaisseur proche de 1,5 mm.

Les prélèvements réalisés sont alors mis dans des cassettes spéciales à parois tournées afin de permettre le passage des liquides.

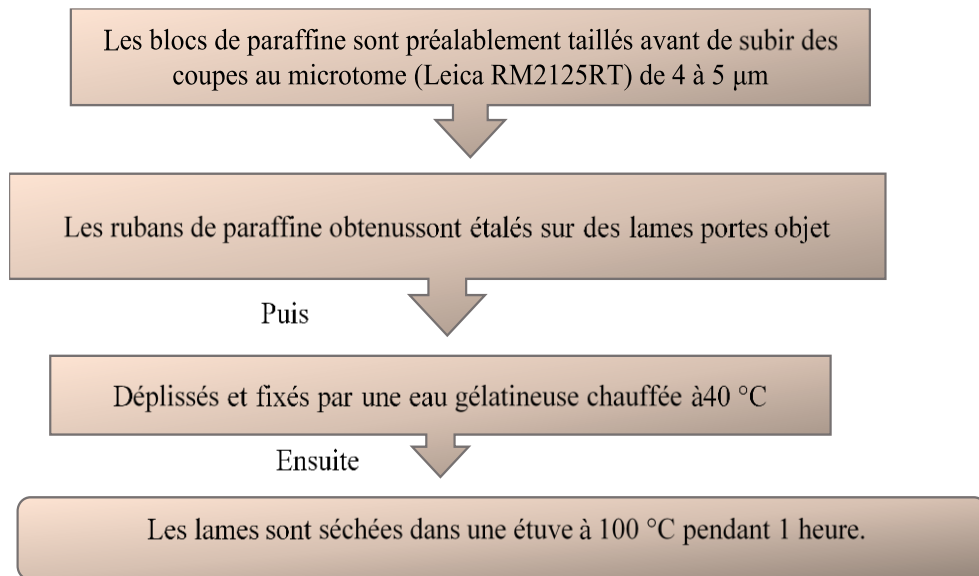
**Déshydratation:** les échantillons sont déshydratés dans un automate (Leica TP1020) qui permet leurs passages automatiques et progressifs dans des bains d'alcools pendant 24 heures de concentrations croissantes (70 %, 95 % et 100 %). Cette étape prépare l'inclusion, vu que la paraffine est hydrophobe.

**Imprégnation:** cette étape signifie le passage du prélèvement dans un liquide intermédiaire afin d'en éliminer les traces d'alcool (la paraffine étant non miscible à l'alcool). On utilise dans cette étape d'imprégnation le xylène (trois bains de 30 minutes chacun).

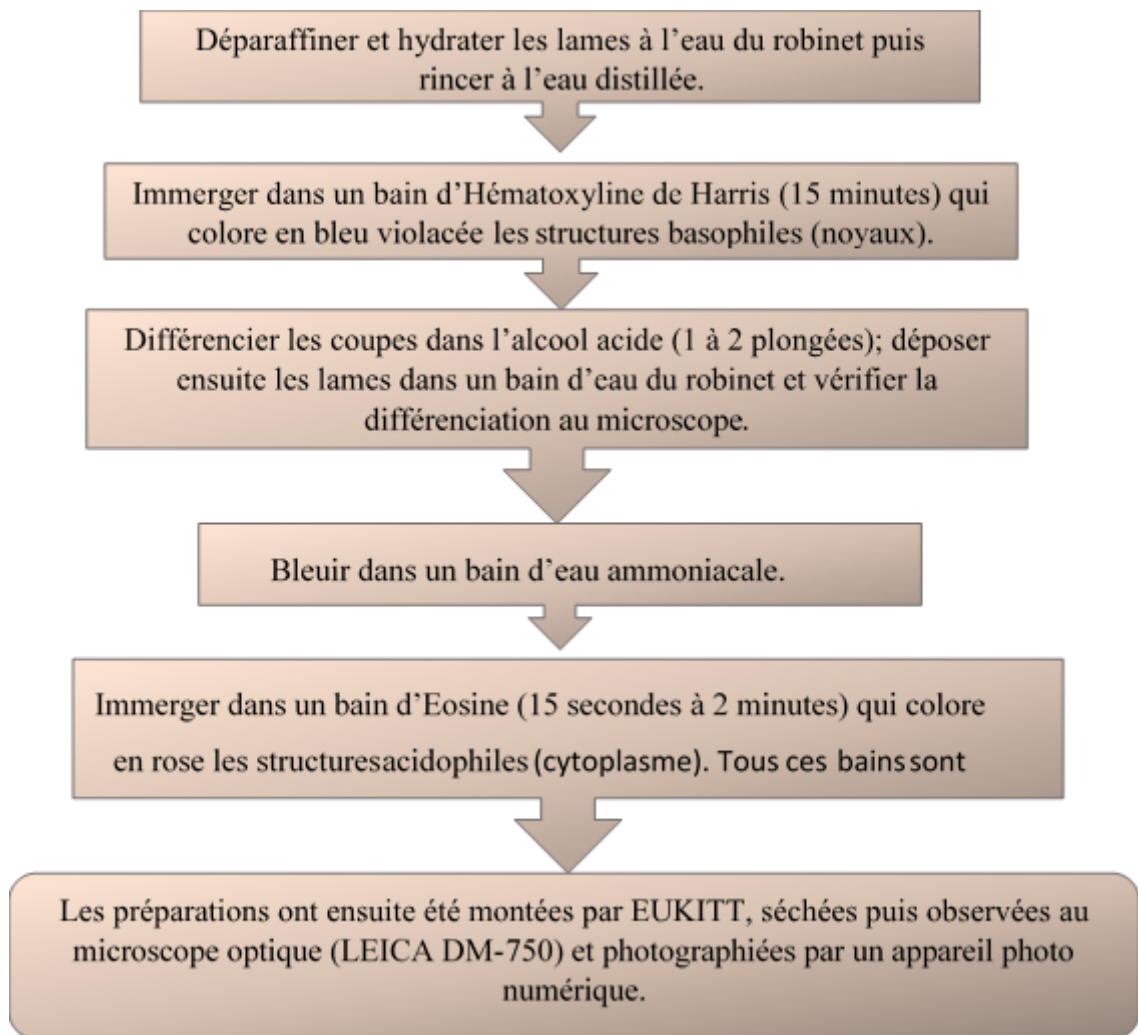
**Inclusion des échantillons:** elle a pour but de permettre la réalisation de coupes fines et régulières.



**Confection des coupes histologiques:**



**Coloration:** pour la coloration, on a utilisé la technique à l'Hématoxyline-Eosine ou (Hématéine-Eosine); qui nécessite la présence de l'alcool acide (100 ml d'alcool éthylique à 70 % + 50 ml d'acide HCl), eau ammoniacale (100 ml d'eau distillée + 2 ml Ammoniaque) et solution d'Eosine (100 ml Eosine solution aqueuse à 3 %, 125 ml alcool éthylique à 95 %, 375 ml d'eau distillée et 2 gouttes d'acide acétique). La coloration suit les étapes suivantes:





**Figure 13:** Les étapes de l'étude histologiques (Photo personnelle)

#### **4.2.8. Analyse statistique des résultats**

Les résultats obtenus sont exprimés en moyenne plus ou moins l'écart type (Moyenne  $\pm$  SD). L'analyse des données a été effectuée par application du test *t* de Student, qui est basée sur la comparaison des moyennes deux à deux (entre le lot témoin et chacun des autres lots traités, ainsi qu'entre les deux lots nourris avec l'huile de friture) à l'aide du logiciel MINITAB (Version 18). Les différences sont considérées comme:

- Significatives: lorsque ( $P < 0,05$ ).
- Hautement significatives : lorsque ( $P < 0,01$ ).
- Très hautement significatives : lorsque ( $P < 0,001$ ).

---

***Chapitre 5 :***  
***Résultats***

---

## Chapitre 5 : Résultats

### 5. Résultats obtenus

#### 5.1. Analyse physico-chimique des huiles

Les résultats obtenus à partir de l'analyse chimique des différents types d'huile sont donnés dans le tableau 2. Ils indiquent que les peroxydes se trouvent à des concentrations de 5,3 et 124,4 (meq O<sub>2</sub>/Kg) dans l'huile ordinaire (comestible) (HO) et l'huile de friture (HF) respectivement. L'acidité atteint des ratios de 0,15 % dans (HF), mais dans (HO), elle n'est que de 0,09 %. Le pourcentage d'humidité passe de 0,03 % dans l'huile ordinaire à 0,04 % dans l'huile de friture. Les valeurs de couleur sont atteintes à 2,5/0,2 dans (HO) et à 10/1 dans (HF).

**Tableau 3:** Analyses physico-chimiques des huiles ordinaire (HO) et friture (HF)

Paramètres	Huile ordinaire	Huile de friture
Indice de peroxyde (meq O <sub>2</sub> /Kg)	5,3	124,4
Acidité (%)	0,09	0,15
Humidité (%)	0,03	0,04
Couleur J/R	2,5/0,2	10/1

#### 5.2. Etude phytochimique de la nigelle

##### 5.2.1. Rendements d'extraction

Le tableau 3 montre que le rendement de l'extrait hydrométhanolique est de 21,08 % par rapport au poids sec de la poudre végétale.

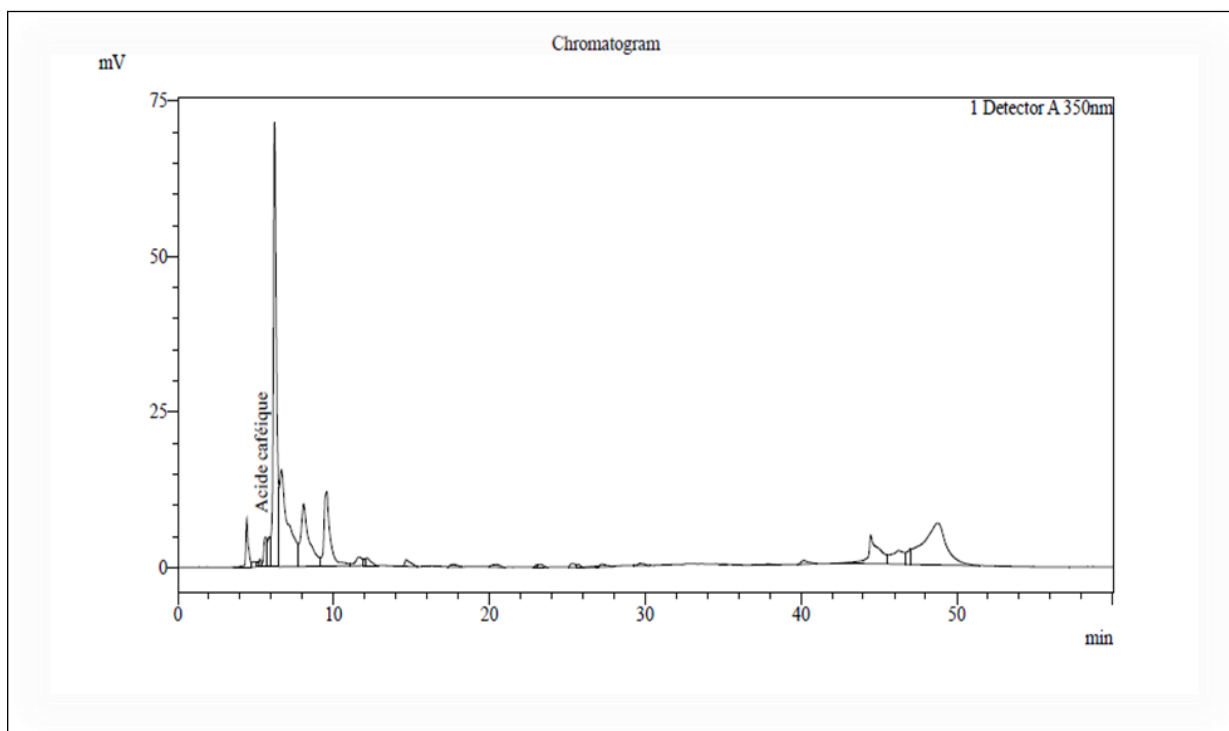
**Tableau 4 :** Le rendement en pourcentage de l'extrait hydrométhanolique de *Nigella sativa*

Extrait	Rendement
Hydrométhanolique	21,08 %

##### 5.2.2. Analyse HPLC

Le chromatogramme obtenu après l'analyse de l'extrait hydrométhanolique de *Nigella sativa* est présenté dans la figure 13. Le résultat de l'analyse HPLC a montré la présence d'acides

phénoliques et de flavonoïdes. Les composés identifiés sont l'acide caféique qui appartient à la classe des acides phénoliques et les flavonoïdes ont été identifiés comme étant la rutine et le catéchol; ces composés ont été élués à des temps de rétention de 4,435 min, 6,225 min et 6,665 min respectivement.



**Figure 14 :** Chromatogramme (HPLC-UV) de l'extrait hydrométhanolique de *Nigella sativa*

### 5.2.3. Teneur totale en polyphénols et en flavonoïdes

Les résultats de la quantification des composés phénoliques de l'extrait hydrométhanolique de *Nigella sativa* sont présentés dans le tableau 4. Ils montrent que la teneur en polyphénols totaux est d'environ 31,25 µg GAE/mg, tandis que la teneur en flavonoïdes est de 4,37 µg EQ/ mg.

**Tableau 5:** Teneur totale en polyphénols et flavonoïdes de l'extrait de *N. sativa* (n = 3)

Extrait	Teneur en polyphénols totaux (µg EAG/mg d'extrait)	Teneur en flavonoïdes (µg EQ/mg d'extrait)
Hydrométhanolique	31,25±1,79	4,37±0,36

Les valeurs ont été exprimées en moyennes  $\pm$  SD. Les teneurs sont rapportées en  $\mu\text{g}$  par mg d'extrait. EAG: équivalent en acide gallique, EQ: équivalent en quercétine

#### 5.2.4. Activité antioxydante

L'activité antioxydante de l'extrait de *N. sativa* a été déterminée par les méthodes DPPH, ABTS et CUPRAC et sont présentées en termes de valeurs  $\text{IC}_{50}$  et  $\text{A}_{0,5}$  dans le tableau 5. Les radicaux synthétiques DPPH et ABTS ont été utilisés pour évaluer l'activité anti-radicalaire de l'extrait. L'extrait hydrométhanolique a montré une activité de piégeage contre les radicaux libres DPPH et ABTS avec une valeur  $\text{IC}_{50}$  de l'ordre de  $568,32 \pm 3,22 \mu\text{g/mL}$  et  $188,32 \pm 1,70 \mu\text{g/mL}$ . Le test CUPRAC a été utilisé pour évaluer la capacité des extraits à réduire le cuivre. L'extrait hydrométhanolique a montré une capacité à réduire les ions cuivre avec un  $\text{A}_{0,5}$  de  $281,43 \pm 1,76 \mu\text{g/mL}$  (Tableau 6).

**Tableau 6 :** Activité antioxydante de l'extrait de *N. sativa* (n = 3)

	DPPH $\text{IC}_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	ABTS $\text{IC}_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	CUPRAC $\text{A}_{0,5}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
Extrait hydrométhanol	$568,32 \pm 3,22$	$188,32 \pm 1,70$	$281,43 \pm 1,76$
BHA	$6,14 \pm 0,41$	$1,81 \pm 0,10$	$1,05 \pm 0,03$
BHT	$12,99 \pm 0,41$	$1,29 \pm 0,30$	$0,91 \pm 0,01$
$\alpha$ -Tocopherol	$13,02 \pm 5,17$	Nt	Nt

Les valeurs ont été exprimées en moyennes  $\pm$  SD. BHA: Butylatedhydroxyanisole, BHT: butylated hydroxytoluene, nt: non testé

#### 5.3. L'effet du traitement sur les paramètres pondéraux: le poids corporel, les rapports organo-somatiques

Le traitement des rats par l'huile de friture et/ou la nigelle n'a produit aucun signe apparent de toxicité/mortalité. Pendant la période de traitement, l'évaluation du poids corporel des rats traités par l'huile de friture avec/sans la nigelle n'a pas été influencée par rapport à celle des rats témoins. C'est-à-dire que les résultats obtenus ne montrent aucun changement significatif sur la croissance physiologique des rats dans tous les groupes étudiés (tableau 6). Cependant, nous avons constaté une diminution significative des rapports organo-somatiques chez les rats nourris

avec l'huile de friture (HF-0) par rapport aux rats témoins. En revanche, l'ajout de la nigelle avec l'huile de friture (HF-N) a permis d'améliorer ces paramètres, par rapport au groupe témoin (Tableau 7).

**Tableau 7 :** Variation des poids corporels (g) et des rapports organo-somatiques (%) chez les rats témoins (HO-0) et les rats traités (HO-N, HF-0, HF-N) après 30 jours de traitement (chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  SD de 10 rats)

Paramètres	(HO-0)	(HO-N)	(HF-0)	(HF-N)
Poids initial (g)	192,3 $\pm$ 13,4	205,4 $\pm$ 12,3	235,9 $\pm$ 16,7	217,3 $\pm$ 20,1
Poids final (g)	279,5 $\pm$ 33,3	290,1 $\pm$ 21,3	328,9 $\pm$ 26,8	300,8 $\pm$ 34,1
Gain de poids (%)	87,12	84,7	92,9	86,8
Rapport hépato-somatique (%)	2,97 $\pm$ 0,15	3,13 $\pm$ 0,20	2,53 $\pm$ 0,33**	3,05 $\pm$ 0,35 <sup>##</sup>
Rapport réno-somatique (%)	0,34 $\pm$ 0,04	0,33 $\pm$ 0,02	0,30 $\pm$ 0,01**	0,31 $\pm$ 0,01*
Rapport intesto-somatique (%)	2,13 $\pm$ 0,17	2,11 $\pm$ 0,17	2,03 $\pm$ 0,26	2,06 $\pm$ 0,11
Rapport testo-somatique (%)	0,55 $\pm$ 0,05	0,54 $\pm$ 0,05	0,51 $\pm$ 0,06	0,53 $\pm$ 0,03
Rapport spléno-somatique (%)	0,25 $\pm$ 0,04	0,26 $\pm$ 0,03	0,22 $\pm$ 0,02	0,23 $\pm$ 0,03
Rapport cardio-somatique (%)	0,34 $\pm$ 0,05	0,32 $\pm$ 0,03	0,30 $\pm$ 0,02*	0,31 $\pm$ 0,03

\*  $P < 0,05$  ; \*\*  $P < 0,01$ : différence significative par rapport au groupe (HO-0)

<sup>##</sup>  $P < 0,01$ : différence significative par rapport au groupe (HF-0)

#### 5.4. Influence du traitement sur les paramètres biochimiques

##### 5.4.1. Influence du traitement sur la glycémie

La nourriture des rats par l'huile de friture (HF-0) a entraîné une augmentation significative du taux du glucose par rapport aux rats témoins (HO-0). Tandis que, la supplémentation en nigelle a mis fin à cette perturbation et l'a généralement ramené à un niveau proche de la normale par rapport au groupe témoin nourris à l'huile ordinaire (tableau 8).

**Tableau 8 :** Variation de la concentration du glucose sanguin chez les rats témoins (HO-0) et les rats traités (HO-N, HF-0, HF-N) après 30 jours de traitement (chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  SD de 10 rats)

Paramètres	(HO-0)	(HO-N)	(HF-0)	(HF-N)
Glucose (g/L)	1,05±0,03	1,06±0,04	1,16±0,03***	1,11±0,05** <sup>#</sup>

\*\*  $P < 0,01$  ; \*\*\*  $P < 0,001$ : différence significative par rapport au groupe (HO-0)

<sup>#</sup>  $P < 0,05$ : différence significative par rapport au groupe (HF-0)

#### 5.4.2. Influence du traitement sur la fonction rénale

Les résultats du tableau 8 illustre une augmentation significative du taux d'urée, de créatinine et d'acide urique chez les rats nourris par l'huile de friture (HF-0) par rapport au groupe témoin (HO-0). Cependant, la supplémentation de la nigelle a empêché la néphrotoxicité induite par les peroxydes toxiques provenant de la friture d'huile, qui s'est manifestée par une diminution significative des paramètres rénaux par rapport au groupe (HF-0) (Tableau 9).

**Tableau 9** : Variation de la concentration sérique de l'urée, créatinine et acide urique chez les rats témoins (HO-0) et les rats traités (HO-N, HF-0, HF-N) après 30 jours de traitement (chaque valeur représente la moyenne ± SD de 10 rats)

Paramètres	(HO-0)	(HO-N)	(HF-0)	(HF-N)
Urée (g/L)	0,46±0,06	0,43±0,05	0,54±0,07**	0,49±0,04 <sup>#</sup>
Créatinine (mg/L)	6,8±0,63	6,7±0,67	8,00±0,81**	7,2±0,67 <sup>#</sup>
Acide urique (mg/L)	37,3±3,34	36,4±2,41	54,6±4,54**	41,8±4,35 <sup>#</sup>

\*\*  $P < 0,01$ : différence significative par rapport au groupe (HO-0)

<sup>#</sup>  $P < 0,05$ : différence significative par rapport au groupe (HF-0)

#### 5.4.3. Influence du traitement sur la fonction hépatique

La nourriture des rats avec de l'huile de friture a entraîné une augmentation significative des transaminases (ASAT, ALAT), de la phosphatase alcaline (PAL) et de la bilirubine totale (TBIL), et une élévation significative de la bilirubine directe (DBIL) par rapport au groupe témoin (HO-0). Cependant, nous notons que l'addition de la nigelle à l'aliment du groupe (HF-0) a restauré le taux de la PAL, de TBIL et de DBIL sans aucun effet sur la concentration des transaminases (Tableau 10).

**Tableau 10 :** Variation de l'activité enzymatique de l'ASAT, l'ALAT, la PAL, et la concentration sérique en TBIL et DBIL chez les rats témoins (HO-0) et les rats traités (HO-N, HF-0, HF-N) après 30 jours de traitement (chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  SD de 10 rats)

Paramètres	(HO-0)	(HO-N)	(HF-0)	(HF-N)
ALT (UI/L)	93,1 $\pm$ 4,68	92,2 $\pm$ 6,09	116,4 $\pm$ 3,20***	110,3 $\pm$ 5,56***##
AST (UI/L)	82,1 $\pm$ 7,08	79 $\pm$ 6,13	125 $\pm$ 4,16***	96,5 $\pm$ 4,40***###
PAL (UI/L)	87,20 $\pm$ 5,09	90,80 $\pm$ 7,04	100,80 $\pm$ 5,57***	91,80 $\pm$ 4,05*###
T-BIL (mg/L)	0,80 $\pm$ 0,05	0,76 $\pm$ 0,05	1,01 $\pm$ 0,06***	0,88 $\pm$ 0,05###
D-BIL (mg/L)	0,40 $\pm$ 0,06	0,35 $\pm$ 0,04	0,48 $\pm$ 0,04**	0,40 $\pm$ 0,05##

\*  $P < 0,05$  ; \*\*  $P < 0,01$  ; \*\*\*  $P < 0,001$ : différence significative par rapport au groupe (HO-0)

##  $P < 0,01$  ; ###  $P < 0,001$ : différence significative par rapport au groupe (HF-0)

#### 5.4.4. Influence du traitement sur le profil lipidique

Les résultats du tableau 10 révèle une augmentation significative du taux des triglycérides (TG) et du cholestérol total (Chol-T) chez le groupe nourri à l'huile de friture (HF-0) en comparant au groupe témoin (HO-0). La supplémentation en nigelle dans le régime alimentaire des rats traités avec de l'huile de friture a réduit significativement le taux de triglycérides et du cholestérol par rapport au groupe témoin (HF-0) (Tableau 11).

**Tableau 11 :** Variation de la concentration sérique des triglycérides et du cholestérol chez les rats témoins (HO-0) et les rats traités (HO-N, HF-0, HF-N) après 30 jours de traitement (chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  SD de 10 rats).

Paramètres	(HO-0)	(HO-N)	(HF-0)	(HF-N)
Triglycérides (g/L)	0,56 $\pm$ 0,03	0,53 $\pm$ 0,04	0,69 $\pm$ 0,04***	0,57 $\pm$ 0,04###
Cholestérol (g/L)	0,72 $\pm$ 0,04	0,71 $\pm$ 0,06	0,8 $\pm$ 0,05***	0,74 $\pm$ 0,04##

\*\*\*  $P < 0,001$ : différence significative par rapport au groupe (HO-0)

##  $P < 0,01$  ; ###  $P < 0,001$ : différence significative par rapport au groupe (HF-0)

#### 5.5. Influences du traitement sur les paramètres hématologiques

Dans la présente étude, l'alimentation des rats avec de l'huile de friture a entraîné une perturbation du profil hématologique. Cette perturbation est illustrée par une augmentation du

nombre total de globules blancs (GB), de lymphocytes (LYM), de cellules monocytaires (MON), de cellules granulocytaires (GRA), ainsi que du nombre de plaquettes (PLA), tandis que les valeurs des globules rouges (GR), de l'hémoglobine (HB), de l'hématocrite (HCT), du volume globulaire moyen (VGM) n'ont pas changé de manière significative tandis que nous observons un changement significatif de la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CGMH) par rapport au groupe témoin. Une nette amélioration de la plupart des paramètres a été notée après avoir nourri les rats avec une combinaison d'huile de friture et de nigelle (HF-N). Cependant, une augmentation significative de la MCHC a été observée par rapport aux autres groupes (HO-0 et HF-0) (tableau 12).

**Tableau 12 :** Variation des paramètres hématologiques chez les rats témoins (HO-0) et les rats traités (HO -N, HF-0, HF-N) après 30 jours (chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  SD de 10 rats)

Paramètres	(HO-0)	(HO-N)	(HF-0)	(HF-N)
GB ( $10^3/\mu\text{l}$ )	9,57 $\pm$ 1,76	10,85 $\pm$ 2,47	11,26 $\pm$ 4,03	10,42 $\pm$ 2,8
LYM (%)	7,37 $\pm$ 1,56	8,84 $\pm$ 1,92	8,18 $\pm$ 2,74	8,2 $\pm$ 2,18
MON (%)	1,32 $\pm$ 0,37	1,18 $\pm$ 0,31	1,72 $\pm$ 0,85	1,44 $\pm$ 0,51
GRA (%)	0,88 $\pm$ 0,25	0,82 $\pm$ 0,32	1,36 $\pm$ 0,87	0,78 $\pm$ 0,20
GR ( $10^6/\mu\text{l}$ )	8,32 $\pm$ 0,52	8,71 $\pm$ 0,54	8,50 $\pm$ 0,67	8,05 $\pm$ 0,34
HB (g/dl)	14,63 $\pm$ 0,86	15,55 $\pm$ 0,67	14,94 $\pm$ 0,91	14,62 $\pm$ 0,95
HCT (%)	43,82 $\pm$ 3,33	45,53 $\pm$ 2,93	43,8 $\pm$ 4,12	41,35 $\pm$ 2,63
VGM (fl)	52,5 $\pm$ 1,58	52,2 $\pm$ 0,63	51,8 $\pm$ 1,32	51,3 $\pm$ 2,06
CCMH (g/dl)	33,47 $\pm$ 1,64	34,23 $\pm$ 1,1	33,95 $\pm$ 0,9	35,33 $\pm$ 0,38**###
PLA ( $10^3/\mu\text{l}$ )	936,5 $\pm$ 39,4	895,7 $\pm$ 56,9	927,6 $\pm$ 34,7	963,6 $\pm$ 48,7

\*\*  $P < 0,01$ : différence significative par rapport au groupe (HO-0)

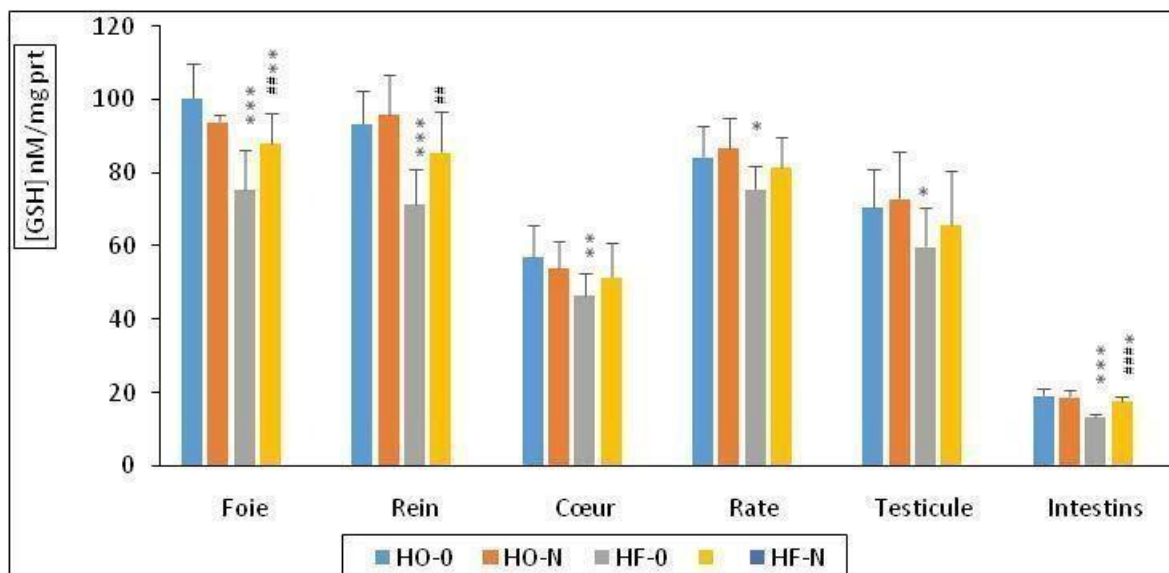
###  $P < 0,001$ : différence significative par rapport au groupe (HF-0)

## 5.6. Influence du traitement sur les paramètres du stress oxydant

### 5.6.1. Influence du traitement sur le glutathion tissulaire (GSH)

Les résultats présentés dans la figure 20 montrent une diminution significative du taux du glutathion dans tous les organes étudiés (foie, reins, intestins, cœur, testicules, rate) chez le groupe des rats alimentés avec de l'huile de friture (HF-0) par rapport au groupe témoin (HO-0).

Alors que, la nourriture des rats avec une combinaison d'huile de friture de la nigelle (HF-N) a révélé une amélioration de teneur en glutathion par une augmentation significative notamment au niveau des organes cibles (foie, reins, cœur, intestins) par rapport à ceux du groupe témoin.



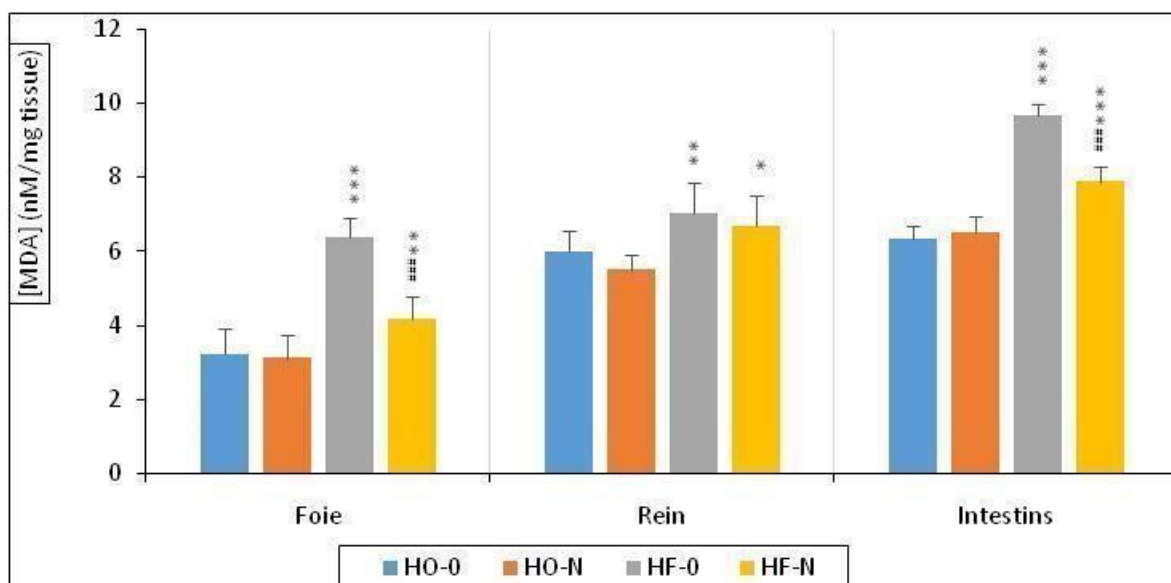
**Figure 15 :** Taux du glutathion tissulaire (nM/mg prot) chez les rats témoins (HO-0) et les rats traités (HO-N, HF-0, HF-N) après 30 jours de traitement (chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  SD de 10 rats).

\*  $P < 0,05$  ; \*\*  $P < 0,01$  ; \*\*\*  $P < 0,001$ : différence significative par rapport au groupe (HO-0)

#  $P < 0,05$  ; ##  $P < 0,01$  ; ###  $P < 0,001$ : différence significative par rapport au groupe (HF-0)

### 5.6.2. Influence du traitement sur le malondialdéhyde (MDA)

Selon les résultats présentés dans la figure 21, une augmentation significative des niveaux de MDA a été observée dans le foie, les intestins et les reins des rats nourris à l'huile de friture (HF-0) par rapport au groupe témoin (HO-0). Le traitement à la nigelle des rats nourris avec de l'huile de friture, a amélioré les taux du MDA notamment hépatique et intestinal de manière significative par rapport aux autres groupes (HO-0 et HF-0).



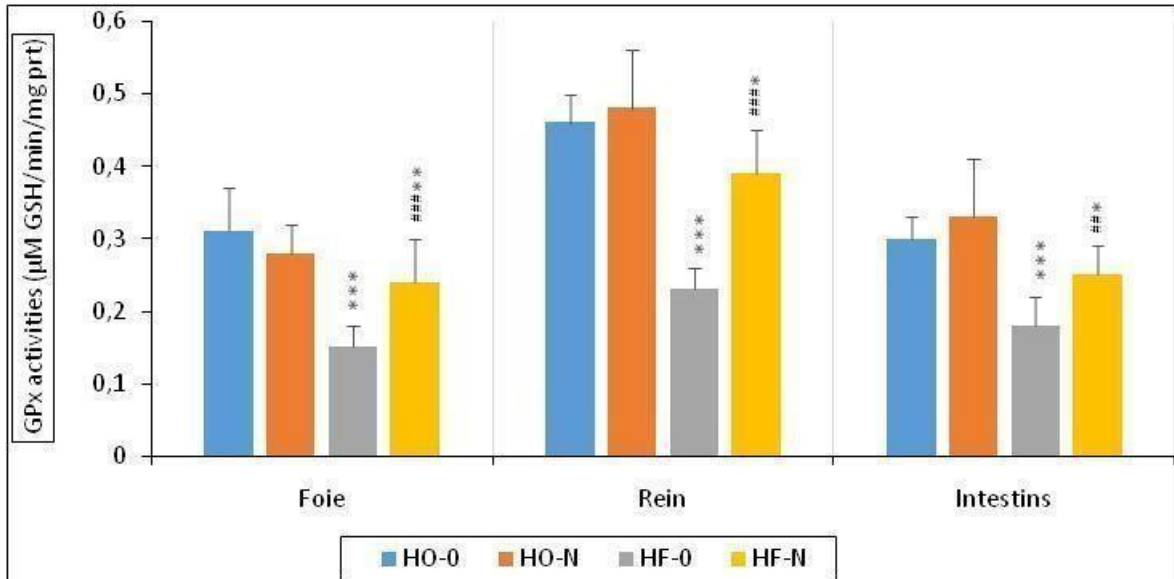
**Figure 16 :** Taux du malondialdéhyde tissulaires (nM/mg de tissu) chez les rats témoins (HO-0) et les rats traités (HO-N, HF-0, HF-N) après 30 jours de traitement (chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  SD de 10 rats).

\*  $P < 0,05$  ; \*\*  $P < 0,01$  ; \*\*\*  $P < 0,001$ : différence significative par rapport au groupe (HO-0)

###  $P < 0,001$ : différence significative par rapport au groupe (HF-0)

### 5.6.3. Influence du traitement sur l'activité des enzymes antioxydantes (GPx, GST et CAT)

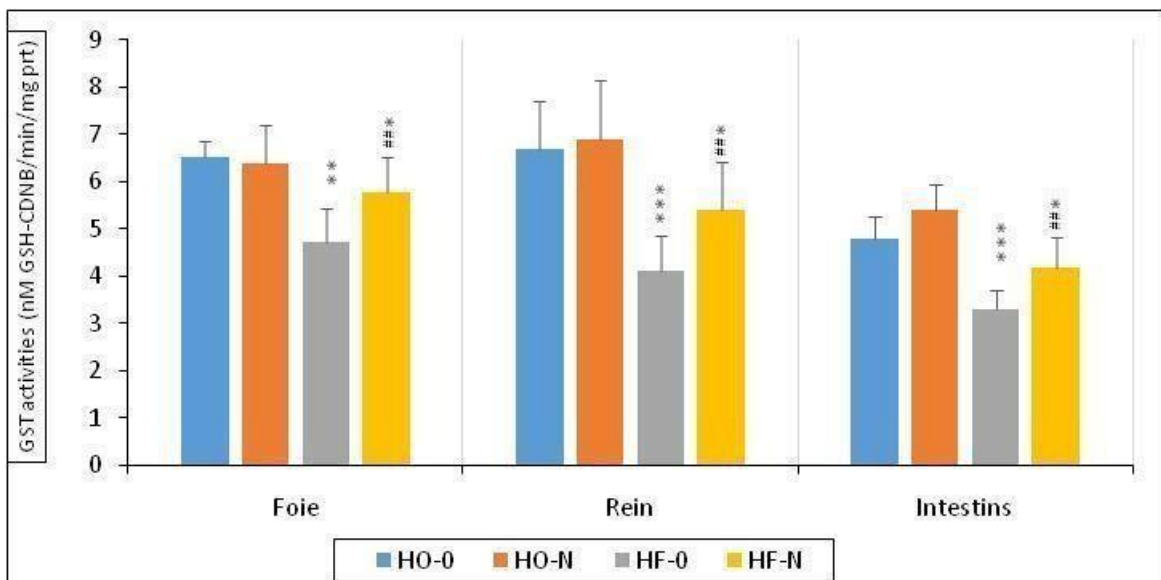
Les résultats mentionnés dans les figures 22-24 permettent de montrer une diminution significative des activités enzymatiques de la catalase (CAT), de la glutathion peroxydase (GPx) et de la glutathion S-transférase (GST) au niveau des tissus étudiés hépatique, rénal et intestinal chez les rats alimentés avec de l'huile de friture (HF-0) par rapport au groupe témoin (HO-0). Alors que la supplémentation en nigelle dans le régime alimentaire contenant de l'huile de friture (HF-N) a révélé une amélioration des marqueurs oxydatifs susmentionnés par une augmentation par rapport à ceux du groupe témoin (HO-N) et du groupe nourri à l'huile de friture (HF-0).



**Figure 17 :** Variation de l'activité enzymatique de la GPx (nmol/ mg de protéines) chez les rats témoins (HO-0) et les rats traités (HO-N, HF-0, HF-N) dans le foie, les reins et l'intestins après 30 jours de traitement (chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  SD de 10 rats)

\*  $P < 0,05$  ; \*\*  $P < 0,01$  ; \*\*\*  $P < 0,001$ : différence significative par rapport au groupe (HO-0)

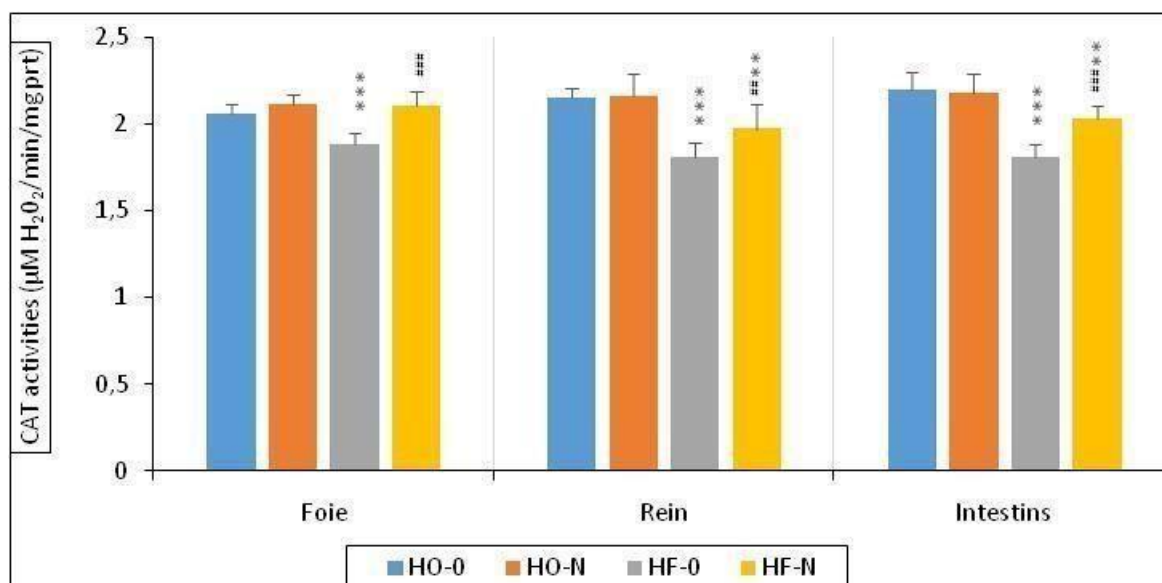
##  $P < 0,01$  ; ###  $P < 0,001$ : différence significative par rapport au groupe (HF-0)



**Figure 18 :** Variation de l'activité enzymatique de la GST (nmol GSH-CDNB/min/mg de protéines) chez les rats témoins (HO-0) et les rats traités (HO-N, HF-0, HF-N) dans le foie, les reins et l'intestin après 30 jours de traitement (chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  SD de 10 rats).

\*  $P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,01$ ; \*\*\*  $P < 0,001$ : différence significative par rapport au groupe (HO-0)

##  $P < 0,01$ : différence significative par rapport au groupe (HF-0)



**Figure 19 :** Variation de l'activité enzymatique de la CAT ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg}$  de protéines) chez les rats témoins (HO-0) et les rats traités (HO-N, HF-0, HF-N) dans le foie, les reins et l'intestin après 30 jours de traitement (chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  SD de 10 rats).

\*\*  $P < 0,01$ ; \*\*\*  $P < 0,001$ : différence significative par rapport au groupe (HO-0)

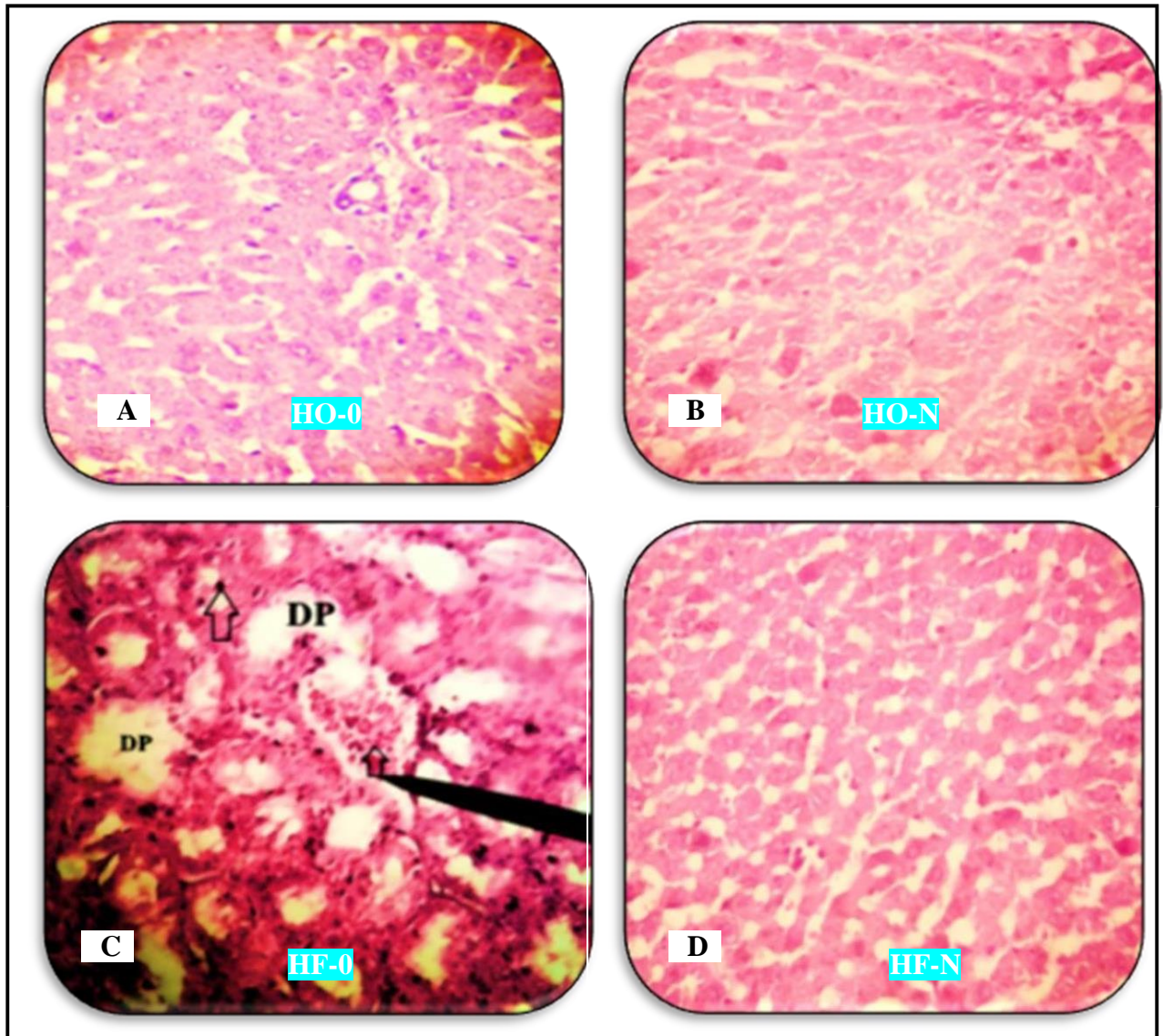
##  $P < 0,01$ ; ###  $P < 0,001$ : différence significative par rapport au groupe (HF-0)

## 5.7. Influence du traitement sur l'histologie

### 5.7.1. Coupes histologiques hépatiques

Les photomicrographies représentatives de la figure 25 montrent des coupes transversales de tissu hépatique de tous les groupes expérimentaux. L'observation microscopique des coupes histologiques du foie révèle une structure normale du tissu hépatique chez les témoins (HO-0) (figure 25 A). Notons également que l'aspect histologique du foie est normal chez les rats traités par la nigelle seule (HO-N) (figure 25 B). Cependant, il a été observé un infiltrat inflammatoire de type lymphoplasmocytaire de l'espace porte ainsi qu'une dilatation du parenchyme chez les

rats nourris avec de l'huile de friture (HF-0) (figure 25 C). Les lésions hépatiques graves ont été réduites de façon spectaculaire lorsque la nigelle a été ajoutée au régime alimentaire du groupe alimenté avec l'huile de friture (HF-N) (figure 25 D).



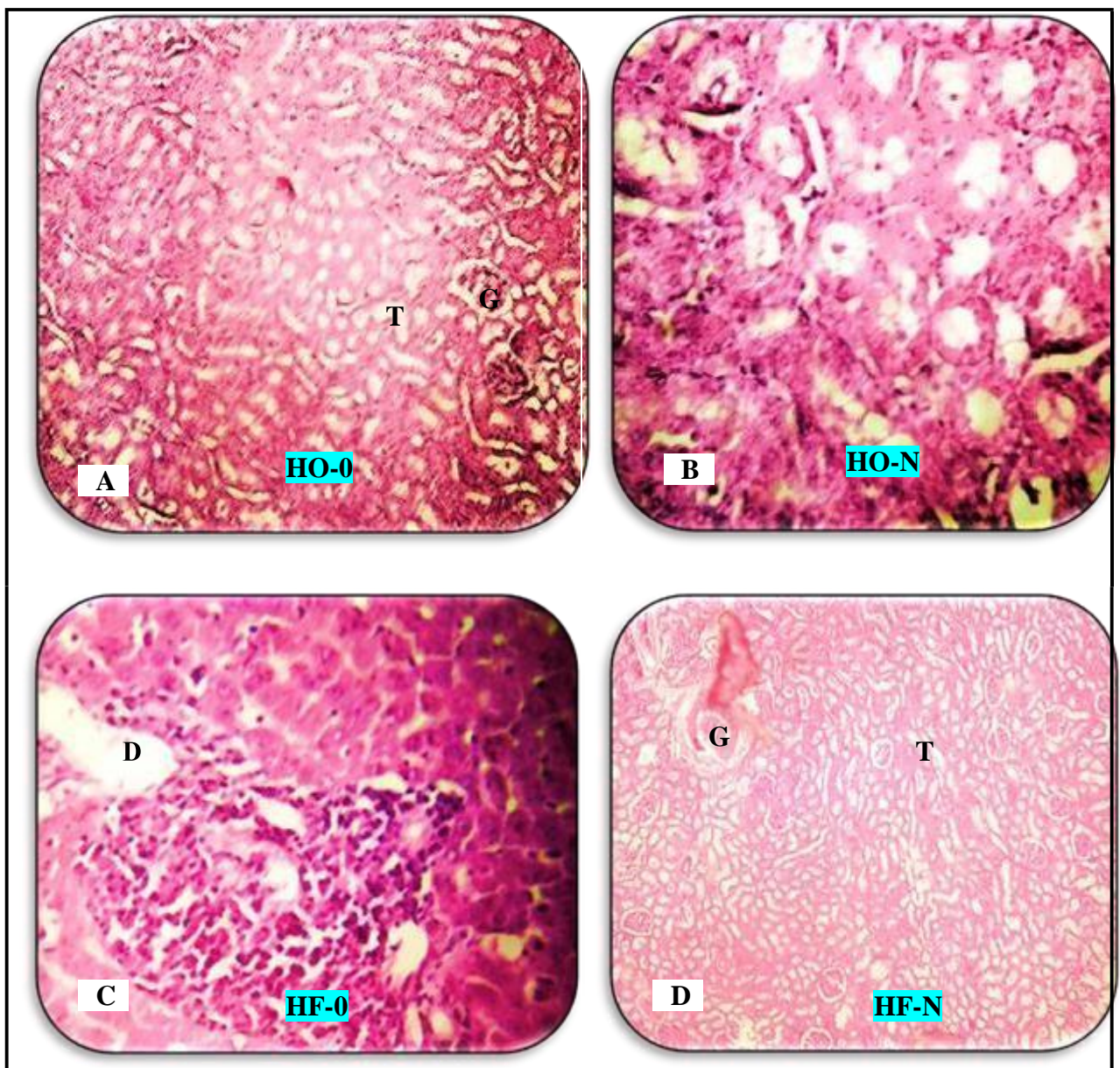
**Figure 20 :** Coupe histologique du foie chez les rats témoins (HO-0) et les rats traités (HO-N, HF-0, HF-N) après 30 jours de traitement. Microscopie optique ( $\times 400$ , H&E):  $\uparrow$  (infiltrat inflammatoire de type lymphoplasmocytaire de l'espace porte), DP (dilatation du parenchyme).

A : figure A, B : figure B, C : figure C, D : figure D.

### 5.7.2. Coupes histologiques rénales

L'observation microscopique des coupes histologiques rénales des rats du groupe témoin a

montré un parenchyme rénal normal avec des glomérules et des tubules bien définis (figure 26 A). De même, aucune altération histologique rénale n'a été constatée chez les rats traités par la nigelle par rapport au groupe témoin (figure 26 B). Une dilatation tubulaire (figure 26 C) a été clairement observée dans les reins des rats traités à l'huile de friture (HF-0) comparativement au groupe témoin. La figure 26 D montre la régénération du tissu rénal chez les rats du groupe (HF- N) après administration de graines de nigelle dans le régime alimentaire.



**Figure 21** : Coupe histologique des reins chez les rats témoins (HO-0) et les rats traités (HO-N, HF-0, HF-N) après 30 jours de traitement. Microscopie optique ( $\times 400$ , H&E): G (glomérules), T(tubules), D (dilatation).

**A** : figure A, **B** : figure B, **C** : figure C, **D** : figure D.

---

***Chapitre 6 :***  
***Discussion***

---

---

## Chapitre 6 : Discussion

### 6. Discussion

L'utilisation répétée de l'huile de friture est devenue une pratique courante en raison du faible niveau de sensibilisation du public aux effets néfastes de cette pratique. En outre, comme la majorité des huiles de cuisson sont riches en acides gras polyinsaturés, elles sont plus sujettes à l'oxydation que les huiles riches en acides gras monoinsaturés (Saka *et al.*, 2002). Les graisses sont généralement oxydées par des prooxydants ou des radicaux libres au niveau des liaisons insaturées des acides gras, qui sont abondamment présents dans les acides gras polyinsaturés tels que les acides linoléique (C18:2) et linoléique (C18:3), ce qui génère des produits oxydés par scission hémolytique (Picariello *et al.*, 2009) conduisant à des changements indésirables dans les propriétés de l'huile qui affecteront la santé humaine (Choe et Min, 2007). Bien que l'ajout d'antioxydants naturels tels que le tocophérol et le carotène aux huiles ralentisse l'oxydation de l'huile, ils deviennent moins efficaces à la température de friture en raison des pertes par volatilisation ou décomposition (Choe et Lee, 1998).

Dans la présente étude, l'analyse physico-chimique de deux types d'huiles affirme que la friture répétée d'une même huile provoque un effet catastrophique dans la structure de certains acides gras polyinsaturés, conduisant à la formation de plusieurs composés toxiques tels que les peroxydes. Nous avons constaté que l'huile de friture avait un indice de peroxyde plus élevé que l'huile ordinaire. L'indice de peroxyde élevé trouvé dans l'huile de friture suggère que cette huile est plus sensible à la modification oxydative. Azmil Haizam *et al.* (2016) ont mentionné que l'indice de peroxyde (PV) indique la formation d'hydroperoxydes et d'hypoxyperoxydes, qui sont des produits primaires formés par le processus d'oxydation des acides gras polyinsaturés. L'indice de peroxyde est souvent utilisé pour indiquer la comestibilité d'une huile, plus l'indice est faible, plus l'huile est comestible. Il est également utilisé pour évaluer le degré de détérioration d'une huile de cuisson en fonction du degré de rancissement de l'huile causé par l'auto-oxydation et la photo-oxydation. L'American Oil Chemists' Society (AOCS) a limité la limite supérieure de l'indice de peroxyde à 10 meq/kg d'huile comestible (Matthaus, 2006).

L'excès d'acidité de l'huile de friture observé dans cette étude peut être expliqué par le déroulement du processus hydrolytique lors des tests de friture respectifs. D'après nos résultats, il est probablement dû à la libération continue d'acide gras libre en raison de la température élevée

et de l'eau contenue dans la pâte (Zalabia). Cependant, l'augmentation de l'humidité de l'huile de friture est due à la présence d'eau dans les aliments tels que les pommes de terre, les légumes et la pâte (Zalabia), ce qui peut provoquer une hydrolyse rapide de l'huile de friture et rendre les acides gras libres moins stables à l'auto-oxydation, conduisant à des saveurs rances. L'altération de l'huile de friture se traduit par une intensification de la couleur d'origine, exprimée en unités de jaune et de rouge. En outre, Farhoosh *et al.* (2009) ont montré que le noircissement de l'huile pendant la friture est dû à la formation de composés carbonylés insaturés (y compris les cétones, les acides diénoïques conjugués) et de composés d'oxydation dégradés tels que les hydroxydes et les hydroperoxydes.

Bien que l'organisme vivant soit naturellement protégé contre les radicaux libres par des antioxydants endogènes et des systèmes de détoxification enzymatique, ceux-ci peuvent être dépassés par divers facteurs, d'où la nécessité d'un apport exogène en antioxydants. L'intérêt pour les composés phénoliques a augmenté rapidement ces dernières années, en raison des preuves croissantes de leurs propriétés nutritionnelles intéressantes pour la santé humaine (Quiñones *et al.*, 2013). Des études ont montré la capacité des composés phénoliques à inhiber la dégradation thermo-oxydative de l'huile de friture et la formation de composés toxiques de dégradation thermo-oxydative tels que l'acrylamide et les amines hétérocycliques (Cheng *et al.*, 2007; Cheng *et al.*, 2010). Les polyphénols présentent l'une des classes les plus attractives de composés bioactifs et sont généralement associés à la bioactivité des extraits de plantes (Hsouna et Hamdi, 2012). Parmi les diverses plantes médicinales, *Nigella sativa* (*N. sativa*) est apparue comme une herbe miraculeuse avec une riche histoire historique et religieuse en raison de sa richesse en composés phytochimiques bioactifs tels que les polyphénols. Ces composés ont été rapportés pour exercer des effets pharmacologiques considérables, ce qui explique leur action bénéfique sur la santé humaine (Ahmad *et al.*, 2013). La plupart des bénéfices affichés par les polyphénols peuvent être attribués à leurs propriétés antioxydantes. Il est donc essentiel de quantifier, identifier et mesurer leur effet antioxydant (Shahidi et Ambigaipalan, 2015).

La quantité ainsi que la nature des composés extraits dépendent fortement du solvant d'extraction (Mohammed *et al.*, 2016). Le méthanol est le solvant le plus recommandé pour l'extraction des polyphénols et possède l'avantage d'être plus facilement éliminé (Scehovic, 1990; Owen et Johns, 1999). Le rendement de notre extrait hydrométhanolique de *N. sativa* est d'environ 21,08 % du poids total des graines. Cette valeur est similaire à celle obtenue par Meziti

*et al.*, (2012) (21,5 %) mais elle est inférieure à celle rapportée par Houcher et ses collègues (2007) qui est de 27 %. L'extrait hydrométhanolique de *Nigella sativa* a été étudié par HPLC pour identifier les composés phénoliques individuels responsables de l'activité de piégeage des espèces réactives d'oxygène. Trois composés phénoliques ont été identifiés dans l'extrait de *Nigella sativa*, à savoir la rutine et le catéchol qui appartiennent à la classe des flavonoïdes, et l'acide caféique qui est l'acide phénolique le plus prédominant dans l'extrait méthanolique de *Nigella sativa*. Des résultats similaires ont été obtenus par Benazzouz-Smail *et al.* (2023), qui ont signalé la présence d'acide caféique comme principal composé phénolique dans l'extrait méthanolique de deux espèces *Nigella sativa* et *Nigella damascena*, tandis que dans une autre étude, la rutine était le principal composé (Mechraoui *et al.*, 2018). Les résultats de dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes montrent que l'extrait brut méthanolique contient respectivement  $31,25 \pm 1,79 \mu\text{g EAG/mg}$  et  $4,37 \pm 0,36 \mu\text{g EQ/mg}$  d'extrait ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Meziti *et al.*, (2012) ( $33,64 \mu\text{g GAE/mg}$ ,  $3,80 \mu\text{g QE/mg}$  d'extrait). Les polyphénols peuvent exercer leur activité antioxydante en piégeant les espèces réactives d'oxygène et en se liant aux métaux de transition, évitant ainsi la production de radicaux libres et les dommages qu'ils causeraient par interaction avec les molécules biologiques (Perron et Brumaghim, 2009). Dans cette étude, des tests antioxydants *in vitro* ont été réalisés pour évaluer les activités antioxydantes de l'extrait hydrométhanolique de graines de NS, à savoir le pouvoir réducteur (CUPRAC), les tests de piégeage des radicaux libres (radicaux DPPH- et ABTS-+). Les résultats obtenus montrent que *Nigella sativa* a la capacité de piéger les radicaux DPPH- et ABTS-+. Le DPPH est l'un des tests les plus précis et les plus fréquemment utilisés pour l'évaluation de l'activité antioxydante (Zhou et Yu, 2004). La concentration de l'extrait hydrométhanolique nécessaire pour piéger 50 % du radical DPPH- ( $\text{IC}_{50}$ ) était de  $568,32 \pm 3,22 \mu\text{g/mL}$ . Cette activité est supérieure à celle obtenue par Toma *et al.* (2015) ( $\text{IC}_{50} 624,7 \pm 12,77 \mu\text{g/mL}$ ) et inférieure à ceux rapportée par plusieurs chercheurs dont Ratz-Lyko *etal.* (2014) ( $\text{IC}_{50}$  de  $500 \mu\text{g/mL}$  et  $350 \mu\text{g/mL}$  avant et après hydrolyse enzymatique), El-Agbar *etal.* (2008) ( $\text{IC}_{50}$   $168,8 \mu\text{g/ml}$ ) et Meziti *et al.* (2012) ( $\text{IC}_{50} = 237,79 \mu\text{g/ml}$ ) ; et également inférieure à celles des standards utilisés, BHA, BHT,  $\alpha$ -Tocopherol ( $6,14 \pm 0,41$ ;  $12,99 \pm 0,41$  et  $13,02 \pm 5,17 \mu\text{g/ml}$ , respectivement). Cependant, la capacité de piéger 50 % du radical l'ABTS-+ ( $\text{IC}_{50}$ ) était  $188,32 \pm 1,70 \mu\text{g/mL}$ . Cette activité est supérieure à celle enregistré par Ratz-Lyko *et al.* (2014) ( $\text{IC}_{50}$  de  $485 \mu\text{g/mL}$  et  $295 \mu\text{g/mL}$  avant et après hydrolyse enzymatique) et inférieure

à celle des standards utilisés, BHA, BHT ( $1,81\pm 0,10$  et  $1,29\pm 0,30$   $\mu\text{g/ml}$ , respectivement).

Le test du pouvoir réducteur est couramment utilisé pour élucider le potentiel d'un antioxydant à donner un électron, ce qui est une caractéristique biologique importante des composés antioxydants phénoliques (Yildirim *et al.*, 2000). Le résultat du test CUPRAC a montré que l'extrait hydrométhanolique présente une activité de  $A_{0,5} 281,43\pm 1,76$   $\mu\text{g/mL}$ . Cette valeur est inférieure à celle des standards utilisés, BHA et BHT ( $1,05\pm 0,03$ ,  $0,91\pm 0,01$   $\mu\text{g/mL}$ , respectivement).

Les résultats obtenus dans le présent travail indiquent l'existence d'une corrélation entre le pouvoir réducteur et anti-radicalaire de l'extrait de nigelle et leur teneur en polyphénols et flavonoïdes. En effet, les composés phénoliques et plus particulièrement les polyphénols et les flavonoïdes sont reconnus comme des substances antioxydantes potentielles ayant la capacité de piéger les espèces radicalaires et les formes réactives de l'oxygène, grâce à leur structure portant des groupes hydroxyles qui leur permettent de transférer des électrons aux radicaux libres et de chélater les catalyseurs métalliques (Shahidi et Ambigaipalan, 2015). Au vu des résultats présentés ci-dessus, nous tenons à souligner que les résultats obtenus pour tous les paramètres étudiés au niveau du groupe des rats (HO-N), n'étaient pas significatifs par rapport au contrôle (HO-0). Ceci révèle que les graines de nigelle n'ont pas affecté ni le métabolisme, ni le statut oxydatif cellulaire, ni l'architecture histologique des tissus. Le taux de graines de nigelle utilisé (2 %) n'est pas toxique et la nigelle n'a pas d'effets indésirables sur les rats.

Le régime alimentaire à base d'huile de friture et/ou la nigelle pendant 30 jours n'a provoqué aucun changement significatif sur la prise de poids corporel des rats dans tous les groupes étudiés. Il est suggéré que notre huile de friture n'altère pas les propriétés gustatives de l'aliment, et que les animaux peuvent maintenir leur poids (Saka *et al.*, 2002). De même, Leong et ses collaborateurs (2008) ont étudié que les rats traités à l'huile de palme chauffée cinq fois et dix fois n'ont pas provoqué de retard de croissance. De plus, d'autres études ont montré que le poids corporel des rats traités avec de l'huile de friture a remarquablement augmenté. Hussein (2015) a montré que le poids corporel des rats était considérablement augmenté par l'alimentation avec de l'huile de palme oxydée thermiquement. Cependant, une diminution significative des rapports organo-somatiques chez les rats nourris avec de l'huile de friture, cette diminution est probablement due aux effets des radicaux libres qui sont capables de provoquer des dommages cellulaires par le biais de la peroxydation des lipides membranaires et ceci est

confirmé par le travail de Kehili *et al.* (2017) qui ont montré que l'administration de cadmium a diminué les rapports gono-somatique et epididymo-somatique. L'addition de la nigelle dans l'aliment a entraîné une amélioration des rapports organo-somatiques des organes étudiés.

Le traitement des rats par l'huile de friture provoque un déséquilibre biochimique marqué essentiellement par une augmentation très significative du bilan hépatique et rénal accompagnée par une hyperglycémie et hyperlipidémie. Il est devenu très clair que la consommation des huiles de friture a entraîné une augmentation de la glycémie à jeun chez les rats. Chiang *et al.* (2011) ont montré que l'huile de friture oxydée était capable de détruire les cellules  $\beta$  pancréatiques, ce qui a provoqué une réduction de la sécrétion d'insuline entraînant une intolérance au glucose. Il a été démontré que la nigelle et ses composants bioactifs, le catéchol, la rutine et l'acide caféique, ont des effets positifs sur le contrôle des niveaux de glucose chez les diabétiques. La rutine a permis de rétablir le glycogène et le glucose à des niveaux proches de la normale chez des animaux nourris à la fois avec un régime hypercalorique et de l'alcool (Chuffa *et al.*, 2014). L'acide caféique a réduit de manière significative la glycémie à jeun par rapport aux souris db/db témoins (Jung, 2006). De même, le traitement des souris diabétiques par l'acide caféique a réduit le glucose sérique, ce qui confirme son effet hypoglycémiant (Oršolić *et al.*, 2021).

La créatinine, l'urée et l'acide urique sont des déchets du métabolisme des protéines. Ils sont éliminés par les reins et sont généralement utilisés comme indicateur d'une bonne fonction rénale. Lorsque l'insuffisance rénale s'installe, elle entraîne une accumulation de déchets dans la circulation sanguine. Par conséquent, les niveaux de ces paramètres augmentent, ce que nous avons observé chez les rats traités à l'huile de friture. L'altération rénales chez les rats pourraient être due à la peroxydation des lipides et aux radicaux libres formés pendant le processus de friture (Beshel *et al.*, 2013; Leong *et al.*, 2008). Les résultats de cette étude sont similaires aux études précédentes menées sur des rats qui mettent en évidence l'effet néfaste de l'huile de palme oxydée sur les reins (Alaam *et al.*, 2012; Jaarin *et al.*, 2016; Famurewa *et al.*, 2017). Cependant, les résultats de la présente étude ont révélé que l'administration de nigelle atténuait significativement l'augmentation des taux de créatinine, d'acide urique et d'urée induite par l'huile de friture ainsi que le dysfonctionnement rénal provoqué par l'huile de friture. Ceci est dû à la présence de rutine, de catéchol et d'acide caféique dans les graines de nigelle, ce qui explique leur rôle reno-protecteur. Ces résultats sont cohérents avec d'autres études qui ont rapporté l'effet protecteur de l'acide caféique sur les reins chez les souris diabétiques (Oršolić *et al.*, 2021).

D'autres études ont rapporté que la rutine améliorait les dommages rénaux induits par la gentamicine dans un modèle murin en rétablissant les niveaux de créatinine et d'urée sériques (Ramhariya *et al.*, 2015). De même, Kamel *et al.* (2014) ont montré que le prétraitement à la rutine a entraîné une restauration de la fonction rénale et des biomarqueurs du stress oxydatif chez les rats wistar traités au cisplatine. Aussi, l'administration de rutine à des rats traités au bromate de potassium a amélioré les altérations des paramètres rénaux. Ces résultats suggèrent que la rutine peut être utilisée comme agent réno-protecteur contre les attaques radicalaires induites par les agents pro-oxydants (Khan *et al.*, 2012).

Le foie est un organe délicat susceptible d'être endommagé par des substances toxiques exogènes, et les enzymes hépatiques sont de bons indicateurs pour évaluer l'état du foie. Le dérèglement du profil hépatique chez les rats nourris à l'huile de friture indique une lésion hépatique, qui peut s'expliquer par la fuite de substances tissulaires dans le plasma. Cette fuite est due à l'altération de la perméabilité des membranes et l'augmentation des enzymes sériques peut être due à des lésions tissulaires dans le foie, les reins et le cœur, suite à des modifications de la perméabilité des membranes cellulaires (El-Demerdash *et al.*, 2012). L'huile de friture exerce un effet nocif sur les hépatocytes par la production de produits toxiques qui provoquent des dommages cellulaires. Ces effets se sont reflétés chez les rats nourris à l'huile de friture par une intensification significative des taux sériques d'ALT, AST, ALP, T-BIL et D-BIL. L'augmentation des aminotransférases peut être due à l'effet néfaste des radicaux libres sur les membranes hépatocellulaires, entraînant des modifications structurelles et fonctionnelles et donc la fuite des enzymes dans le plasma. En outre, l'élévation du taux de bilirubine totale peut être due à la destruction hépatocellulaire, tandis que l'augmentation des taux de bilirubine directe et d'ALP peut être due à une cholestase. L'étude biochimique a montré que la supplémentation en nigelle amélioré significativement les niveaux de biomarqueurs du profil hépatique (ALT, AST, ALP, T-BIL, D-BIL) en raison de l'effet protecteur de ses composés phénoliques sur les dommages aux hépatocytes et sur la réduction de la fuite de ces enzymes dans le sérum (Aycan *et al.*, 2014). Selon les résultats obtenus par Al-Rejaie *et al.* (2013), la rutine a réduit les niveaux d'ALT et d'AST, ce qui a permis de diminuer les dommages hépatiques causés par un régime alimentaire riche en cholestérol. Il a également été démontré que la supplémentation en rutine a pu restaurer les activités sériques de la phosphatase alcaline (ALP), de l'aspartate aminotransférase (AST) et de l'alanine aminotransférase (ALT) chez les animaux nourris à la fois

avec un régime hypercalorique et de l'alcool (Chuffa *et al.*, 2014). Les résultats actuels montrent que la rutine peut protéger les hépatocytes contre la toxicité induite par un régime riche en cholestérol. L'administration orale d'acide caféique (40 mg/kg de poids corporel/jour) a entraîné une diminution des taux sériques d'AST, d'ALT, d'ALP et de bilirubine chez les rats traités à l'oxytétracycline par rapport au groupe témoin (Jayanthi et Subash, 2010).

Le profil lipidique des rats nourris à l'huile de friture a montré une augmentation significative des taux de Chol-T et de TG. Nos résultats concordent avec l'étude décrivant l'effet nocif de l'huile végétale chauffée sur la pression artérielle et le profil lipidique (Osim *et al.*, 1996). Des études antérieures ont rapporté que les niveaux de lipides sériques chez les rats nourris avec de l'huile chauffée à plusieurs reprises étaient significativement augmentés (Tawefik *et al.*, 1998; Narasimhamurthy et Raina, 1999; Ammu *et al.*, 2000; Kamsiah *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2007; Karl *et al.*, 2008). L'ingestion de lipides oxydés riches en acide linoléique entraîne une profonde altération de la fluidité, la fonction et de la composition membranaire, qui est susceptible d'être associée à un accroissement du taux de cholestérol (Aruna *et al.*, 2004; Shastry *et al.*, 2011). Ces résultats sont en accord avec l'étude de Dorbaganes et Márquez-Ruiz (2015) qui ont rapporté que les huiles de friture et les huiles chauffées à haute température diminuent leur digestibilité, ce qu'ils attribuent à une mauvaise hydrolyse des polymères de triacylglycérol par la lipase pancréatique, ce qui entraîne une augmentation du volume du foie et des reins. D'autres ont ajouté que le processus d'oxydation de l'huile de friture entraîne des changements dans la configuration des acides gras, qui passent des isomères cis aux isomères trans (Kamsiah *et al.*, 2011). Ce changement de configuration fait que l'acide gras polyinsaturé acquiert les propriétés indésirables associées aux acides gras saturés, ce qui conduit à une augmentation des taux de cholestérol sérique (Madelosi *et al.*, 2019). En outre, L'augmentation des niveaux de triglycérides après l'ingestion d'huile chauffée peut être due à la disponibilité accrue d'acides gras libres de substrat pour l'estérification (Aruna *et al.*, 2004; Shastry *et al.*, 2011). Plusieurs études ont montré les effets bénéfiques de *Nigella sativa* sur le profil lipidique. En accord avec notre résultat, l'activité anti-dyslipidémique de la nigelle a été démontrée dans le groupe des rats (HF- N) où nous avons enregistré une amélioration des taux de triglycérides et du cholestérol. Cette activité est liée aux flavonoïdes et aux polyphénols. Le traitement à la rutine a permis de réduire la concentration de TG et de cholestérol dans le foie d'animaux recevant à la fois un régime hypercalorique et de l'alcool. Ces résultats indiquent que la rutine minimise les effets néfastes sur

le métabolisme des lipides (Chuffa *et al.*, 2014). Dans une autre étude menée sur un modèle de hamster syrien doré hypercholestérolémique induit par le régime alimentaire montre que la rutine réduit de manière significative les niveaux de triglycérides plasmatiques chez les animaux expérimentaux (Kanashiro *et al.*, 2009). Oršoli'c *et al.* (2021) ont révélé que le traitement des souris diabétiques avec l'acide caféique a entraîné une réduction significative du profil lipidique.

L'analyse de nos résultats révèlent que le traitement des rats par le l'huile de friture a entraîné des modifications importantes des paramètres hématologiques. Cette étude actuelle est en accord avec Basak *et al.* (2017) qui ont rapporté que les régimes alimentaires à base d'huile de tournesol ont un impact sur plusieurs paramètres hématologiques chez les souris. Aussi, Ani *et al.* (2015) ont rapporté que les huiles de palme et d'arachide thermiquement oxydées peuvent être préjudiciables au système hématologique de l'organisme car elles provoquent une altération de la concentration d'hémoglobine, du nombre de globules blancs, des neutrophiles et des lymphocytes. L'huile de friture induit une augmentation de lymphocytes, monocytes, granulocytes et globules blancs chez les rats traités à l'huile de friture par rapport au témoin. Les globules blancs, également appelés leucocytes, sont les cellules du système immunitaire qui participent à la protection de l'organisme contre les maladies infectieuses. L'augmentation du taux des globules blancs reflète la présence d'inflammation au niveau tissulaire, ceci est confirmé par l'étude histologique. Cette étude est conforme à Ani *et al.* (2015) qui ont indiqué que cela peut être une indication d'inflammation, d'infection et de stress pour les organes principaux ou certaines maladies. En outre, plusieurs études antérieures ont démontré la relation entre la numération des globules blancs et la dyslipidémie (Kim *et al.*, 2008; Oliver *et al.*, 2010). Les globules rouges, l'hémoglobine, l'hématocrite, le volume globulaire moyen (VGM) et la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CGMH) ont également été étudiées. Ces indices sanguins sont particulièrement importants pour le diagnostic du type d'anémie présent dans un échantillon de sang donné (Guyton et Hall, 2000). Dans cette étude, il n'y a pas eu de changement significatif de ces valeurs chez les rats traités par l'huile de friture par rapport aux rats témoins. Alors qu'on note une augmentation des plaquettes chez les rats nourris à l'huile de friture par rapport au témoin. Une augmentation du nombre de plaquettes au-dessus de la normale sert de marqueur de maladie vasculaire présenté par Vidwan *et al.* (2010). Cette étude est en accord avec Abdelhalim et Moussa (2010) qui ont rapporté que le nombre de plaquettes du groupe de lapins nourris avec une alimentation riche en graisses a augmenté. L'administration de

la nigelle dans le régime alimentaire a permis de rétablir l'état hématologique à ces valeurs normales. Il a été démontré que cette plante modifie les paramètres hématologiques et augmente les mécanismes de défense de l'organisme (Velho-Pereira *et al.* 2012). Une étude sur des souris et des rats a prouvé que le traitement avec l'extrait de nigelle améliore de manière significative la perturbation hématologique causée par le cisplatine (Rasouli-Hiq *et al.*, 2016). Les propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes de l'acide caféique ont également été démontrées par la réduction du nombre de leucocytes chez les souris traitées par le diabète. Ainsi, on peut considérer que l'acide caféique restaure les paramètres hématologiques à des valeurs proches de la normale (Oršolić *et al.*, 2021). Le traitement par une combinaison de rutine et de cisplatine chez des souris porteuses de tumeurs a montré une amélioration significative de toutes les valeurs hématologiques, ce qui indique son potentiel à réduire les hématotoxicités induites par le cisplatine (Prasad et Prasad, 2018).

Les radicaux libres générés s'accumulent dans l'huile de friture, ils sont absorbés par les aliments frits et peuvent endommager les lipides en initiant la peroxydation lipidique. Le malondialdéhyde (MDA) est l'un des principaux produits finaux d'oxydation secondaire des acides gras polyinsaturés peroxydés (Marnett, 1999; Adam *et al.*, 2008). L'ingestion de ces produits de dégradation engendre des effets physiopathologiques associés au stress oxydatif (Herrera *et al.*, 2013) et contribue à diverses maladies métaboliques telles que les maladies cardiovasculaires (MCV), les cancers, l'obésité (Pizzino *et al.*, 2017) et le diabète de type 2 (Cahill *et al.*, 2014). L'évaluation des dommages cellulaires consiste à déterminer un important biomarqueur de la peroxydation lipidique et du stress oxydatif, le MDA. L'augmentation des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et du stress oxydatif chez les rats nourris par l'huile de friture (HF-0) entraîne une surproduction de MDA au niveau des trois tissus étudiés (foie, rein et intestin), ce qui indique une peroxydation lipidique accrue, entraînant des lésions tissulaires et l'incapacité des mécanismes de défense antioxydants à empêcher la formation excessive de ROS (Chow, 2008). Il a été démontré que la concentration de MDA, en tant que biomarqueur de l'état de la peroxydation des lipides, augmente en raison de la consommation d'huile peroxydée, comme l'ont signalé des études précédentes (Lu *et al.*, 2014). Il peut être attribuée à la formation de diglycérides, de triglycérides oxydés, de dimères de triglycérides, d'acides gras oxydés et de polymères de triglycérides pendant le processus de friture, ce qui entraîne une augmentation de la peroxydation des lipides (Kaffashi, 2012). L'augmentation de la teneur en MDA hépatique

observée dans cette étude peut suggérer que l'oxydation thermique de l'huile pourrait affecter la formation de radicaux libres, ce qui est en accord avec les travaux précédents rapportés par Ringseis *et al.* (2007), qui a confirmé les dommages du système de défense antioxydant dans les tissus. De même, comme l'a souligné un rapport précédent, le stress oxydatif a la capacité de favoriser les lésions rénales en induisant une cytotoxicité, comme le montre l'accumulation des niveaux de malonyldialdéhyde rénal dans notre étude actuelle (Cachofeiro *et al.*, 2008). L'intestin grêle a été utilisé parce que les cellules intestinales sont vraisemblablement exposées à des niveaux abondants d'acides gras oxydés thermiquement lors du passage intestinal après l'ingestion de l'huile de friture et parce qu'elles absorbent efficacement les acides gras oxydés aussi facilement que les acides gras non oxydés (Yoshida et Kajimoto, 1989; Márquez-Ruiz et Dobarganes, 1996; Sánchez-Muniz *et al.*, 1999).

Pour lutter contre ce stress oxydatif, l'organisme possède des systèmes de défense antioxydants enzymatiques et non-enzymatiques. Dans notre étude expérimentale, les résultats montrent une diminution significative du niveau de glutathion dans tous les tissus étudiés chez les rats nourris par l'huile de friture. Le glutathion se trouve principalement sous sa forme réduite (GSH) et le rapport GSH/GSSG est un indicateur important pour évaluer le statut redox cellulaire. Une diminution de ce rapport indique un stress oxydatif et une réduction des défenses antioxydantes (Franco *et al.*, 2007). Le glutathion réduit entre dans différents processus de détoxification au sein des cellules vivantes et participe aux réactions d'oxydoréduction des hydroperoxydes toxiques et des radicaux libres (anion superoxyde, radicaux alcoyle et peroxyde) en présence de la glutathion peroxydase (GPx). Il contribue également aux réactions de conjugaison avec les électrolytes, les métabolites des médicaments, les xénobiotiques et tous les composés exogènes. Tout cela se produit en présence des enzymes glutathion S-transférases (GST) (Saka *et al.*, 2002). La diminution du statut GSH chez les rats traités à l'huile de friture peut être due à sa consommation dans le piégeage des radicaux libres produits par l'huile de friture. Nos résultats sont en accord avec l'étude de Saka *et al.* (2002), qui ont démontré que l'huile chauffée et l'huile de friture ont causé une diminution significative du taux de GSH hépatique; ils sont également en accord avec les résultats obtenus par Poirier *et al.* (2000), qui ont constaté une diminution significative du taux du GSH rénal chez les rats obèses ayant reçu une alimentation riche en graisses. Une diminution du taux de GSH a été observée dans le tissu cardiaque des rats nourris avec de l'huile de friture. Cette observation est conforme à l'étude qui a

démontré que le niveau de glutathion (GSH) était significativement réduit dans le cœur des animaux nourris avec un régime à haute teneur en cholestérol par rapport au groupe témoin. Ils ont supposé que la réduction des niveaux de glutathion tissulaire était le résultat d'un stress oxydatif accru et d'une peroxydation lipidique provoquée par le régime riche en cholestérol (Novelli *et al.*, 2007; Diniz *et al.*, 2008). La diminution du niveau de glutathion dans les tissus intestinaux peut s'expliquer par le fait que la consommation d'huile de tournesol oxydée thermiquement peut favoriser le stress oxydatif intestinal, et par conséquent, provoquer des dommages intestinaux et un dysfonctionnement de la barrière intestinale, comme l'a démontré l'étude sur les porcs (Ringseis *et al.*, 2007).

La GST, la CAT et la GPx constituaient une équipe enzymatique de défense mutuelle contre les espèces réactives de l'oxygène. Dans la présente étude, l'activité des enzymes antioxydantes (GST, CAT et GPx) a été mesurée dans le foie, les reins, les intestins et les données ont clairement montré une diminution significative des activités des enzymes dans les trois tissus étudiés chez les rats traités par l'huile de friture. Nos résultats sont conformes à l'étude de Purushothama *et al.* (2003) qui indique que la diminution des activités enzymatiques après l'alimentation de graisses chauffées a été attribuée à des produits de dégradation secondaires comme les monomères d'acides gras carbonylés ou cycliques générés lors des opérations de friture. On sait que les enzymes GSTs protègent l'organisme contre la cytotoxicité induite par les produits chimiques étrangers et assurent la tolérance en catalysant la S- conjugaison entre le groupement thiol (-SH) de la GSH et la fraction électrophile dans le substrat hydrophobe avec la formation de métabolites hydrophiles conjugués au glutathion (Deavall *et al.*, 2012). La diminution de l'activité de la GST au niveau des trois tissus (foie, rein et intestin) chez les rats traités par l'huile de friture explique la participation de cette enzyme dans les réactions de conjugaison des composés électrophiles toxiques issus du métabolisme de l'huile de friture avec le GSH pour former des métabolites hydrophiles non toxiques extractibles dans l'urine. La glutathion peroxydase catalyse les réactions de réduction du peroxyde d'hydrogène ou des hydroperoxydes lipidiques en utilisant le glutathion réduit (GSH) tout en jouant un rôle dans la détoxification de ces molécules en créant un glutathion oxydé (GSSG). Comme la diminution du taux de GSH correspond à la diminution de l'activité de la GPx, il est suggéré que les tissus des rats nourris à l'huile de friture contiennent une forte concentration d'hydroperoxydes lipidiques (ROOH) et de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). La catalase est similaire à la GPx en ce

sens qu'elle détoxifie l' $H_2O_2$  pour produire de l' $H_2O$ ; cependant, la CAT le fait à des concentrations élevées et la GPx à de faibles concentrations d' $H_2O_2$ . Puisque l'activité de la GPx est affectée par l'état de peroxydation, il est logique que l'activité de la CAT soit également affectée. Nos résultats sont en accord avec l'étude de Rouaki *et al.* (2013) qui ont trouvé une diminution significative de l'activité de la CAT suite à l'ingestion d'un régime alimentaire contenant de l'huile de friture. Une diminution de l'activité de ces enzymes antioxydantes peut conduire à un excès d'anion superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ) et de peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), qui génèrent des radicaux libres, entraînant l'initiation et la propagation de la peroxydation des lipides (Chen *et al.*, 2017). Une coordination entre la GPx et la CAT est nécessaire pour une élimination adéquate de l' $H_2O_2$ . Nos résultats sont cohérents avec les études qui ont montré que les antioxydants enzymatiques tels que la CAT et la GPx étaient réduits dans le foie et les reins de souris hyperlipidémiques, comme l'ont déjà signalé Vijayakumar *et al.* (2004) et Ajiboye *et al.* (2014) chez des rats traités avec une alimentation riche en graisses. Une diminution des activités des enzymes antioxydantes dans l'intestin a été constatée à l'aide de différentes recherches (Ringseis *et al.*, 2007; David *et al.*, 2010; Awada *et al.*, 2012). La présente étude suggère que l'huile de friture pourrait provoquer un stress oxydatif métabolique dans l'intestin des rats.

La supplémentation de la nigelle dans l'alimentation des rats a réduit l'intensité de la toxicité de l'huile de friture en augmentant le statut de la GSH grâce à sa régénération. En conséquence, le fonctionnement des enzymes antioxydantes (GPx, GST et CAT) est devenu normal, ce qui a probablement augmenté la capacité de la cellule à piéger les radicaux libres. La forte liaison entre les ERO et la peroxydation des lipides a été réduite, ce qui a finalement diminué la réaction en chaîne de la peroxydation des lipides insaturés. Il en a résulté une diminution du taux sérique de MDA, qui est un biomarqueur de la peroxydation des lipides. Ceci est dû à l'activité antioxydante des polyphénols et des flavonoïdes, qui piègent les radicaux libres, renforcent le pouvoir réducteur et inhibent la peroxydation des lipides par transfert d'électrons ou comme donneurs d'hydrogène. L'activité antioxydante de ces graines est également due à leur richesse en vitamines telles que les vitamines A et C, et en minéraux tels que le cuivre (Cu), le zinc (Zn) et le fer (Fe) qui sont considérés comme des cofacteurs des enzymes antioxydantes (Mamun et Absar, 2018; Kazmi *et al.*, 2019). Certaines études indiquent que *N. sativa* diminue la peroxydation des lipides et augmente l'activité des enzymes antioxydantes (Al-Mahasneh *et al.*, 2008; Ragheb *et al.*, 2008). Il a été suggéré que la

supplémentation alimentaire de la poudre de nigelle inhibe le stress oxydatif causé par l'huile de maïs oxydée chez les rats (Al-Othman *et al.*, 2006). De même, plusieurs auteurs ont montré que la nigelle est dotée de fortes propriétés antioxydantes in vivo et in vitro. Kehili *et al.* (2017) ont montré qu'une supplémentation alimentaire de *Nigella sativa* améliorait significativement la teneur en GSH et les activités enzymatiques antioxydantes (GPx, CAT et GST) chez les rats traités au cadmium. Il a été constaté que la thymoquinone (TQ) piège les espèces réactives de l'oxygène (ERO), qui comprennent les radicaux libres tels que le radical hydroxyle ( $\bullet\text{OH}$ ), le radical ionique superoxyde ( $\text{O}_2\bullet^-$ ) et les espèces non radicalaires telles que le peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) et l'oxyde nitrique (NO). L'administration de rutine à des rats traités au bromate de potassium a entraîné une augmentation de l'activité des enzymes antioxydantes, à savoir la catalase, la superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase, la glutathion-S-transférase, la glutathion réductase et le glutathion réduit, ainsi qu'une réduction de la peroxydation lipidique (Khan *et al.*, 2012). La rutine agit comme un piègeur d'espèces oxydantes réactives en donnant des atomes d'hydrogène aux radicaux peroxy, aux anions superoxyde et aux radicaux hydroxyles et oxygène singulet; elle fonctionne également comme un terminateur et un chélateur d'ions métalliques capables d'oxyder la peroxydation lipidique (Radwan et Fattah, 2017). Il a été rapporté que le traitement avec la rutine pourrait améliorer le statut antioxydant du foie en augmentant les niveaux de glutathion peroxydase, de catalase et de superoxyde dismutase prévenir les dommages membranaires en réduisant la peroxydation lipidique (Niture *et al.*, 2014). La capacité de l'acide caféique à augmenter les activités des enzymes antioxydantes chez les rats traités à l'oxytétracycline implique que l'acide caféique réactive le système de défense antioxydant, augmentant ainsi le piégeage des radicaux libres et réduisant la peroxydation lipidique (Jayanthi et Subash, 2010). Il a également été révélé que l'administration d'acide caféique peut protéger les rats du stress oxydatif et de la toxicité gastro-intestinale induits par le cisplatine et ramener les activités des enzymes superoxyde dismutase, catalase, glutathion réductase et glutathion peroxydase près de leur niveau normal (Arivarasu *et al.*, 2013). Les résultats indiquent que l'acide caféique a empêché le stress oxydatif et les dommages à l'ADN, probablement en piégeant les ERO existants, tout en arrêtant la production de nouveaux ERO, la peroxydation lipidique et la carbonylation des protéines. En outre, l'acide caféique a agi en augmentant les niveaux de glutathion réduit (GSH), ainsi que l'activité de l'enzyme de détoxification, la glutathion peroxydase; il protège également le contenu de l'ADN dans les tissus

étudiés et préserve l'histopathologie des tissus (Koriem *et al.*, 2012).

L'étude histologique est essentielle pour confirmer tous les résultats précédents. Le régime alimentaire contenant de l'huile de friture provoque des dommages oxydatifs accompagnés de changements histologiques dans le tissu hépatique et rénal. En effet, il existe un lien entre les changements biochimiques et histologiques. L'atteinte hépatique se traduit essentiellement par un infiltrat inflammatoire lymphoplasmocytaire de l'espace porte et une dilatation du parenchyme, qui pourrait être due à l'effet néfaste des radicaux libres sur la perméabilité des membranes, entraînant ainsi la fuite des enzymes hépatiques dans le plasma. Jaarin *et al.* (2016), ont rapporté que la réutilisation de l'huile de tournesol provoque une infiltration cellulaire inflammatoire chronique et un gonflement des cellules du foie chez les rats. L'élévation des déchets du métabolisme protéique est un indicateur de l'altération de la fonction rénale au niveau tubulaire qui s'exprime par une dilatation. Ces altérations sont induites lors du stress oxydatif par l'augmentation de la peroxydation lipidique (Thevenod, 2003). L'action antioxydante de *Nigella sativa* a été proposée comme l'un des principaux mécanismes possibles pour les actions protectrices de l'épice contre la toxicité et la létalité d'un certain nombre d'agents toxiques. L'effet cytoprotecteur des composés bioactifs des graines de nigelle améliore l'architecture histologique du foie et des reins. Il a été démontré que la nigelle réduit la nécrose, la congestion et la dilatation tubulaire dans le tissu rénal (Canayakin *et al.*, 2016). Une étude a montré que l'acide caféique prévenait les lésions hépatiques induites par l'acétaminophène lorsque des souris recevaient de l'acide caféique par voie orale pendant 7 jours avant l'intoxication par l'acétaminophène (Pang *et al.*, 2016). Des études histologiques dans le foie et les reins ont également montré que l'administration d'acide caféique à des rats traités par l'alcool entraînait une réduction marquée des changements pathologiques induits par l'alcool (Karthikesan et Pari, 2007). La rutine diminue les niveaux d'enzymes hépatiques dans le sérum et améliore les lésions histologiques des hépatocytes (Li *et al.*, 2010; Fernandes *et al.*, 2010) réduisant ainsi la réponse inflammatoire impliquée dans la toxicité rénale aiguë causée par le cisplatine (Radwan et Fattah, 2017).

---

***Conclusion  
et perspectives***

---

## Conclusion

Au cours de cette étude, nous avons effectué différentes analyses afin de déterminer l'activité antioxydante des graines de *Nigella sativa* d'une part et d'évaluer le potentiel toxique de l'huile de friture d'autre part. Les résultats obtenus ont révélé plusieurs changements dans la composition des huiles des bains de friture. Celles-ci sont dues à l'action de la chaleur appliquée, de répétition de friture des huiles. Le niveau d'altération des huiles augmente avec le nombre de fritures, ce qui a entraîné dans notre étude une augmentation de l'indice de peroxyde, de l'acidité, de l'humidité et une intensification de la couleur d'origine.

L'étude phytochimique de la nigelle est consacrée à l'extraction, à l'identification des composés bioactifs par l'analyse HPLC et à la détermination des polyphénols totaux et des flavonoïdes ainsi qu'à l'évaluation de l'activité antioxydante par la mesure de l'inhibition des radicaux libres synthétiques (DPPH et ABTS) et l'évaluation du pouvoir réducteur (CUPRAC). Au terme de cette étude, les résultats obtenus sont:

- ✚ L'analyse par HPLC a permis d'identifier trois composés phénoliques dans l'extrait hydrométhanolique de *Nigella sativa*, à savoir la rutine, le catéchol et l'acide caféique.
- ✚ L'étude phytochimique de *Nigelle sativa* a révélé qu'elle contient des quantités considérables de flavonoïdes et des polyphénols totaux, qui peuvent contribuer aux propriétés pharmacologiques de cette épice.
- ✚ Les résultats montrent que *Nigella sativa* a une capacité de piéger les radicaux DPPH<sup>-</sup> et ABTS<sup>+</sup> tout en donnant un atome d'hydrogène pour produire une forme non-radicalaire. De plus, les résultats de CUPRAC suggèrent que Cu<sup>+2</sup> ont été réduits en Cu<sup>+</sup> en présence de la néocuproïne ce qui reflètent la capacité de la nigelle à transférer des électrons.

L'exposition aux toxines contenues dans l'huile de friture après avoir nourri des rats avec cette huile pendant 30 jours a entraîné de multiples effets néfastes sur leur santé, qui peuvent être résumés comme suit:

- ✚ L'étude physiologique montre que la croissance des rats n'a pas été influencée par le traitement. Cependant, une diminution des rapports organo-somatiques chez les rats nourris avec de l'huile de friture.
- ✚ Une augmentation de la glycémie.
- ✚ Un déséquilibre biochimique marqué essentiellement par une augmentation de l'urée, de la créatinine et de l'acide urique accompagné d'une hyperlipidémie représentée par une augmentation des taux de cholestérol et de TG ainsi que par une perturbation de la fonction

hépatique marquée notamment par l'élévation de l'activité des aminotransférases, de l'ALP et du taux de bilirubine directe et de bilirubine totale.

- ✚ Des perturbations hématologiques traduites par une augmentation du nombre total de globules blancs (GB), de lymphocytes (LYM), de cellules monocytaires (MON) et de cellules granulocytaires (GRA), ainsi que la concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CGMH) .
- ✚ Un état de stress oxydatif marqué principalement par une augmentation du taux de MDA, le biomarqueur de la peroxydation lipidique, une réduction considérable du taux de GSH et de l'activité des enzymes antioxydantes (CAT, GPx et GST).
- ✚ Une altération structurale au niveau des tissus hépatique est rénale.
- ✚ Cependant, la supplémentation de 2 % des graines de nigelle à l'alimentation des rats nourri avec l'huile de friture a amélioré les perturbations métaboliques, histologiques et module les systèmes de défense antioxydants.

En conclusion, les études ci-dessus indiquent clairement qu'un contrôle strict du processus de friture devrait être obligatoire en ce qui concerne la température, le temps de chauffage et le nombre de friture. Nos résultats révèlent que les graines de nigelle peuvent être utilisées comme antioxydant naturel contre le stress oxydatif en raison de leur capacité à piéger les espèces réactives de l'oxygène générées par l'huile de friture tout en augmentant les activités des enzymes antioxydantes et en réduisant la peroxydation des lipides et les effets néfastes du stress sur l'organisme.

Afin de compléter ce travail, il serait intéressant:

- ✚ De caractériser d'autres composés bioactifs de l'extrait des graines de nigelle responsables de ces effets potentiels en utilisant des techniques plus développées (LC- MS et RMN).
- ✚ Evaluer l'effet antioxydant de l'huile de ces graines et le comparer à l'effet d'une supplémentation en graines entières.
- ✚ Évaluation des composés volatils par GC-MS.
- ✚ Étudier d'autres activités biologiques telles que l'activité antibactérienne et anti-inflammatoire.
- ✚ D'étendre l'étude à d'autres organes de la plante (fleur, feuille, tige) afin de déterminer la partie la plus riche en composés phénolique.

---

*Références*

*Bibliographiques*

---

## Références Bibliographiques

### A

- Ab Rahman M.R., Abdul Razak F., Mohd Bakri M. (2014). Evaluation of wound closure activity of *Nigella sativa*, *Melastoma malabathricum*, *Pluchea indica*, and *Piper sarmentosum* extracts on scratched monolayer of human gingival fibroblasts. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2014: 190342. Doi: 10.1155/2014/190342
- Abbott A. (2010). Basel declaration defends animal research. *Nature*. 468(7325): 742. Doi: 10.1038/468742a
- Abdelhalim M.A.K., Moussa S.A. (2010). Biochemical changes of hemoglobin and osmotic fragility of red blood cells in high fat diet rabbits. *Pak J Biol Sci*. 13(2): 73-77.
- Abidi A., Bahri S., Jameleddine S.B.K. (2019). Propriétés pharmacologiques et physiologiques de *Nigella sativa* L. *Revue FSB*. 17: 44-52.
- Adam S.K., Soelaiman I.N., Umar N.A., Mokhtar N. Mohammed N., Jaarin K. (2008). Effect of repeatedly heated palm oil on serum lipid profile, lipid peroxidation and homocytene levels in a post- menopausal rat model. *Mcgill J Med*. 1(2): 145 151.
- Adwas A.A., Elsayed A.S.I., Azab A.E., Quwaydi F.A. (2019). Oxidative stress and antioxidant mechanisms in human body. *J Appl Biotechnol Bioeng*. 6(1): 43-47. Doi: 10.15406/jabb.2019.06.00173
- Aebi H. (1984). [13] Catalase in vitro. *Methods enzymol*. 105: 121-126. Doi: 10.1016/S0076-6879(84)05016-3
- Ahlatci A., Kuzhan A., Taysi S., Demirtas O.C., Alkis H.E., Tarakcioglu M., Demirci A., Caglayan D. (2014). Radiation-modifying abilities of *Nigella sativa* and Thymoquinone on radiation-induced nitrosative stress in the brain tissue. *Phytomed*. 21(5): 740-744. Doi: 10.1016/j.phymed.2013.10.023

- Ahmad A., Husain A., Mujeeb M., Khan S.A., Najmi A.K., Siddique N.A., Damanhoury Z.A., Anwa F. (2013). A review on therapeutic potential of *Nigella sativa*: A miracle herb. *Asian Pac J Trop Biomed.* 3(5): 337-352. Doi: 10.1016/S2221-1691(13)60075-1
- Ahmad S., Beg Z.H. (2013). Hypolipidemic and antioxidant activities of thymoquinone and limonene in atherogenic suspension fed rats. *Food Chem.* 138(2-3): 1116-1124. Doi: 10.1016/j.foodchem.2012.11.109
- Ajiboye T.O., Akinpelu S.A., Murital H.F., Ogunbode S M., Adeleye A.O., Oladiji A.T., Oloyede O.B. (2014). *Trichosanthes cucumerina* fruit extenuates dyslipidemia, protein oxidation, lipid peroxidation and DNA fragmentation in the liver of high-fat diet-fed rats. *J Food Biochem.* 38: 480–490. Doi: 10.1111/jfbc.12080
- Alaam M.H., Yasin N.M.N., Hafez S.A., Mohammed H.H.I. (2012.). Biological and histological evaluations of palm oil and its fractions. *World J Dairy Food Sci.* 7(2): 120-130. Doi: 10.5829/idosi.wjdfs.2012.7.2.1105
- Al-Adhroey A.H., Nor Z.M., Al-Mekhlafi H.M., Mahmud R. (2010). Ethnobotanical study on some Malaysian anti-malarial plants: a community based survey. *J Ethnopharmacol.* 132(1): 362 364. Doi: 10.1016/j.jep.2010.08.006
- Al-Gubory K.H. (2014). Environmental pollutants and lifestyle factors induce oxidative stress and poor prenatal development. *Reprod Biomed Online.* 29(1): 17-31. Doi: 10.1016/j.rbmo.2014.03.002
- 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 Metab Lett.* 4(1): 51-55. Doi: 10.2174/187231210790980435
- Al-Mahasneh M.A., Ababneh H.A., Rababah T. (2008). Some engineering and thermal properties of black cumin (*Nigella sativa* L.) seeds. *Int J Food Sci.* 43(6): 1047-1052. Doi: 10.1111/j.1365-2621.2007.01561.x

- Al-Othman A.M., Ahmad F., Al-Orf S., Al-Murshed K.S., Ariff Z. (2006). Effect of dietary supplementation of *Ellataria cardamun* and *Nigella sativa* on the toxicity of rancid corn oil in rats. *Int J Pharmacol.* 2(1): 60-66. Doi: 10.3923/ijp.2006.60.65
- Al-Rejaie S.S., Aleisa A.M., Sayed-Ahmed M M., AL-Shabanah O.A., Abuohashish H.M., Ahmed M.M., Hafez M.M. (2013). Protective effect of rutin on the antioxidant genes expression in hypercholestrolemic male Westar rat. *BMC Complement Altern Med.* 13(1): 136. Doi: 10.1186/1472-6882-13-136
- Alaam M.H., Yasin N.M.N., Hafez S.A., Mohammed H.H.I. (2012.). Biological and histological evaluations of palm oil and its fractions. *World J Dairy Food Sci.* 7(2): 120-130. Doi: 10.5829/idosi.wjdfs.2012.7.2.1105
- Alrawi S.N., Khidir A., Elnashar M.S., Abdelrahim H.A., Killawi A.K., Hammoud M.M., Fetters M.D. (2017). Traditional Arabic & Islamic medicine: validation and empirical assessment of a conceptual model in Qatar. *BMC Compl Altern Med.* 17(1): 157. Doi: 10.1186/s12906-017-1639-x
- Ammu K., Raghunath M.R., Sankar T.V., Lalith, K.V., Devadesan K. (2000). Repeated use of oil for frying fish. Effect of feeding the fried fish to rats. *Nahraung.* 44(5): 368-372. Doi: 10.1002/1521-3803(20001001)44:5<368:AID-FOOD368>3.0.CO;2-L
- Ani E.J., Nna V.U., Obi C.E. Udobong N.J. (2015). Comparative effects of thermoxidized palm oil and groundnut oil diets on some haematological para-meters in Albino wistar rats. *Aust j basic appl.* 9(5): 181-184.
- Apak R., Guclu K., Ozyurek M., Karademir S.E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC Method. *J Agric Food Chem.* 52(26): 7970-7981. Doi: 10.1021/jf048741x
- Arivarasu N.A., Priyamvada S., Mahmood R. (2013). Oral administration of caffeic acid ameliorates the effect of cisplatin on brush border membrane enzymes and antioxidant system in rat intestine. *Exp Toxicol Pathol.* 65(1-2): 21-25. Doi: 10.1016/j.etp.2011.05.004

- Aruna K., Rukkumani R., Sureshvarma P. (2004). Role of an aminothiazole derivative on ethonal and thermally oxidized sunflower oil – induced toxicity. *Polish J pharmacol.* 56(2): 233-240.
- Arzumanian V., Stankevicius E., Laukeviciene A., Kevelaitis E. (2003). Mecanisms of nitric oxide synthesis and action in cells. *Medicina.* 39(6): 535-541.
- Ashor A.W., Siervo M., Mathers J.C. (2016). Chapter 43 – Vitamin C, antioxidant status, and cardiovascular aging. (609-619). A2 - Malavolta, Marco. In: Mocchegiani E (ed.). *Molecular basis of nutrition and aging.* San Diego, Academic Press. Doi: 10.1016/B978-0-12-801816-3.00043-1
- Awad M.A., Aldosari S.R., Abid M.R. (2018). Genetic alterations in oxidant and anti-oxidant enzymes in the vascular system. *Front Cardiovasc Med.* 5: 107-115. Doi: 10.3389/fcvm.2018.00107
- Awada M., Soulage C.O., Meynier A., Debard C., Plaisancié P., Benoit B., Picard G., Loizon E., Chauvin M.A., Estienne M., Peretti N., Guichardant M., Lagarde M., Genot C., Michalski M.C. (2012). Dietary oxidized n-3 PUFA induce oxidative stress and inflammation: role of intestinal absorption of 4-HHE and reactivity in intestinal cells. *J Lipid Res.* 53(10): 2069- 2080. Doi: 10.1194/jlr.M026179
- Aycan I.O., Tufek A., Tokgoz O., Evliyaoğlu O, Firat U., Kavak G.Ö., Turgut H., Yüksel M.U. (2014). Thymoquinone treatment against acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. *Int J SurgI.* 12(3): 213-218. Doi: 10.1016/j.ijisu.2013.12.013
- Azmil Haizam A.T., Raza I., Ainie K. (2016). Effect of frying on the palm oil quality attributes - A review. *J Oil Palm Res.* 28(2): 143-153. Doi: 10.21894/jopr.2016.2802.01
- Azzi R., Djaziri R., Lahfa F., Sekkal F.Z., Benmehdi H., Belkacem N. (2012). Ethnopharmacological survey of medicinal plants used in the traditional treatment of diabetes mellitus in the North Western and South Western Algeria. *J Med Plants Res.* 6(10): 2041-2050. Doi: 10.5897/JMPR11.1796

## B

- Bamosa A.O., Kaatabi H., Lebdaa F.M., Elq A., Al-Sultanb A. (2010). Effect of *Nigella sativa* seeds on the glyceemic control of patients with type 2 diabetes mellitus. *Indian J Physiol Pharmacol.* 54(4): 344-54.
- Barja G. (2004). Free Radicals and Aging. *Trends Neurosci.* 27: 595-600. Doi: 10.1016/j.tins.2004.07.005
- Basak A., La B., Ahmad N., Rafiq K. (2017). Effect of sunflower oil supplementation in feed on body weight and hematobiochemical parameters in mice. 28(1): 36-41. Doi: 10.3329/pa.v28i1.32857
- Benaziza A., Semad D. (2016). Oleiculture: caractérisation de six variétés d'olives introduites dans le Sud-Est Algérien. *Eur Sci J.* 12(33): 545-551. Doi: 10.19044/ESJ.2016.V12N33P537
- Benazzouz-Smail L., Achat S., Brahmi F., Bachir-Bey M., Arab R., Lorenzo J.M., Benbouriche A., Boudiab K., Hauchard D., Boulekbache L., Madani K. (2023). Biological properties, phenolic profile, and botanical aspect of *Nigella sativa* L. and *Nigella damascena* L. seeds: A comparative study. *Molecules.* 28(2): 571. Doi: 10.3390/molecules28020571
- Benhaddou-Andaloussi A., Martineau L., Spoor D., Vuong T., Leduc C., Joly E., Burt A., Meddah B., Settaf A., Arnason J.T., Prentki M., Haddad P.S. (2008). Anti-diabetic activity of *Nigella sativa* seed extract in cultured pancreatic  $\beta$ -cells, skeletal muscle cells and adipocytes. *Pharm Biol.* 46(1-2): 96-104. Doi: 10.1080/13880200701734810
- Benhaddou-Andaloussi A., Martineau L., Vuong T., Meddah B., Madiraju P., Settaf A., Haddad P.S. (2011). The in vivo Antidiabetic Activity of *Nigella sativa* is Mediated through Activation of the AMPK Pathway and Increased Muscle Glut4 Content. *Evid Based Compl Alternat Med.* 2011: 538671. Doi: 10.1155/2011/538671
- Benhar M. (2018). Roles of mammalian glutathione peroxidase and thioredoxin reductase enzymes in the cellular response to nitrosative stress. *Free Radic Biol Med.* 127: 160-164. Doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.01.028

- Benkaci A.F. (2007). Etude de la composition chimique de la *Nigella sativa* L'originale d'Algérie. Thèse doctorat en chimie. Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene, Algérie. <https://repository.usthb.dz/handle/123456789/1257>. Date de consultation 20/12/2022
- Bensakhria A. (2018). Chapitre 9- Le Stress Oxydatif (70-86). In: Bensakhria A. (Ed). Toxicologie Générale.
- Bensiameur-Touati K., Kacimi G., Haffaf E.M., Berdja S., Aouichat-Bouguerra S. (2017). In vivo subacute toxicity and antidiabetic effect of aqueous extract of *Nigella sativa*. Evid Based Compl Alternat Med. 2017: 8427034. Doi: 10.1155/2017/8427034
- Beshel F., Antai B., Osim E. (2013). Chronic consumption of three forms of palm oil diets alters glomerular filtration rate and renal plasma flow. Gen Physiol Biophys. 33(2): 251-256. Doi: 10.4149/gpb\_2013069
- Birben E., Sahiner U.M., Sackesen C., Erzurum S., Kalayci O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. World Allergy Organ J. 5: 9-19. Doi: 10.1097/WOX.0b013e3182439613
- Blois M.S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature. 4617(181): 1119-1200. Doi: 10.1038/1811199a0
- Blumberg J., Bailey R., Sesso H., Ulrich C. (2018). The evolving role of multivitamin/multimineral supplement use among adults in the age of personalized nutrition. Nutrients. 10(2): 248-261. Doi: 10.3390/nu10020248
- Boskou D. (2015). Olive fruit, table olives, and olive oil bioactive constituents. In: Olive and Olive Oil Bioactive Constituents (1-30). Boskou D. Ed. Academic Press and AOCS Press: Urbana, Illinois, USA.
- Botnick I., Xue W., Bar E., Ibdah M., Schwartz A., Joel D.M., Lev F., Fait A., Lewinsohn E. (2012). Distribution of primary and specialized metabolites in *Nigella sativa* seeds, a spice with vast traditional and historical uses. Molecules. 17(9): 10159-10177. Doi: 10.3390/molecules170910159

Bouchon P. (2009). Understanding oil absorption during deep-fat frying. *Adv Food Nutr Res.* 57: 209-234. Doi: 10.1016/S1043-4526(09)57005-2

Bouider N. (2016). Conception et synthèse de nouveaux activateurs des canaux potassiques dérivant de l'ouverture du cycle du diazoxide: étude de l'effet vasodilatateur, de la stimulation de la synthèse d'élastine et de l'effet inhibiteur sur la sécrétion de l'insuline. Thèse de doctorat, Université de Jijel, Algérie. <http://dspace.univ-jijel.dz:8080/xmlui/handle/123456789/3936>.  
Date de consultation 10/12/2022

Bouzabata A. (2013). Traditional treatment of high blood pressure and diabetes in Souk Ahras district. *J Pharmacognosy Phytother.* 5(1): 12–20. Doi: 10.5897/JPP11.065

Bradford M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 72: 248- 254.

## **C**

Cachofeiro V., Goicochea M., de Vinuesa S.G., Oubina P., Lahera V., Luno J. (2008). Oxidative stress and inflammation, a link between chronic kidney disease and cardiovascular disease. *Kidney Int Suppl.* 111: 54-59. Doi: 10.1038/ki.2008.516

Cahill L.E., Pan A., Chiuve S.E., Sun Q., Willett W.C., Hu F.B., Rimm E.B. (2014). Fried-food consumption and risk of type 2 diabetes and coronary artery disease: a prospective study in 2 cohorts of US women and men. *Am J Clin Nutr.* 100(2): 667–675. Doi: 10.3945/ajcn.114.084129

Canayakin D., Bayir Y., Baygutalp N.K, Karaoglan E.S., Atmaca H.K., Ozgeris F.B.K., Keles M.S., Halici Z. (2016). Paracetamolinduced nephrotoxicity and oxidative stress in rats: the protective role of *Nigella sativa*. *Pharm Biol.* 54(10): 2082-2091. Doi: 10.3109/13880209.2016.1145701

Chen C., Zhang B., Huang Q., Fu X., Liu R.H. (2017). Microwave-assisted extraction of polysaccharides from *Moringa oleifera* Lam. leaves: Characterization and hypoglycemic activity. *Ind Crops Prod.* 100: 1-11. Doi: 10.1016/j.indcrop.2017.01.042

- Cheng K.W., Wu Q., Zheng Z.P., Peng X., Simon J.E., Chen F., Wang M. (2007). Inhibitory effect of fruit extracts on the formation of heterocyclic amines. *J. Agric. Food Chem.* 55(25): 10359-10365. Doi: 10.1021/jf071820z
- Cheng K.W., Shi J.J., Ou S.Yi., Wang M., Jiang Y. (2010). Effects of Fruit Extracts on the Formation of Acrylamide in Model Reactions and Fried Potato Crisps. *J. Agric. Food Chem.* 58(1): 309-312. Doi: 10.1021/jf902529v
- Chiang Y.F., Shaw H.M., Yang M.F., Huang C.Y., Hsieh C.H., Chao P.M. (2011). Dietary oxidised frying oil causes oxidative damage of pancreatic islets and impairment of insulin secretion, effects associated with vitamin E deficiency. *Br J Nutr.* 105(9): 1311-1319. Doi: 10.1017/S0007114510005039
- Choe E., Lee J. (1998). Thermooxidative stability of soybean oil, beef tallow, and palm oil during frying of steamed noodles. *Korean J Food Sci Technol.* 30: 288-292.
- Choe E., Min D.B. (2006). Chemistry and reactions of reactive oxygen species in foods. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 46(1): 1-22. Doi: 10.1080/10408390500455474
- Choe E., Min D.B. (2007). Chemistry of deep-fat frying oils. *J Food Sci.* 72(5): R77-R86. Doi: 10.1111/j.1750-3841.2007.00352.x
- Chow C.K. (2008). Biological effects of oxidized fatty acids. In: Chow, C K (Ed), *Fatty acids in foods and their health implications*, 3<sup>rd</sup> edition, CRC Press, Taylor and Francis Book: Boca Raton, FL. Doi: 10.1201/9781420006902
- Li G., Chu J., Li G., Han S. (2010). Protective effect of rutin from buckwheat flowers and leaves on hepatic injury at early stage in diabetic rats. *Jiangsu Med J.* 8: 026.
- Chuffa L.G., Fioruci-Fontanelli B.A., Bordon J.G, Pires R.B., Braga C.P., Seiva F.R., Fernandes A.H. (2014). Rutin ameliorates glycemic index, lipid profile and enzymatic activities in serum, heart and liver tissues of rats fed with a combination of hypercaloric diet and chronic ethanol consumption. *Indian J. Biochem. Biophys.* 51(3): 215–222.

Costantini D. (2014). Oxidative stress and hormesis in evolutionary ecology and physiology. A marriage between mechanistic and evolutionary approaches. Springer Heidelberg, New York; Dordrecht; London. Doi: 10.1007/978-3-642-54663-1

## D

Daba M.H., Abdel-Rehman M.S. (1998). Hepatoprotective activity of thymoquinone in isolated rat hepatocytes. *Toxicol Lett.* 95(1): 23-29. Doi: 10.1016/s0378-4274(98)00012-5

Das S., Dey K.K., Dey G., Pal I., Majumder A., MaitiChoudhury S., Kundu S.C., Mandal M. (2012). Antineoplastic and apoptotic potential of traditional medicines thymoquinone and diosgenin in squamous cell carcinoma. *Plos One.* 7(10): e46641. Doi: 10.1371/journal.pone.0046641

Datau E., Surachmanto E., Pandelaki K., Langi J. (2010). Efficacy of *Nigella sativa* on serum free testosterone and metabolic disturbances in central obese male. *Acta Med Indones.* 42(3): 130–134.

David R.O., Bastida S., Schultz A., Torres L.G., González-Muñoz M.J., Sánchez-Muniz .FJ., Benedi J. (2010). Fasting status and thermally oxidized sunflower oil ingestion affect the intestinal antioxidant enzyme activity and gene expression of male wistar rats. *J Agric Food Chem* 58(4): 2498-2504. Doi: 10.1021/jf903622q

Davis H.T. (1994). Factors determining emulsion type: hydrophile-lipophile balance and beyond. *Colloids surf. Physicochem Eng Asp.* 91: 9-24. Doi: 10.1016/0927-7757(94)02929-6

Deavall D.G., Martin E.A., Horner J.M., Roberts R. (2012). Drug-induced oxidative stress and toxicity. *J Toxicol.* 2012(3): 645460. Doi: 10.1155/2012/645460

Diniz Y.S., Burneiko R.M., Seiva, F.R.F., Almeida, F.Q.A., Galhardi, C.M., Novelli Filho, J.L.V.B. Mani F., Novelli E.L.B. (2008). Diet compounds, glycemic index and obesity related cardiac effects. *Int J Cardiol.* 124: 92–99. Doi: 10.1016/j.ijcard.2006.12.025

Dorbaganes C., Márquez-Ruiz G. (2015). Possible adverse effects of frying with vegetable oils. *Br J Nutr.* 113(S2): S49-S57. Doi: 10.1017/S0007114514002347

- De Souza R.J., Mente A., Maroleanu A., Cozma A.I., Ha V., Kishibe T., et al. (2015). Intake of saturated and trans unsaturated fatty acids and risk of all-cause mortality, cardiovascular disease, and type 2 diabetes: systematic review and meta-analysis of observational studies. *BMJ*. 351: h3978. Doi: 10.1136/bmj.h3978
- Delattre J., Beaudoux J.L., Bonnefont-Rousselot D. (2005). Radicaux libres et stress oxydant, aspects biologiques et pathologiques. Première édition. Edition Tec et Doc, Lavoisier, Paris.
- DGCERF. (Direction Générale du Contrôle économique et de la répression des Fraudes). (2012). Guide de contrôle des huiles de friture.
- Dhawan V. (2014). Reactive oxygen and nitrogen species: general considerations. *Reactive oxygen and nitrogen species: general considerations*. Springer Science and Business Media, New York. Doi: 10.1007/978-1-4939-0497-6\_2
- Di Meo S., Reed T.T., Venditti P., Victor V.M. (2016). Role of ROS and RNS sources in physiological and pathological conditions. *Oxid Med Cell Longev*. 2016: 1-44. Doi: 10.1155/2016/1245049
- Dias J.S. (2019). Nutritional quality and effect on disease prevention of vegetables. (1-30). In: Mózsik G., Figler M. (Eds), *Nutrition in health and disease*. Intechopen. Doi: 10.5772/intechopen.85038
- Do T.D., Thi M.N., Duy K.T., Abol-Munafi A.B., Liew H.J., Kim C.B., Wong L.L. (2019). Molecular characterization and gene expression of glutathione peroxidase 1 in tor tambroides exposed to temperature stress. *Evol Bioinform*. 15: 1-8. Doi: 10.1177/1176934319853580.
- Dollah M.A., Parhizkar S., Latiff L.A., Hassan M.H.B. (2013). Toxicity effect of *Nigella sativa* on the liver function of rats. *Adv Pharm Bull*. 3(1): 97-102. Doi: 10.5681/apb.2013.016

## **E**

- El-Agbar Z.A., Shakya A.K., Khalaf N.A., Al-Haroon M. (2008). Comparative antioxidant activity of some edible plants. *Turk J Biol*. 32: 193-196.

- El-Demerdash F.M, Attia A.A., Elmazouly R.H. (2012). Biochemical and histopathological changes induced by different time intervals of methomyl treatment in mice liver. *J Environ Sci Health, Part A*. 47(12): 1948-1954. Doi: 10.1080/03601234.2012.676513
- El-Seedi H., Burman R., Mansour A., Turki Z., Boulos L., Gullbo J., Goransson U. (2013). The traditional medical uses and cytotoxic activities of sixty-one Egyptian plants: discovery of an active cardiac glycoside from *Urginea maritima*. *J Ethnopharmacol*. 145(3): 746-757. Doi: 10.1016/j.jep.2012.12.007
- Endo Y. (2018). Analytical methods to evaluate the quality of edible fats and oils: the JOCS standard methods for analysis of fats, oils and related materials (2013) and advanced methods. *J Oleo Sci*. 67(1): 1–10. Doi: 10.5650/jos.ess17130
- Erboga M., Kanter M., Aktas C., Sener U., Fidanol Erboga Z., Bozdemir Donmez Y., Gurel A. (2016). Thymoquinone ameliorates cadmium-induced nephrotoxicity, apoptosis, and oxidative stress in rats is based on its anti-apoptotic and anti-oxidant properties. *Biol Trace Elem Res*. 170(1): 165-172. Doi: 10.1007/s12011-015-0453-x
- Eymard S. (2003). Mise en évidence et suivie de l'oxydation des lipides au cours de la conservation et de la transformation du chinchard (*Trachurus*). Choix des procédés. Thèse de doctorat, Université de Nantes, France. <https://archimer.ifremer.fr/doc/2003/these-2.pdf>. Date de consultation 10/12/2022.

## ***F***

- Fabricant D.S., Farnsworth N.R. (2001). The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. *Environ health Perspect*. 109(1): 69-75. Doi: 10.1289/ehp.01109s169
- Famurewa A., Nwankwo O., Folawiyo A., Igwe E.C., Epete M.A., Ufebe O.G. (2017). Repeatedly heated palm kernel oil induces hyperlipidemia, atherogenic indices and hepatorenal toxicity in rats: beneficial role of virgin coconut oil supplementation. *Acta Sci Pol Technol Aliment*. 16(4): 451-460. Doi: 10.17306/J.AFS.0513

- Farhoosh R., Kenari R.E., Pooazrang R. (2009). Frying stability of canola oil blended with palm olein, olive and corn oils. *J Amer Oil Chem Soc.* 86(1): 71-76. Doi: 10.1007/s11746-008-1315-x
- Favier A. (2003). Le stress oxydant: intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actual Chim.* 108-115.
- Fernandes A.A.H., Novelli E.L.B., Okoshi K., Okoshi M.P., Di Muzio B.P., Guimarães J.F.C., Junior A.F. (2010). Influence of rutin treatment on biochemical alterations in experimental diabetes. *Biomed Pharmacother.* 64 (3): 214–219. Doi: 10.1016/j.biopha.2009.08.007
- Flohé L., Günzler W.A. (1984). Assays of glutathione peroxidase. *Methods enzymol.* 105(1): 114-120. Doi: 10.1016/S0076-6879(84)05015-1
- Franco R., Schoneveld O.J., Pappa A., Panayiotidis M.I. (2007). The central role of glutathione in the pathophysiology of human diseases. *Arch Physiol Biochem.* 113(4-5): 234-258. Doi: 10.1080/13813450701661198
- Fredot E. (2012). *Connaissance des aliments: base alimentaire et nutritionnelle de la diététique.* Edition: Tec & Doc, Lavoisier, Paris.
- G**
- Gali-Muhtasib H.U., Abou Kheir W.G., Kheir L.A., Darwiche N., Crooks P.A. (2004). Molecular pathway for thymoquinone-induced cell-cycle arrest and apoptosis in neoplastic keratinocytes. *Anticancer Drugs.* 15(4): 389-399. Doi: 10.1097/00001813-200404000-00012
- Gertz, C. (2014). Fundamentals of the frying process. *Eur J Lipid Sci Technol.* 116(6): 669–674. Doi: 10.1002/ejlt.201400015
- Ghedira K. (2006). La nigelle cultivée: *Nigella sativa* L (Ranunculaceae). *Phytothérapie.* 4(5): 220-226. Doi: 10.1007/s10298-006-0187-1
- Ghedira K., Le Jeune R. (2010). Huile de nigelle cultivée, *Nigella sativa* L (Ranunculaceae). *Phytothérapie.* 8(2): 124–128. Doi: 10.1007/s10298-010-0536-y

Goswami G., Bora R., Rathore M.S. (2015). Oxidation of cooking oils due to repeated frying and human health. *Int j sci technol manag.* 4(1): 495–501.

Grigoras A.G. (2017). Catalase immobilization - A review. *Biochem. Eng. J.* 117: 1-20. Doi: 10.1016/J.BEJ.2016.10.021

Guyton AC., Hall J.E. (2000). *Textbook of medical physiology.* 10<sup>th</sup> Edition, W.B Saunders, Philadelphia.

## **H**

Habig W.H., Pabst M.J., Jakoby W.B. (1974). Glutathione S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem.* 249(22): 7130-7139.

Haleng J., Pincemail J., Defraigne J.O., Charlier C., Chapelle J.P. (2007). Le stress oxydant. *Rev Med Liege.* 62(10): 628-638.

Halliwell B., Gutteridge J.M.C. (2007). *Free radicals in biology and medicine.* 4<sup>th</sup> Edition, Oxford University Press, New York.

Hanafy M.S., Hatem M.E. (1991). Studies on the antimicrobial activity of *Nigella sativa* seed (black cumin). *J Ethnopharmacol.* 34(2-3): 275-278. Doi: 10.1016/0378-8741(91)90047-h

Hayes J.D., Flanagan J.U., Jowsey I.R. (2005). Glutathione transferases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 45(1): 51–88. Doi: 10.1146/annurev.pharmtox.45.120403.095857

Herrera A.P., Rangel-Zuñiga O.A., Delgado-Lista J., Marin C., Perez-Martinez P., Tasset I., Tunez I., Quintana-Navarro G.M., Lopez-Segura F., Luque de Castro M.D., Lopez-Miranda J., Camargo A., Perez-Jimenez F. (2013). The antioxidants in oils heated at frying temperature, whether natural or added, could protect against postprandial oxidative stress in obese people. *Food Chem.* 138(4): 2250-2259. Doi: 10.1016/j.foodchem.2012.12.023

Herzog K., Ijlst L., van Cruchten A.G., van Roermund C.W., Kulik W., Wanders R.J., Waterham H.R. (2019). An UPLC-MS/MS assay to measure glutathione as marker for oxidative stress in cultured cells. *Metabolites.* 9(3): 45-55. Doi:10.3390/metabo9030045

- Honda Y., Kessoku T., Sumida Y., Kobayashi T., Kato T., Ogawa Y., Tomeno W., Imajo K., Fujita K., Yoneda M., Kataoka K., Taguri M., Yamanaka T., Seko Y., Tanaka S., Saito S., Ono M., Oeda S., Eguchi Y., Aoi W., Sato K., Itoh Y., Nakajima A. (2017). Efficacy of glutathione for the treatment of nonalcoholic fatty liver disease: an open-label, single-arm, multicenter, pilot study. *BMC Gastroenterol.* 17(96): 1-8. Doi: 10.1186/s12876-017-0652-3
- Houcher Z., Boudiaf K., Benboubetra M., Houcher B. (2007). Effects of methanolic extract and commercial oil of *Nigella sativa* L. on blood glucose and antioxidant capacity in alloxan-induced diabetic rats. *Pteridines.* 18: 8-18.
- Houlot R. (1984). *Techniques d'histologie et de cytologie.* Edition Maloine, Paris.
- Hsouna D., Ben A., Hamdi N. (2012). Phytochemical composition and antimicrobial activities of the essential oils and organic extracts from *Pelargonium graveolens* growing in Tunisia. *Lipids Health Disease.* 11: 167. Doi: 10.1186/1476-511X-11-167
- Huang D., Ou B., Prior R.L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J Agric Food Chem.* 53(6): 1841-1856. Doi: 10.1021/jf030723c
- Huseini H.F., Kianbakht S., Mirshamsi M.H., Zarch A.B. (2016). Effectiveness of topical *Nigella sativa* seed oil in the treatment of cyclic mastalgia: a randomized, triple-blind, active, and placebo-controlled clinical trial. *Planta Med.* 82(4): 285-288. Doi: 10.1055/s-0035-1558208
- Hussein S.G. (2015). Effect of reused palm oil on biochemical and hematological parameters of mice. *Egyptian Acad J Biol.* 7(1): 13-21. Doi: 10.21608/EAJBSZ.2015.13474
- Hwang H.S., Doll K. M., Winkler-Moser J.K., Vermillion K., Liu S.X. (2013). No evidence found for diels-alder reaction products in soybean oil oxidized at the frying temperature by NMR study. *J Am Oil Chem Soc.* 90(6): 825-834. Doi: 10.1007/s11746-013-2229-9

## **I**

- IARC (International Agency for Research on Cancer). (1994). *IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans.* WHO, Some industrial chemicals, Lyon. 60: 389-433.

Ighodaro O.M., Akinloye O.A. (2017). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alex J Med.* 54(4): 287-293. Doi: 10.1016/j.ajme.2017.09.001

Islam M.T., Khan M.R., Mishra S.K. (2019). An updated literature-based review: Phytochemistry, pharmacology and therapeutic promises of *Nigella sativa* L. *Orient Pharm Exp Med.* 19(2): 115–129. Doi: 10.1007/s13596-019-00363-3

ISO. Corps gras d'origines animale et végétale. <https://www.iso.org/fr/standard/36178.html>.  
Date de consultation 06/01/2020

Ivankovic S., Stojkovic R., Jukic M., Milos M., Jurin M. (2006). The antitumor activity of thymoquinone and thymohydroquinone in vitro and in vivo. *Exp Oncol.* 28(3): 220–224.

## **J**

Jaarin K., Yeen C.P., Masbah N. (2016). Consumption of heated palm oil and its effect on kidney in rats. *Pak J Nutr.* 15(2): 148-154. Doi: 10.3923/pjn.2016.148.154

Jacques B., André R. (2004). *Biochimie métabolique*. Edition Ellipses, Paris.

Jayanthi R., Subash P. (2010). Antioxidant effect of caffeic acid on oxytetracycline induced lipid peroxidation in albino rats. *Indian J Clin Biochem.* 25(4): 371-375. Doi: 10.1007/s12291-010-0052-8

Jung U.J. (2006). Antihyperglycemic and antioxidant properties of caffeic acid in db/db mice. *J Pharmacol Exp Ther.* 318(2): 476-483. Doi: 10.1124/jpet.106.105163

## **K**

Kaffashi E.R. (2012). Preventive effects of turmeric (*Curcuma longa* Linn.) powder on hepatic steatosis in the rats fed with high fat diet. *Life Sci J.* 9(4): 5462–5468.

- Kamel K.M., Abd El-Raouf O.M., Metwally S.A., Abd El-Latif H.A., El-sayed M.E. (2014). Hesperidin and rutin, antioxidant citrus flavonoids, attenuate cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *J Biochem Mol Toxicol.* 28(7): 312–319. Doi: 10.1002/jbt.21567
- Kamsiah J., Norhayati M., Norzana G., Nor Aini, U., Ima-Nirwan, S. (2006). Effects of boiled vegetable oils on serum lipids and aorta of ovariectomized rats. *Pak J Nutr.* 5(1): 19-29. Doi: 10.3923/pjn.2006.19.29
- Kamsiah J., Mohd R.M., Xin-Fang L. (2011). The effects of heated vegetable oils on blood pressure in rats. *Clinics.* 66(12): 2125-2132. Doi: 10.1590/s1807-59322011001200020
- Kanashiro A., Andrade D.C., Kabeya L.M., Turato W.M., Faccioli L.H., Uyemura S.A., Lucisano-Valim Y.M. (2009). Modulatory effects of rutin on biochemical and hematological parameters in hypercholesterolemic Golden Syrian hamsters. *Anais da Academia Brasileira de Ciências.* 81(1): 67-72. Doi: 10.1590/s0001-37652009000100009
- Kapoor S. (2009). Emerging clinical and therapeutic applications of *Nigella sativa* in gastroenterology. *World J Gastroenterol.* 15(17): 2170–2171. Doi: 10.3748/wjg.15.2170
- Karl H.W., Elisabeth P., Christrana P., Sonja K. (2008). Comprehensive studies on the trans fatty acids of Austrian foods: Convenience products, fast food and Fats. *Food Chem.* 108(3): 1054-1060. Doi: 10.1016/j.foodchem.2007.11.038
- Karthikesan K., Pari L. (2007). Beneficial effect of caffeic acid on alcohol-induced alterations in lipid peroxidation and antioxidant defense in rats. *Toxicol Mech Methods.* 17(9): 527–534. Doi: 10.1080/15376510701410476
- Kazmi A., Khan M.A., Ali H. (2019). Biotechnological approaches for production of bioactive secondary metabolites in *Nigella sativa*: An up-to-date review. *Int J Second Metab.* 6(2): 172-195. Doi: 10.21448/ijsm.575075

- Kehili N., Saka S., Aouacheri O. (2017). L'effet phytoprotecteur de la nigelle (*Nigella sativa*) contre la toxicité induite par le cadmium chez les rats. *Phytothérapie*. 16(4): 194-203. Doi:10.1007/s10298-017- 1099-y
- Khan J., Deb P.K., Priya S., Medina K.D., Devi R., Walode S.G., Rudrapal M. (2021). Dietary flavonoids: cardioprotective potential with antioxidant effects and their pharmacokinetic, toxicological and therapeutic concerns. *Molecules*. 26: 4021. Doi: 10.3390/molecules26134021
- Kim D.J., Noh J.H., Lee B.W., Choi Y.H., Chung J.H., Min Y.K., Kim K.W. (2008). The associations of total and differential white blood cell count with obesity, hypertension, dyslipidemia and glucose intolerance in a Korean population. *J Korean Med Sci*. 23(2):193-198. Doi: 10.3346/jkms.2008.23.2.193
- Kleniewska P., Hoffmann A., Pniewska E., Pawliczak, R. (2016). The Influence of probiotic *Lactobacillus casei* combination with prebiotic inulin on the antioxidant capacity of human plasma. *Oxid Med Cell Longev*. 2016(6):1–10. Doi:10.1155/2016/1340903
- Kobayashi J., Sasaki D., Hara K.Y., Hasunuma T., Kondo A. (2017). Enzymatic improvement of mitochondrial thiol oxidase Erv1 for oxidized glutathione fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*. *Microb Cell Fact*. 16(1): 44. Doi: 10.1186/s12934-017-0658-0
- Kochhar S. (1999). Safety and reliability during frying operations—effects of detrimental components and fryer design features (253–269). In: Boskou D., Elmalfa I. (Eds). *Frying of food*. Lancaster: Technomic Publishing.
- Korim K.M.M., Abdelhamid, A.Z., Younes, H.F. (2012). Caffeic acid protects tissue antioxidants and DNA content in methamphetamine induced tissue toxicity in Sprague Dawley rats. *Toxicol Mech Methods*. 23(2): 134-143. Doi: 10.3109/15376516.2012.730561

## **L**

- Leong X.F., Aishah A., Nor Aini U., Das S., Jaarin K. (2008). Heated palm oil causes rise in blood pressure and cardiac changes in heart muscle in experimental rats. *Arch Med Res.* 39(6): 567-572. Doi: 10.1016/j.arcmed.2008.04.009
- Liochev S.I. (1999). The mechanism of 'Fenton-like' reactions and their importance for biological systems. A biologist's view. *Metal Ions Biol Syst.* 36: 1-39.
- Liu W.H., Stephen Inbaraj B., Chen B.H. (2007). Analysis and formation of trans fatty acids in hydrogenated soybean oil during heating. *Food Chem.* 104(4): 1740-1749. Doi: 10.1016/j.foodchem.2006.10.069
- Liu Z., Ren Z., Zhang J., Chuang C.C., Kandaswamy E., Zhou T., Zuo L. (2018). Role of ROS and nutritional antioxidants in human diseases. *Front Physiol.* 9: 477-480. Doi: 10.3389/fphys.2018.00477
- Lou W.P., Assaw S., Lokman M.A., Suhaimin N., Yusof H.M. (2018). Sub-acute toxicity of black seed (*Nigella sativa*) and honey mixture. *Malaysian Appl Biol.* 47(6): 11-18.
- Lu T., Harper A.F., Zhao J., Estienne M.J., Dalloul R.A. (2014). Supplementing antioxidants to pigs fed diets high in oxidants: I. effects on growth performance, liver function, and oxidative status. *J Anim Sci.* 92(12): 5455-5463. Doi: 10.2527/jas.2013-7109
- Luczaj W., Gegotek A., Skrzydlewska E. (2017) Antioxidants and HNE in redox homeostasis. *Free Radic Biol Med.* 111: 87-101. Doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.11.033
- Lund M.N., Heinone, M., Baron C.P., Estévez, M. (2011). Protein oxidation in muscle foods: A review. *Mol Nutr Food Res.* 55(1): 83-95. Doi: 10.1002/mnfr.201000453
- Lycaon B.F. (2012). Activité anti-oxydant, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien *Oenocarpus bataan* (patawa). Thèse de Doctorat, Université des Antilles et de la Guyane, France. <https://docplayer.fr/22227986-Activite-anti-oxydante-et-caracterisation-phenolique-du-fruit-de-palmier-amazonien-oenocarpus-bataua-patawa.html>. Date de consultation 10/12/2022

## M

- Maduelosi N.J., Obediah G.A. Ogbonna O.D. (2019). Effects of vegetable oil reused for frying on the liver of Albino rats. *Sci J Chem.* 7(1): 11-14. Doi: 10.11648/j.sjc.20190701.12
- Malbos D., Buxeraud J., Faure S., Desport J.C. (2021). La vitamine A. *Actual Pharm.* 60(608): 23-26. Doi:10.1016/j.actpha.2021.06.024.
- Mamun M., Absar N. (2018). Major nutritional compositions of black cumin seeds-cultivated in Bangladesh and the physicochemical characteristics of its oil. *Int Food Res J.* 25(6): 2634-2639.
- Marnett L.J. (1999). Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde. *Mutation Res.* 424(1-2): 83-95. Doi: 10.1016/s0027-5107(99)00010-x
- Màrquez-Ruiz G., Dobarganes M.C. (1996). Nutritional and physiological effects of used frying fats. In: Perkins E.G., Erickson M.D. (Eds), *Deep frying: chemistry, nutrition and practical applications.* AOCS Press, Champaign, Illinois.
- Matschke V., Theiss C., Matschke J. (2019). Oxidative stress: the lowest common denominator of multiple diseases. *Neural Regen Res.* 14 (2): 238-241. Doi: 10.4103/1673-5374.244780
- Matthaus B. (2006). Utilization of high-oleic rapeseed oil for deep-fat frying of French fries compared to other commonly used edible oils. *Eur J Lipid Sci Tech.* 108(3): 200-211. Doi: 10.1002/ejlt.200500249
- Mechraoui O., Ladjel S., Nedjimi M.S., Belfar M.L., Moussaoui Y. (2018). Determination of polyphenols content, antioxidant and antibacterial activity of *Nigella sativa* L. seed phenolic extracts. *Sci. Study Res.* 19(4): 411–421.
- Meziti A., Meziti H., Boudiaf K., Benboubetra M., Bouriche H. (2012). Polyphenolic profile and antioxidant activities of *Nigella sativa* seed extracts in vitro and in vivo. *World Acad Sci Eng Technol.* 6(4): 109-117.

- Miao Y.T., Zhang H.J., Zhang L.L., Wu, A.J., Sun Y.J., Shan Y., Yuan Y. (2013). Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural formation in reconstituted potato chips during frying. *J Food Sci Technol.* 51(12): 4005-4011. Doi: 10.1007/s13197-013-0951-9
- Mohamed A., Azmi A.S., Asa S.L., Tirumani S.H., Mahipal A., Cjakrabarti S., Bajor D., Selfridge J.E., Kaseb A.O. (2022). Thymoquinone plus immunotherapy in extra-pulmonary neuroendocrine carcinoma: case series for a novel combination. *Curr Oncol.* 29: 9018–9030. Doi: 10.3390/curroncol29110707
- Mohamed A.M., Metwally N.M., Mahmoud S.S. (2005). *Nigella sativa* seeds against *Schistosoma mansoni* different stages. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 100(2): 205–211. Doi: 10.1590/s0074-02762005000200016
- Mohammed K.N., Manap Y.A.M., Tan P.C., Muhialdin J.B., Alheli M.A., Hussain M.S.A. (2016). The effects of different extraction methods on antioxidant properties, chemical composition, and thermal behavior of black seed (*Nigella sativa* L.) oil. *Evid Based Complement Alternat Med.* 1-10. Doi: 10.1155/2016/6273817
- Morin O., Pagès-Xatart-Parès X. (2012). Huiles et corps gras végétaux : ressources fonctionnelles et intérêt nutritionnel. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides.* 19(2): 63–75. Doi: 10.1051/ocl.2012.0446
- Morsi N. (2000). Antimicrobial effect of crude extracts of *Nigella sativa* on multiple antibiotics-resistant bacteria. *Acta Microbiol Pol.* 49(1): 63-74.
- Moussaoui M. (2014). La nigelle - Ses variétés et ses graines. Edition Sabil, Sevrans.
- Müller L., Gnoyke S., Popken A.M., V. Böhm V. (2010). Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT - Food Sci Technology.* 43(6): 992-999. Doi: 10.1016/j.lwt.2010.02.004
- Murata M. (2020). Browning and pigmentation in food through the Maillard reaction. *Glycoconj J.* 38(3): 283-292. Doi: 10.1007/s10719-020-09943-x

## N

- Narasimhamurthy K., Raina P.L. (1999). Long term feeding effects on heated and fried oils on lipids and lipoproteins in rats. *Mol Cell Biochem.* 195(1-2): 143-153. Doi: 10.1023/a:1006931122583
- Narayanankutty A., Job J.T., Narayanankutty V. (2019). Glutathione, an antioxidant tripeptide: dual roles in carcinogenesis and chemoprevention. *Curr Protein Pept Sci.* 20(9): 907-917. Doi: 10.2174/1389203720666190206130003
- Navas S.J.A. (2005). Optimización y control de la calidad y estabilidad de aceites y productos de fritura. PhD Thesis, Universidate de Barcelona. [https://diposit.ub.edu/dspace/bitstream/2445/42494/1/00.JANS\\_previo.pdf](https://diposit.ub.edu/dspace/bitstream/2445/42494/1/00.JANS_previo.pdf). Date de consultation 20/12/2022
- Neff W.E., Mounts T.L., Rinsch W.M., Konishi H., El-Agaimy M.A (1994). Oxidative stability of purified canola oil triacylglycerols with altered fatty acid compositions as affected by triacylglycerol composition and structure. *J Am Oil Chem Soc.* 71(10): 1101–1109. Doi: 10.1007/BF02675903
- Neff W.E., List G.R. (1999). Oxidative stability of natural and randomized high-palmitic and high-stearic acid oils from genetically modified soybean varieties. *J Am Oil Chem Soc.* 76(7): 825–831. Doi: 10.1007/s11746-999-0072-9
- Nemmar A., Yuvaraju P., Beegam S., Yasin J., Kazzam E.E., Ali B.H. (2016). Oxidative stress, inflammation, and DNA damage in multiple organs of mice acutely exposed to amorphous silica nanoparticles. *Int J Nanomedicine.* 11: 919-928. Doi: 10.2147/IJN.S92278
- Nickavar B., Mojab F., Javidnia K., Amoli M.A. (2003). Chemical composition of the fixed and volatile oils of *Nigella sativa* L from Iran. *Z Naturforsch C J Biosci.* 58(9-10): 629-631. Doi: 10.1515/znc-2003-9-1004

- Nicolussi A., D'inzeo S., Capalbo C., Giannini G., Coppa A. (2017). The role of peroxiredoxins in cancer. *Mol Clin Oncol.* 6(2): 139-153. Doi: 10.3892/mco.2017.1129
- Niki E. (2009). Lipid peroxidation: Physiological levels and dual biological effects. *Free Radic Biol Med.* 47(5): 469–484. Doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.05.032
- Niki E. (2018). Oxidative stress and antioxidants: Distress or eustress? *Free Radic Biol Med.* 124: 564.
- Niture N.T., Ansari A.A., Naik S.R. (2014). Anti-hyperglycemic activity of rutin in streptozotocin-induced diabetic rats: an effect mediated through cytokines, antioxidants and lipid biomarkers. *Ind J Exp Biol.* 52(7): 720–727.
- Novelli E.L.B., Diniz Y.S., Galhardi C.M., Ebaid G.M.X., Rodrigues H.G., Mani F., Fernandes A.A.H., Cicogna A.C., Novelli Filho J.L.V.B. (2007). Anthropometric parameters and markers of obesity in rats. *Lab Anim.* 41(1): 111-119. Doi: 10.1258/00236770779399518

## **O**

- Ohkawa H., Ohishi N., Yagi K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem.* 95(2): 351-358. Doi: 10.1016/0003-2697(79)90738-3
- Oliver S.R., Rosa J.S., Milne G.L., Pontello A M., Borntrager H. L., Heydari S., Galassetti P.R. (2010). Increased oxidative stress and altered substrate metabolism in obese children. *Int J Pediatr Obes.* 5(5): 436–444. Doi: 10.3109/17477160903545163
- Oršolić N., Sirovina D., Odeh D., Gajski G., Balta V., Šver L., Jazvinščak Jembrek M. (2021). Efficacy of caffeic acid on diabetes and its complications in the mouse. *Molecules.* 26(11): 3262. Doi: 10.3390/molecules26113262
- Osim E.E., Owu D.U., Etta K.M. (1996). Arterial pressure and lipid profile in rats following chronic ingestion of palm oil diets. *Afr J Med Med Sci.* 25(4): 335-340.

Oueslati K. (2017). Caractérisation et modélisation de la production des radicaux libres oxygénés par la chimie de Fenton en milieu mimétique de la viande. Thèse de doctorat, Université Clermont Auvergne), France. <https://theses.hal.science/tel-01627022/document>. Date de consultation 15/12/2022

Owen P.L., Johns T. (1999). Xanthine oxidase inhibitory of northeastern north american plant remedies used for gout. *J Ethnopharmacol.* 64(2): 149-160. Doi: 10.1016/s0378-8741(98)00119-6

## **P**

Packer L., Valacchi G. (2002). Antioxidants and the response of skin to oxidative stress: vitamin e as a key indicator. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol.* 15(5): 282–290. Doi: 10.1159/000064531

Pacula A.J., Kaczor K.B., Wojtowicz A., Antosiewicz J., Janecka A., Dlugosz A., Jacek T.J. (2017). New glutathione peroxidase mimetics-Insights into antioxidant and cytotoxic activity. *Bioorg Med Chem.* 25: 126-131. Doi: 10.1016/j.bmc.2016.10.018

Pang C., Zheng Z., Shi L., Sheng Y., Wei H., Wang Z., Ji L. (2016). Caffeic acid prevents acetaminophen-induced liver injury by activating the Keap1-Nrf2 antioxidative defense system. *Free Radic Biol Med.* 91: 236-246. Doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2015.12.024

Patterson J.C., Joughin B.A., van de Kooij B., Lim D.C., Lauffenburger D.A., Yaffe M.B. (2019). ROS and oxidative stress are elevated in mitosis during asynchronous cell cycle progression and are exacerbated by mitotic arrest. *Cell Syst.* 8(2): 163-167. Doi: 10.1016/j.cels.2019.01.005

Peña-Bautista C., Baquero M., Vento M., Chafer-Pericas C. (2019). Free radicals in Alzheimer's disease: Lipid peroxidation biomarkers. *Clin Chim Acta.* 491: 85-90. Doi: 10.1016/j.cca.2019.01.021

Perkins E.G. (2006). Volatile odor and flavor components formed in deep frying (51-56). In: Erickson M.D. (Ed.). *Deep Frying; Chemistry, Nutrition and Practical Applications*. AOCS Press, Urbana, Illinois, USA. Doi: 10.1016/B978-1-893997-92-9.50010-4

- Perron, N.R., Brumaghim J.L. (2009). A review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding. *Cell Biochem. Biophys.* 53(2): 75-100. Doi: 10.1007/s12013-009-9043-x
- Picariello G., Paduano A., Sacchi R., Addeo F. (2009). Maldi-tof mass spectrometry profiling of polar and nonpolar fractions in heated vegetable oils. *J Agric Food Chem.* 57(12): 5391-5400.
- Pisoschi A.M., Pop A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *Eur J Med Chem.* 97: 55-74. Doi: 10.1016/j.ejmech.2015.04.040
- Pizzino G., Irrer N., Cucinotta M., Pallio G., Mannino F., Arcoraci V., Squadrito F., Altavilla D., Bitto A. (2017). Oxidative stress: harms and benefits for human health. *Oxid Med Cell Longevity.* 2017(3): 1–13. Doi: 10.1155/2017/8416763
- Poirier B., Lannaud-Bournoville M., Conti M., Bazin R., Michel O., Bariety J., Chevalier J., Myara I. (2000). Oxidative stress occurs in absence of hyperglycaemia and inflammation in the onset of kidney lesions in normotensive obese rats. *Nephrol Dial Transplant.* 15(4): 467–476. Doi: 10.1093/ndt/15.4.467
- Poprac P., Jomova K., Simunkova M., Kollar V., Rhodes C.J., Valko M. (2017). Targeting free radicals in oxidative stress-related human diseases. *Trends Pharmacol Sci.* 38(7): 592-607. Doi: 10.1016/j.tips.2017.04.005
- Prasad R, Prasad S.B. (2018). Antitumor activity of rutin-cisplatin in combination and its protective effect against hematotoxicity. *Res J Life Sci Bioinform Pharmaceut Chem Sci.* 4(6): Doi: 10.26479/2018.0406.04
- Purushothama S., Ramachandran H.D., Narasimhamurthy K., Raina P.L. (2003). Long-term feeding effects of heated and fried oils on hepatic antioxidant enzymes, absorption and excretion of fat in rats. *Mol Cel Biochem.* 247(1-2): 95-99. Doi: 10.1023/a:1024194417673

## *Q*

Quelhas I., Petisca C., Viegas O., Melo A., Pinho O., Ferreira I.M.P.L.V.O. (2010). Effect of green tea marinades on the formation of heterocyclic aromatic amines and sensory quality of pan fried beef. *Food Chem.* 122(1): 98-104. Doi: 10.1016/j.foodchem.2010.02.022

Quiñones M., Miguel M., Aleixandre A. (2013). Beneficial effects of polyphenols on cardiovascular disease. *Pharmacol Res.* 68(1): 125-131. Doi: 10.1016/j.phrs.2012.10.018

## **R**

Radwan, R.R., Fattah, S.M.A. (2017). Mechanisms involved in the possible nephroprotective effect of rutin and low dose  $\gamma$  irradiation against cisplatin induced nephropathy in rats. *J Photochem Photobiol B.* 169: 56-62. Doi: 10.1016/j.jphotobiol.2017.02.022

Ragheb A., Elbarbry F., Prasad K., Mohamed A., Ahmed M.S., Shoker, A. (2008). Attenuation of the development of hypercholesterolemic atherosclerosis by thymoquinone. *Int J Angiol.* 17(04): 186-192. Doi: 10.1055/s-0031-1278307

Ramadan M.F., Asker M.M.S., Tadros A (2012). Antiradical and antimicrobial properties of coldpressed black cumin and cumin oils. *Eur Food Res Technol.* 234: 833–844. Doi: 10.1007/s00217-012-1696-9

Ramadhass A., Jayaraj S., Muraleedharan C. (2004). Use of vegetable oils as IC engine fuels - a review. *Renew Energy.* 29(5):727-742. Doi: 10.1016/J.RENENE.2003.09.008

Ramhariya R., Ganeshpurkar A., Ayachi C., Kanojia P., Bansal D., Dubey N. (2015). Ameliorative effect of rutin on gentamicin-induced nephrotoxicity in murine model. *Austin J Pharmacol Ther.* 3(1): 1066-1069.

Rasouli-Hiq A.A., Bagherzadeh-Kasmani F., Mehri M., Karimi-Torshizi M.A. (2016). *Nigella sativa* (black cumin seed) as a biological detoxifier in diet contaminated with aflatoxin B1. *J Anim Physiol Anim Nutr.* 101(5): 77–86. Doi: 10.1111/jpn.12562

- Ratnam D.V., Ankola D.D., Bhardwaj V., Sahana D.K., Kumar M.N.V.R. (2006). Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *J Control Release*. 113(3): 189–207. Doi: 10.1016/j.jconrel.2006.04.015
- Ratz-Lyko A., Herman A., Arct J., Pytkowska K. (2014). Effect of enzymatic hydrolysis on the antioxidant properties of alcoholic extracts of oilseed cakes. *Food Technol Biotechnol*. 51(4): 539–546.
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Bio Med*. 26 (9-10): 1231–1237.
- Rhee S.G., Chae H.Z., Kim K. (2005). Peroxiredoxins: a historical overview and speculative preview of novel mechanisms and emerging concepts in cell signaling. *Free Radic Biol Med*. 38(12): 1543-1552. Doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2005.02.026
- Ringseis R., Gutgesell A., Dathe C., Brandsch C., Eder K. (2007). Feeding oxidized fat during pregnancy up-regulates expression of PPAR alpha-responsive genes in the liver of rat fetuses. *Lipids Health Dis*. 6(6): 1-13. Doi: 10.1186/1476-511X-6-6
- Romero-Puertas M.C., Corpas F.J., Sandalio L.M., Leterrier M., Rodriguez-Serrano M., del Rio L.A., Palma J.M. (2006). Glutathione reductase from pea leaves: response to abiotic stress and characterization of the peroxisomal isozyme. *New Phytol*. 170(1): 43–52. Doi: 10.1111/j.1469-8137.2006.01643.x
- Rosenfeld M.A., Vasilyeva A.D., Yurina L.V., Bychkova A.V. (2018). Oxidation of proteins: is it a programmed process? *Free Radic Res*. 52(1): 14–38. Doi: 10.1080/10715762.2017.1402305
- Rouaki F., Mazari A., Kanane A., Errahmani M.B., Ammouche A. (2013). Cardiotoxicity induced by dietary oxidized sunflower oil in rats: pro- and antioxidant effects of alpha- tocopherol. *Int J Vitam Nutr Res*. 83(6): 367-376. Doi: 10.1024/0300-9831/a000178

## S

- Saka S., Aouacheri W., Abdennour C. (2002). The capacity of glutathione reductase in the cell protection from toxic effect of heated oils. *Biochimie*. 84(7): 661-665. Doi: 10.1016/s0300-9084(02)01434-7
- Saleem U., Ahmad B., Rehman K., Mahmood S., Alam M., Erum A. (2012). Nephro-protective effect of vitamin C and *Nigella sativa* oil on gentamicin associated nephrotoxicity in rabbits. *Pak J Pharm Sci*. 25(4):727-730.
- Salisbury D., Bronas U. (2015). Reactive oxygen and nitrogen species: impact on endothelial dysfunction. *Nurs Res*. 64(1): 53-66. Doi: 10.1097/NNR.0000000000000068
- Sanchez-Moreno C. (2002). Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Sci & Technol Int*. 8(3): 121-137. Doi: 10.1177/1082013202008003770
- Sánchez-Muniz F.J., Bastida S., Gonzalez-Muñoz M.J. (1999). Column and high-performance size exclusion chromatography applications to the *in vivo* digestibility study of athermoxidized and polymerized olive oil. *Lipids*. 34(11): 1187-1192. Doi: 10.1007/s11745-999-0470-91434-7
- Scehovic J. (1990). Tanins et autres polymères phénoliques dans les plantes de prairies: détermination de leur teneur et de leur activité biologique. *Revue Suisse Agric*. 22 (3): 179-184.
- Shahidi F., Ambigaipalan P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects - A review. *J Funct Foods*. 18: 820-897. Doi: 10.1016/j.jff.2015.06.018
- Shastri C.S., Ambalal P.N., Himanshu J., Aswathanarayana B.J. (2011). Evaluation of effect of reused edible oils on vital organs of Wistar rats. *NUJHS*. 1(4): 10-15. Doi: 10.1055/s-0040-1703532

- Sikorski Z.E, Kolakowska A. (2002). Chemical and Functional Properties of Food Lipids. CRC Press. Boca Raton London, New York, Washington.
- Simalango D.M., Utami N.V. (2014). In vitro antihelminthic effect of ethanol extract of black seeds (*nigella sativa*) against *ascaris suum*. *Procedia Chemi.* 13: 181-185. Doi: 10.1016/j.proche.2014.12.024
- Singh A., Kukreti R., Saso L., Kukreti S. (2019). Oxidative stress: A key modulator in neurodegenerative diseases. *Molecule.* 24(8): 1583. Doi: 10.3390/molecules24081583
- Sontag T.J., Parker R.S. (2007). Influence of major structural features of tocopherols and tocotrienols on their  $\omega$ -oxidation by tocopherol- $\omega$ -hydroxylase. *J Lipid Res.* 48(5): 1090-1098. Doi: 10.1194/jlr.M600514-JLR200
- Stuehr D.J. (2004). Enzymes of the L-arginine to nitric oxide pathway. *J Nutr.* 134(10): 2748S-2751S. Doi: 10.1093/jn/134.10.2748S
- Suwannasom N., Kao I., Pruã A., Georgieva R., Bäumlér H. (2020). Riboflavin: the health benefits of a forgotten natural vitamin. *Int J Mol Sci.* 21(3): 950-971. Doi: 10.3390/ijms21030950

## **T**

- Tajmiri S., Farhangi M.A., Dehghan P. (2016). *Nigella sativa* treatment and serum concentrations of thyroid hormones, transforming growth factor  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) and interleukin 23 (IL-23) in patients with Hashimoto's thyroiditis. *Eur J Integr Med.* 8(4): 576-580. Doi: 10.1016/j.eujim.2016.03.003
- Tawefik H.M., Ismail M.H.M., Sunar S. (1998). The effect of intermittent boiling on some chemical parameters of refined oils used in Egypt. A public health nutritional concern. *Int J Food Sci Nutr.* 49(5): 339-342. Doi: 10.3109/09637489809089408
- Tembhurne S., Feroz S., More B., Sakarkar D. (2014). A review on therapeutic potential of *Nigella sativa* (kalonji) seeds. *J Med Plant Res.* 8(3): 167-177. Doi: 10.5897/JMPR10.737

- Thevenod F. (2003). Nephrotoxicity and the Proximal Tubule. *Nephron Physiol.* 93(4): 87–93. Doi: 10.1159/000070241
- Toma C.C., Olah N.K., Vlase L., Mogoşan C., Mocan, A. (2015). Comparative studies on polyphenolic composition, antioxidant and diuretic effects of *Nigella sativa* L. (black cumin) and *Nigella damascena* L. (lady-in-a-mist) seeds. *Molecules.* 20(6): 9560–9574. Doi: 10.3390/molecules20069560
- Topçu G., Ay A., Bilici A., Sarikürkcü C., Öztürk M., Ulubelen A. (2007). A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chem.* 103 (3): 816-822. Doi: 10.1016/j.foodchem.2006.09.028
- Traber M.G., Atkinson J. (2007). Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radic Biol Med.* 43(1): 4-15. Doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.03.024
- Tsai Y.C., Wang Y.H., Liu Y.C. (2017). Overexpression of PCNA attenuates oxidative stress-caused delay of gap-filling during repair of UV-induced DNA damage. *J Nucleic Acid.* 2017: 1-12. Doi: 10.1155/2017/8154646
- Tu W., Wang H., Li S., Liu Q., Sha H. (2019). The anti-Inflammatory and anti-oxidant mechanisms of the Keap1/Nrf2/ARE signaling pathway in chronic diseases. *Aging Dis.* 10(3): 637-651. Doi: 10.14336/AD.2018.0513
- Tütem E., Apak R., Baykut F. (1991). Spectrophotometric determination of trace amounts of copper(I) and reducing agents with neocuproine in the presence of copper(II). *Analyst.* 116(1): 89-94. Doi: 10.1039/an9911600089

## U

- Ulasli M., Gurses S.A., Bayraktar R., Yumrutas O., Oztuzcu S., Igci M., Cakmak E.A. (2014). The effects of *Nigella sativa* (Ns), *Anthemis hyalina* (Ah) and *Citrus sinensis* (Cs) extracts on the replication of coronavirus and the expression of TRP genes family. *Mol Biol Rep.* 41(3): 1703–1711. Doi: 10.1007/s11033-014-3019-7

Ulrich K., Jakob U. (2019). The role of thiols in antioxidant systems. *Free Radic Biol Med.* 140: 14-27. Doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2019.05.035

Upreti K.K., Das M., Kuman A., Singh G.B., Khanna S.K. (1989). Biochemical toxicology of argemone oil. IV: Short-term oral feeding response in rats. *Toxicol.* 58(3): 285-298. Doi: 10.1016/0300-483X(89)90142-X

## V

Valko M., Morris H., Cronin M. (2005). Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr Med Chem.* 12(10): 1161–1208. Doi: 10.2174/0929867053764635

Van Houten B., Santa-Gonzalez G.A. Camargo M. (2018). DNA repair after oxidative stress: current challenges. *Curr Opin Toxicol.* 7: 9-16. Doi: 10.1016/j.cotox.2017.10.009

Velho-Pereira R., Kumar A., Pandey B.N., Mishra K.P., Jagtap A.G. (2012). Radioprotection by macerated extract of *Nigella sativa* in normal tissues of fibrosarcoma bearing mice. *Indian J Pharm Sci.* 74(5): 403–414. Doi: 10.4103/0250-474X.108415

Vidwan P., Lee S., Rossi J.S., Stouffer G.A. (2010). Relation of platelet count to bleeding and vascular complications in patients undergoing coronary angiography. *Am J Cardiol.* 105(9): 1219-1222. Doi: 10.1016/j.amjcard.2009.12.035

Viegas O., Novo P., Pinto E., Pinho O., Ferreira I.M.P.L.V.O. (2012). Effect of charcoal types and grilling conditions on formation of heterocyclic aromatic amines (HAs) and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in grilled muscle foods. *Food Chem Toxicol.* 50(6): 2128-2134. Doi: 10.1016/j.fct.2012.03.051

Vijayakumar R.S., Surya D., Nalini, N. (2004). Antioxidant efficacy of black pepper (*Piper nigrum* L.) and piperine in rats with high fat diet induced oxidative stress. *Redox Report.* 9(2):105–110. Doi: 10.1179/135100004225004742

## W

Walker R.B., Everette J.D. (2009). Comparative reaction rates of various antioxidants with ABTS radical cation. *J Agric Food Chem.* 57(4): 1156-1161. Doi: 10.1021/jf8026765

Warner K. (2004). Chemical and Physical Reactions in Oil during Frying,” In: Gupta M.K., Warner K., White P.J. (Eds). *Frying Technology and Practice*, American Oil Chemists’ Society, Champaign.

Weckbecker G., Cory J.G. (1988). Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer letters*. 40(3): 257-264. Doi: 10.1016/0304-3835(88)90084-5

## **X**

Xiong Y., Xiong Y., Zhou, S., Sun Y., Zhao Y., Ren X., Zhao Y., Zhang Y., Zhang N. (2017). Vitamin C and E supplements enhance the antioxidant capacity of erythrocytes obtained from aged Rats. *Rejuvenation Res*. 20(2): 85-92. Doi: 10.1089/rej.2016.1835

Xiu-Qin L., Chao J., Yan-Yan S., Min-Li Y., Xiao-Gang C. (2009). Analysis of synthetic antioxidants and preservatives in edible vegetable oil by HPLC/TOF-MS. *Food Chem*. 113(2): 692–700. Doi: 10.1016/j.foodchem.2008.07.072

## **Y**

Yang Z., Ming X.F. (2013). Arginase: the emerging therapeutic target for vascular oxidative stress and inflammation. *Front. Immunol*. 4: 149. Doi: 10.3389/fimmu.2013.00149

Yildirim A., Mavi A., Oktay M., Kara A.A., Algur, O.F., Bilaloglu V. (2000). Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of tilia (*Tilia Argentea Desf Ex DC*), sage (*Salvia Triloba L.*), and black tea (*Camellia Sinensis*) extracts. *J Agric Food Chem*. 48(10): 5030- 5034. Doi: 10.1021/jf000590k

Yoshida H., Kajimoto G. (1989). Effect of dietary vitamin E on the toxicity of autoxidized oil to rats. *Ann Nutr Metab*. 33(3): 153–161. Doi: 10.1159/000177532

Younus H. (2018). Therapeutic potentials of superoxide dismutase. *Int J Health Sci*. 12(3): 88- 93.

## Z

- Zahoor A., Ghafoor A., Aslam M. (2004). *Nigella sativa* - a potential commodity in crop diversification traditionally used in healthcare. Project on introduction of medicinal herbs and spices as crops. Ministry of Food, Agriculture and Livestock Education, Islamabad.
- Zhang W., Xiao S. Ahn D.U. (2013). Protein oxidation: basic principles and implications for meat quality. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 53(11): 1191-1201. Doi: 10.1080/10408398.2011.577540
- Zhou K., Yu L. (2004). Effects of extraction solvent on wheat bran antioxidant activity estimation. *LWT-Food Sci Technol.* 37(7): 717-721. Doi: 10.1016/j.lwt.2004.02.008
- Zielińska M., Dereń, K., Polak-Szczybyło E., Stępień A.E. (2021). The role of bioactive compounds of *Nigella sativa* in rheumatoid arthritis therapy-current reports. *Nutrients.* 13: 3369. Doi: 10.3390/nu13103369
- Zuluaga M., Gueguen V., Pavon-Djavid G., Letourneur D. (2017). Carotenoids from microalgae to block oxidative stress. *Bioimpacts.* 7(1): 1-3. Doi: 10.15171/bi.2017.01

---

# *Annexes*

---

## Annexes

## Annexe 1: Préparation des solutions

## 1. Solution TBS (pH=7.4) pour le broyage

Solution	Composition	Quantité
TBS (pH = 7,4)	Tris 50 mM	6,057 g
	NaCl 150 mM	8,775 g
	Eau distillée	1000

## 2. Solution pour le dosage des protéines

Solution	Composition	Quantité
Solution de Bradford (Conservée dans un flacon opaque à 4°C/ 1 mois max)	Bleu de Coomassie	100 mg
	Ethanol 95%	50 mL
	Acide phosphorique 85%	100 mL
	Eau distillée	850

## 3. Solutions pour le dosage du GSH

Solution	Composition	Quantité
EDTA 0.02 M	EDTA	7,444 g
	Eau distillée	1000 mL
Tampon Tris EDTA (pH = 9,6)	Tris 0,4 M	48,456 g
	EDTA 0,02	7,444 g
	Eau distillée	1000 mL
SSA 0,25%	SSA	250 mg
	Eau distillée	100 mL
DTNB 0,01 M (Préparée juste avant la manipulation)	DTNB	200 mg
	Méthanol absolu	50 L

## 4. Solutions pour le dosage du MDA

Solution	Composition	Quantité
TCA 20 % (Laisser à température ambiante avant la manipulation)	TCA	20 g
	Eau distillée	100 mL
Tris 25 mM	Tris	0,30 g
	Eau distillée	100 mL
TBA 0,67 % (Bien agiter avant utilisation)	TBA	0,67 g
	Tris 25 mM	100

## 5. Solutions pour le dosage de la GPx

Solution	Composition	Quantité
GSH 0,1 mM (Préparée le jour de la manipulation)	GSH	3,073 mg
	Eau distillée	100 mL
TCA 1 % (Laisser à température ambiante avant l'utilisation)	TCA	1 g
	Eau distillée	100 mL
DTNB 1 mM (Préparée le jour de la manipulation)	DTNB	100 mg
	Méthanol absolu	250 mL
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 1,3 mM (Préparée le jour de la manipulation)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (30V)	13 µL
	Eau distillée	100

## 6. Solutions pour le dosage de la GST

Solution	Composition	Quantité
Tampon Phosphate 0,1 M (pH = 6,5)	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	17,79 g
	Eau distillée	1000 mL
	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	15,60 g
	Eau distillée	1000 mL
CDNB 0,02 M (Préparée juste avant la manipulation)	CDNB	202,55 mg
	Ethanol absolu	50 mL
GSH 1 M (Préparée le jour de la manipulation)	GSH	153,65 g
	Eau distillée	50 L

## 7. Solutions pour le dosage de la CAT

Solution	Composition	Quantité
Tampon Phosphate 0,1 M (pH = 6,5)	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	17,79 g
	Eau distillée	1000 mL
	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	15,60 g
	Eau distillée	1000 mL
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 0,5 M (Préparée le jour de la manipulation)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	10 mL
	Eau distillée	10 mL

## Annexe 2: Les courbes d'étalonnage

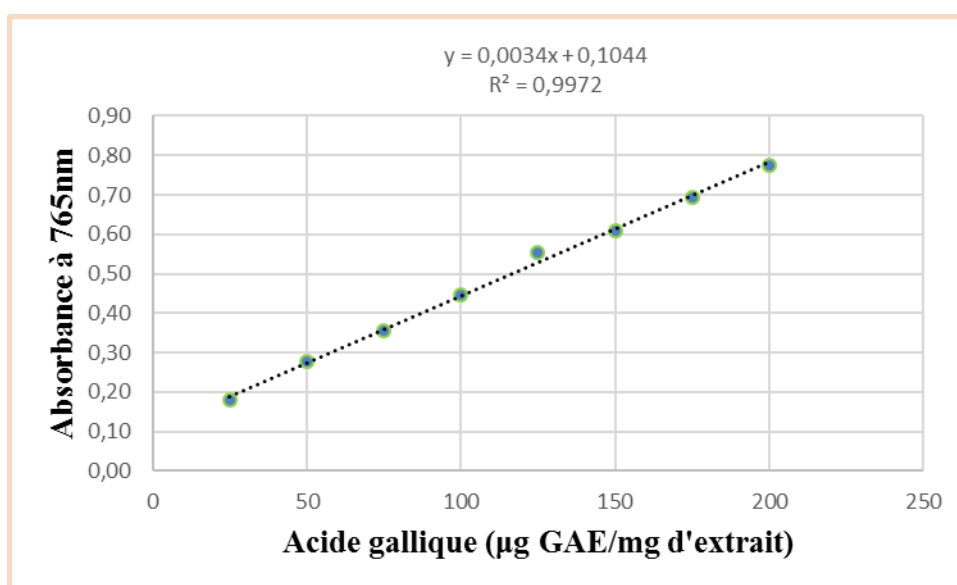
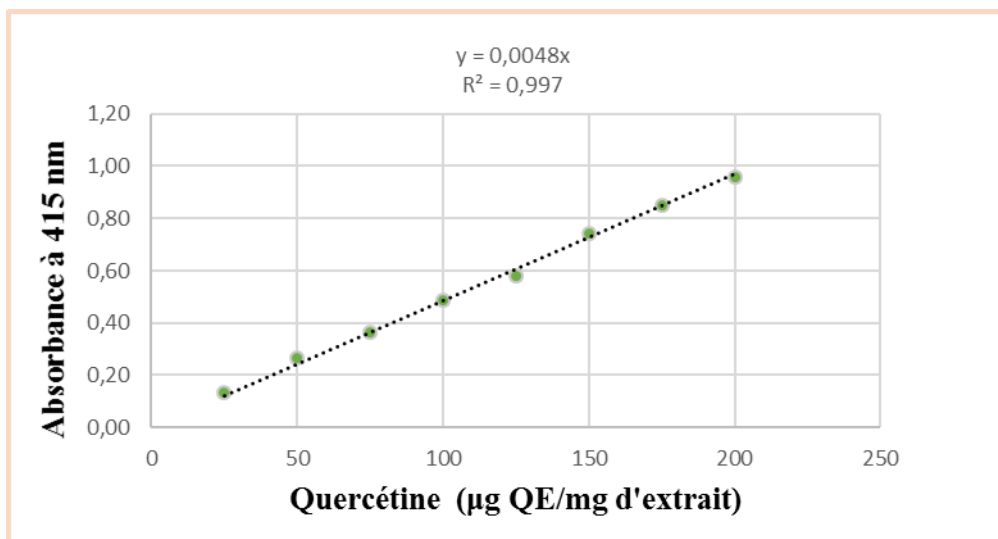
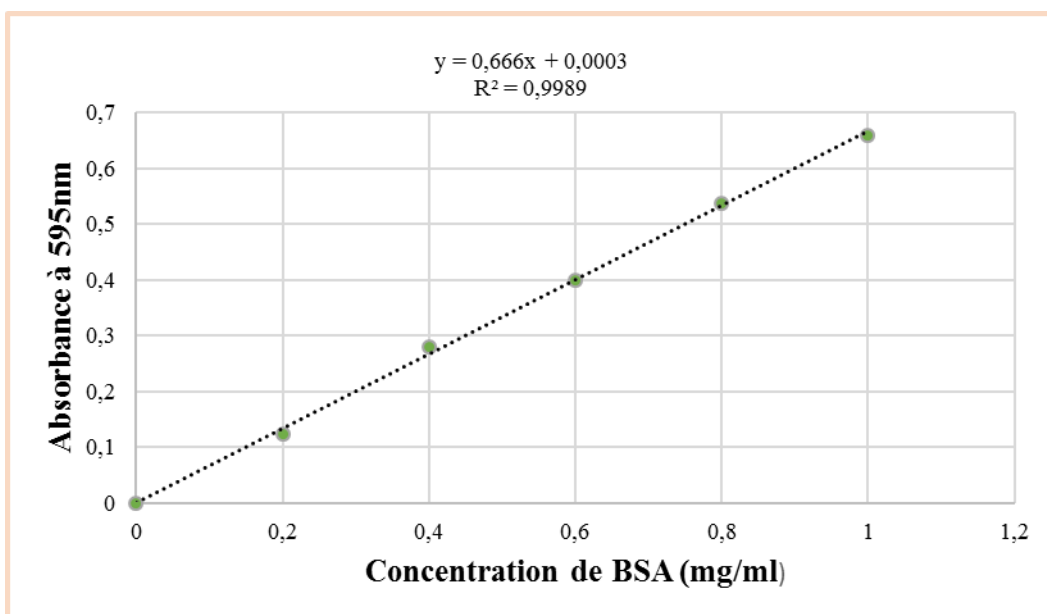


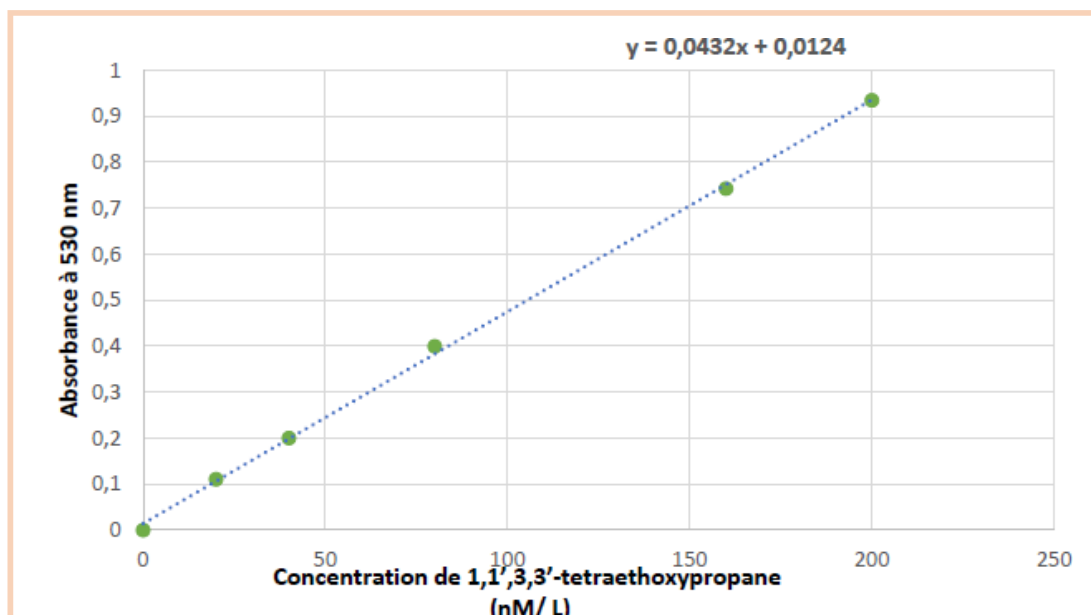
Figure A: Courbe d'étalonnage d'acide gallique (µg GAE/mg d'extrait).



**Figure B:** Courbe d'étalonnage de quercétine (µg QE/mg d'extract)



**Figure C:** Courbe d'étalonnage de BSA (mg/mL)



**Figure D:** Courbe d'étalonnage de 1, 1', 3, 3'-tétraéthoxypropane (nM/L)

# Antioxidant Effects of *Nigella sativa* and Its Modulating Role on Hepatotoxicity Induced by Dietary Frying Oil in Rats

Effets antioxydants de *Nigella sativa* et son rôle modulateur sur l'hépatotoxicité induite par l'huile de friture alimentaire chez le rat

R. Laouaichia · O. Aouacheri · A. Doghmane · S. Saka

© Lavoisier SAS 2022

**Abstract** Repeated use of frying oil threatens more than ever human beings and this is due to the increased consumption of fried and fast foods. This study aimed to investigate the antioxidant effects of *Nigella sativa* against frying oil-induced hepatic and oxidative alterations. Forty male rats were divided into four groups and treated for thirty consecutive days with frying oil and/or nigella. EO-0 group: rats were served as controls and received a normal diet. EO-N group: rats were fed with an experimental diet containing 2% nigella. FO-0 group: rats were nourished on a diet containing 7% frying oil. FO-N group: rats were given a combination diet containing 7% frying oil and 2% nigella. The physicochemical analyzes indicate that frying oil contains very high concentrations of toxic substances compared to edible oil. The consumption of frying oil causes a significant increase in hepatic biomarkers and intensifies the oxidative stress status compared to the control group. Moreover, the hepatic histological sections of rats fed with frying oil showed a disrupted architecture. The combination of nigella with frying oils in a rat-diet revealed an intense reduction in oxidative stress and ameliorated the levels of the majority of the previous parameters. Nigella-supplementation confirmed their potential antioxidant activities. Therefore, nigella-administration seems to be the excellent spice recommended in high temperature food frying in order to maintain human health.

**Keywords** Frying oil · Hepatotoxicity · Oxidative stress · *Nigella sativa* · Rats

R. Laouaichia · O. Aouacheri · A. Doghmane · S. Saka (✉)  
Laboratory of Applied Biochemistry and Microbiology,  
Department of Biochemistry, Faculty of Sciences,  
Badji Mokhtar University, Annaba, 23000, Algeriae-mail : sakasadz@yahoo.fr

O. Aouacheri · S. Saka  
Laboratory of Animal Ecophysiology, Department of Biology,  
Faculty of Sciences, Badji Mokhtar University,  
Annaba, 23000, Algeria

**Résumé** L'utilisation répétée d'huile de friture menace plus que jamais les êtres humains, et ce, en raison de la consommation accrue d'aliments frits et rapides. Cette étude visait à étudier les effets antioxydants de *Nigella sativa* contre les altérations hépatiques et oxydatives induites par l'huile de friture. Quarante rats mâles ont été divisés en quatre groupes et ont été traités pendant 30 jours consécutifs avec de l'huile de friture et/ou de la nigelle. Groupe (EO-0) : les rats ont servi de témoin et ont reçu un régime alimentaire normal. Groupe (EO-N) : les rats ont reçu un régime expérimental contenant 2 % de nigelle. Groupe (FO-0) : les rats ont été nourris avec un régime contenant 7 % d'huile de friture. Groupe (FO-N) : les rats ont reçu un régime combiné contenant 7 % d'huile de friture et 2 % de nigelle. Les analyses physicochimiques indiquent que l'huile de friture contient des concentrations très élevées de substances toxiques par rapport aux huiles comestibles. La consommation d'huile de friture provoque une augmentation significative des biomarqueurs hépatiques et une intensification du stress oxydatif par rapport au groupe témoin. De plus, les coupes histologiques hépatiques des rats nourris à l'huile de friture ont montré une architecture perturbée. La combinaison de la nigelle avec les huiles de friture dans l'alimentation des rats a révélé une réduction intense du stress oxydatif et une amélioration des niveaux de la majorité des paramètres précédents. La supplémentation en nigelle a confirmé leurs activités antioxydantes potentielles. Par conséquent, l'administration de nigelle semble être l'excellente épice recommandée dans la friture d'aliments à haute température afin de maintenir la santé humaine.

**Mots clés** Huile de friture · Hépatotoxicité · Stress oxydatif · *Nigella sativa* · Rats

## Introduction

During the latest years, the consumption of fried foods is madly increased and this is due to the preference of

consumers on the one hand, and that the meal resulting from this process tastes delicious on the other hand. Unfortunately, most consumers don't know the risk of consuming fried foods repeatedly. Because during frying, various chemical reactions occur, including thermal oxidation due to oil exposure to high temperatures in the presence of air and moisture. Consequently, cooking oil disintegrates and generates volatile and non-volatile components, different monomers, and polymers [1]. High temperatures associated with the repeated use of the same oil lead to the breakdown of some fatty acids, forming numerous toxic polymer compounds, polar compounds, and peroxides [2]. These toxic compounds eventually degrade the quality of the frying oil. Many studies suggest that the repeated use of frying oil can also change the configuration of fatty acids from the cis-isomer to the trans-isomer, resulting in unnatural and indigestible fatty acids [3].

When people continuously consume fried foods, which contain a considerable amount of oxidized oil containing dangerous reactive oxygen species (ROS) and toxic compounds, their bodies are constantly exposed to a state of harmful oxidative stress. This phenomenon is a resulting from an imbalance between an oxidative defense system and the hyper-formation of oxidizing substances, including free radicals [2]. Oxidative stress is defined as a deep disturbance in the balance between pro-oxidants and antioxidants in favor of the former, which leads to irreversible cell damage. The univalent reduction of molecular oxygen induces the formation of free radicals that are part of ROS such as hydroxyl radicals ( $\bullet\text{OH}$ ), superoxide anion ( $\text{O}_2\bullet$ ), hydrogen peroxide ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), and singlet oxygen ( $^1\text{O}_2$ ) [4].

ROS can destroy the cells by damaging membrane lipids and proteins and allow an irreversible modification of DNA. Furthermore, oxidative damage is aggravated by the decrease in antioxidant enzyme activities such as catalase (CAT), glutathione *S*-transferase (GST), and glutathione peroxidase (GPx). They can even cause the depletion of endogenous antioxidants and stimulate membrane lipid peroxidation [5]. This may eventually cause chronic diseases, including obesity, which is a public health problem and can increase the risk of chronic diseases such as hypertension, diabetes, vascular inflammation, and coronary heart disease [6].

The use of plants for medicine has constituted an important aspect of the primary healthcare delivery system of people throughout the world for many centuries. It has long been used as a remedy for common ailments like digestive problems, cold, fever, and morning sickness. Nevertheless, information on medicinal plants and their conservation is still lacking in some areas. Plant-derived products have been used for medicinal purposes in controlling many diseases for centuries and are being used in our daily food intake. Nowadays, many studies have been conducted on the use of herbal products as natural antioxidants because of their fewer side effects and

their easy and cheap availability [5]. *Nigella* (*Nigella sativa*) is one of the world's most widely used spices due to its rich historical and religious background, and also for its medicinal properties. Evidences suggest that nigella acts as an antioxidant by scavenging ROS [4]. All major active ingredients of nigella, such as thymoquinone (TQ), thymol, carvacrol  $\alpha$ -hederin, *P*-cymene, nigellamine B3 (9), and nigellamine D (10) have shown a therapeutic effect as an antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory, and hepatoprotective properties [7].

Hence, the present study aims to evaluate the protective effect of nigella as a natural antioxidant on the modulation of hepatotoxicity and oxidative stress effects in rats fed on frying oil.

## Materials and methods

### Determination of oil physicochemical parameters

#### *Determination of acidity*

The principle of the method consists in dissolving a test sample in alcohol in the presence of phenolphthalein, then a hot titration of the fatty acids released present in the oil with a solution of NaOH (0.1N) [8]. The acidity was determined by taking 10 g of each sample of two oils (frying and edible) and adding 75 ml of 95° ethanol then neutralize in the presence of a few drops of 1% phenolphthalein. The titration process was stopped when the solution turned into pink color. The acidity was calculated using the equation below:

$$\text{Acid value} = (N \times V \times G_{\text{eq}}) / (W \times 10)$$

N: normality of NaOH (0.1N); V: volume spent on titration (ml);  $G_{\text{eq}}$ : gram equivalent of oleic acid (282 g/mol); W: weight (g) of the analyzed sample.

#### *Determination of peroxide value (PV)*

The peroxide value (PV) is the number of milliequivalents of active oxygen per kilogram of fatty acid oxidizing potassium iodide with the release of iodine [8]. Weighing 10 g of each sample of two oils (frying and edible). 20 ml of the mixture (acetic acid + chloroform) then add 0.5 ml of potassium iodide solutions. Immediately stopper the bottle, shake it for 1 min, and leave it for exactly 5 min, protected from light and at a temperature between 15 and 25 °C. After 5 min, 75 ml of distilled water and a little starch are added. Titrate the released iodine with the thiosulfate solution, shaking vigorously until a white color appears in the presence of a few drops of starch paste. A blank was also set at the same time. The PVs of the oil samples were calculated using the following formula:

$$\text{Peroxide value (PV)} = (V - V_0) \times 10 / p$$

$V$ : volume (ml) of  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  (0.01N) required to titrate the sample;  $V_0$ : volume (ml) of  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  (0.01N) necessary for titrating the blank test;  $P$ : test portion (g) of the sample.

#### Determination of humidity

The method is based on determining the oil weights before and after drying [8]. In this case, the water content of the oil is determined. Weighed about 20 g of two oil types (frying and edible) in two beakers previously dried and weighed, then put the two beakers containing the test portion in the oven for 2 h. After 2 h, allow them to cool in the desiccation for one hour, and at the end, weigh them a second time. The humidity value was calculated as follows:

$$\text{Humidity} = (M_1 - M_2) / (M_1 - M_0)$$

$M_1$ : weight of the beaker and the test sample before heating;  $M_2$ : weight of the beaker and the test sample after heating;  $M_0$ : empty beaker weight.

#### Determination of the color

For this determination, a "Lovibond" electronic colorimeter is used. The oil sample to be analyzed is poured into a five-inch 1/4-sprout glass cell. The color value is read directly from the device. The results are determined in yellow (Y) and red (R) units [8].

#### Animals

Forty male Wistar rats were used in this study ( $200 \pm 10$  g body weight; 10 weeks old), and obtained from the Algiers Pasteur Institute, Algeria. The animals were housed in plastic (polypropylene) cages at room temperature  $21 \pm 2$  °C,  $50 \pm 10\%$  relative humidity, and exposed to a 12 h light/dark cycle. Rats were fed on experimental diet containing 7% edible oil, prepared according to Upreti et al. [9], drinking water is served in bottles *ad libitum* and renewed daily. The animals were acclimatized for one month before the experimental period.

#### Preparation of oil diet

The frying oil is composed of 80% soybean oil and 20% sunflower oil and is obtained from the repeated frying of traditional Algerian confectionery (Zelabia). Usually, Zelabia frying oil is used several times at high temperatures (190–220 °C). The rats' diet is prepared with 7% oil (fresh or fried).

#### *Nigella sativa* seeds

The seeds of *Nigella sativa* were purchased at a local market in Annaba, Algeria. They were cleaned of plant debris and

then ground in a blender to obtain a powder that is then stored until the time of use.

#### Animal treatment

Rats were randomly divided into four groups (10 rats in each group) and treated for 30 consecutive days. The first group (EO-0) served as control and received water with a normal diet containing 7% edible oil. The second group (EO-N) received water and an experimental diet containing 2% nigella powder. The third group (FO-0) received a diet containing 7% frying oil. The fourth group (FO-N) was nursed with an experimental diet containing a combination of 7% frying oil and 2% nigella powder.

#### Experimental methods

At the end of the treatment period, the rats fasted overnight. They are sacrificed in the morning by decapitation. The blood is immediately collected in dry tubes. The blood is centrifuged at 5000 rpm for 15 min to obtain serum, which served for the determination of biochemical parameters. Glucose, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferases (AST), alkaline phosphatase (ALP), total bilirubin (T-BIL), and direct bilirubin (D-BIL) were estimated by the corresponding enzymatic colorimetric methods using commercially available kits from Spinreact (Spain).

The liver was immediately extracted from dissected rats, washed with a phosphate buffer (0.1 M, pH 7.4) to remove the excess blood and adhering tissues, weighed, then divided into two parts. The first part was preserved at  $-20$  °C to stop metabolic activities and was used for the determination of oxidative stress parameters (GSH, MDA, GPx, GST, and CAT). For the second part, the liver was immediately fixed in a 10% formalin solution for a histological study.

#### Tissue preparations

To determine the reduced glutathione (GSH) level, about 100 mg of liver tissue was placed in the presence of 4 ml of a 0.02 M solution of ethylene diamine tetra acetic acid (EDTA), which was then cold ground using an ultrasonic mill (4 °C) to obtain a homogenate. For the assay of GPx and GST activities, approximately 200 mg of the studied organ were homogenized by an ultrasonic mill in 2 ml of a TBS solution (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7.4). For the determination of malondialdehyde (MDA) and the determination of the enzymatic activity of CAT, 200 mg of the liver were homogenized by an ultrasonic mill in 2 ml of a phosphate buffer solution (0.1 M, pH 7.4).

### Determination of GSH level

GSH content in tissue homogenate was estimated using a colorimetric technique, as mentioned by Weckbecker and Cory [10], which is based on the development of a yellow color when 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid (DTNB) was added to the compounds containing sulfhydryl groups. In brief, 0.8 ml of tissues homogenate was added to 0.2 ml of 0.25% sulphosalicylic acid (SSA). After stirring the mixture and allowing it to stand for 15 min in a glace bath, centrifuge it at 1000 rpm for 5 min. 0.5 ml of the resulting supernatant was mixed with 0.025 ml of DTNB (0.01 M) and 1 ml of pH 9.6 buffer containing Tris (0.4 M) and EDTA (0.02 M). In the end, absorbance at 412 nm was recorded. The concentrations of GSH were expressed in nM/mg of proteins.

### Determination of the GPx activity

Glutathione peroxidase (GPx) catalyzes the reduction of hydroperoxides by utilizing GSH as a reductant. The determination of tissue GPx activity was carried out according to the method of Flohé and Günzler [11]. The reaction mixture contained 0.2 ml of TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7.4), 0.4 ml of GSH (0.1 mM), and 0.2 ml of homogenate was added and incubated at 25 °C for 5 min in a water bath. The reaction was initiated by adding 0.2 ml of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1.3 mM); the reaction was terminated by adding 1 ml of 1% trichloroacetic acid (TCA), and then the mixture was put on ice for 30 min. Tubes were centrifuged at 3000 rpm for 10 min, and the supernatant was collected. 0.48 ml of resultant supernatant, 2.2 ml of TBS (pH 7.4), and 0.32 ml of DTNB (1.0 mM) were added. After mixing, absorbance was recorded at 412 nm, and the specific activity of this enzyme is expressed as  $\mu$ M GSH/mg proteins.

### Determination of the GST activity

Glutathione *S*-transferase (GST) activity was measured spectrophotometrically by the method of Habig et al. [12], using 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB) as an electrophilic substrate that binds to GSH under the action of GST and forms a colored CDNB-GSH complex. Then, the reading of the absorption at 340 nm was made after 1 min during 5 min of measurement. The GST activity was expressed in terms of  $\mu$ M CDNB-GSH conjugate formed/min/mg proteins.

### Measurement of MDA level

Lipid peroxidation was assessed by measuring MDA formation, using the method of Ohkawa et al. [13]. MDA, as the final product of lipid peroxidation is a good marker of free radical-mediated damage and oxidative stress. The principle of this method consists of the reaction of MDA with thiobar-

bituric acid (TBA) in acidic conditions and at a higher temperature (90–100 °C) to form a pink MDA-(TBA)<sub>2</sub> complex, which can be quantified spectrophotometrically at 530 nm. In the procedure, 0.5 ml of 20% TCA was added to 0.5 ml of the tissue homogenate, and then there was an addition of 1 ml of 0.67% TBA. The mixture was incubated at 100 °C for 15 min in a water bath, cooled, and then added with 4 ml of *n*-butanol and centrifuged at 3000 rpm for 15 min. The absorbance of the clear pink supernatant was then read against a blank at 532 nm spectrophotometrically. The concentration of MDA is expressed in nmol/g of tissue.

### Determination of the CAT activity

Catalase (CAT) was assayed according to the method of Aebi [14]. The principle is based on the hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) degradation in the presence of the enzyme. The consumption of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> was monitored spectrophotometrically at 240 nm for 15 s during 1 min of measurement. The specific activity of CAT was expressed in terms of unit/mg of protein.

### Determination of protein concentrations

Protein supernatant concentration was measured spectrophotometrically at 595 nm according to the method of Bradford [15], using bovine serum albumin as a standard.

### Histopathology

Formalin-fixed livers were dehydrated in an ascending grade of ethanol series, embedded in a paraffin block, and then manually sectioned with a microtome to obtain paraffin sections of 4–5  $\mu$ m thickness. The dewaxed sections are then stained with hematoxylin and eosin and examined under an optical microscope to assess histological changes [16].

### Statistical Analysis

Data were expressed as mean  $\pm$  SD. All values were analyzed through a one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's methods. GraphPad Prism 5.0 software was used to perform the statistics (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA). *P* values of < 0.05, < 0.01, and < 0.001 were considered statistically significant, highly significant, and very highly significant.

## Results

### Physicochemical analysis of oils

The results obtained from the chemical analysis of the different types of oil are given in table 1. They indicate that

peroxides are found at concentrations of 5.3 and 124.4 (meq O<sub>2</sub>/kg) in edible oil (EO) and frying oil (FO), respectively. In FO, the acidity reached ratios of 0.15%, but in EO, it is only 0.09%. Humidity percentage rise from 0.03% in EO to 0.04% in FO. Color values are achieved at 2.5/0.2 in EO and 10/1 in FO.

### Physiological study

The results of the animal experiment are shown in table 2. Rats fed with frying oils and/or 2% of nigella for 30 days had a normal percentage of weight gain between their initial and final weights in all studied groups. Even so, this diet did not produce any overt sign of toxicity or mortality. However, there was a significant decrease in hepatosomatic index in rats fed with frying oil (FO-0) compared to the control group. Whereas, the addition of nigella in the group nursed

with frying oil (FO-N) was able to improve these parameters, compared to the group (FO-0).

### Biochemical parameters

Results about the determination of biochemical parameters, shown in table 3, affirm the existence of a large disorder in hepatic metabolism. It is confirmed by a significant increase in the blood glucose concentration in FO-0 and FO-N groups compared to control (EO-0) group. On the other hand, a significant elevation in serum enzyme activities (AST, ALT, and ALP) and bilirubin indicators (T-BIL, D-BIL) appeared. In contrast, nigella supplementation in the rat-diet feed on frying oil (FO-N) resulted in a significant differentiation of these parameters, while total and direct bilirubin values were restored to near normal (Table 3).

### Oxidative Stress Parameters

Frying oil intake was found to cause impressive oxidative stress, which occurs mainly through a significant reduction in all biomarkers of antioxidant defense systems in the liver. It appeared by the reduction in GSH amount (Fig. 1), activities of GPx, GST, and CAT (Fig. 2) accompanied by a significant increase in MDA (Fig. 1) in the liver of rats fed with frying oil (FO-0) compared to the control group. After the addition of nigella to the diet of the fried

Table 1 Physicochemical analyses of edible oil (EO) and frying oil (FO)

Parameters	Edible oil	Frying oil
Peroxide index (meq O <sub>2</sub> /kg)	5.3	124.4
Acidity (%)	0.09	0.15
Humidity (%)	0.03	0.04
Color Y/R	2.5/0.2	10/1

Table 2 Physiological parameters in control (EO-0) and treated rats (EO-N, FO-0, and FO-N) after 30 days of treatment

Parameters	EO-0	EO-N	FO-0	FO-N
Initial body weight (g)	192.3 ± 13.4	205.4 ± 12.3	235.9 ± 16.7	217.3 ± 20.1
Final body weight (g)	279.5 ± 33.3	290.1 ± 21.3	328.9 ± 26.8	300.8 ± 34.1
Gain in body weight (%)	87.12	84.7	92.9	86.8
Liver wet weight (g)	8.34 ± 1.18	9.11 ± 0.86	9.70 ± 1.33	9.18 ± 0.51
Hepatosomatic index (%)	2.97 ± 0.15	3.13 ± 0.20	2.53 ± 0.33**	3.05 ± 0.35##

Values represent the mean ± SD of 10 animals. Edible oil (EO); *Nigella sativa* (N); Frying oil (FO). \*\* $P \leq 0.01$ : Significantly difference from control (EO-0) group. ## $P \leq 0.01$ : Significantly difference from FO-0 group

Table 3 Serum hepatic profile in control (EO-0) and treated groups (EO-N, FO-0, and FO-N) after 30 days of treatment

Parameters	EO-0	EO-N	FO-0	FO-N
Glucose (g/l)	1.05 ± 0.03	1.06 ± 0.04	1.16 ± 0.03***	1.11 ± 0.05***#
ALT (UI/l)	93.1 ± 4.68	92.2 ± 6.09	116.4 ± 3.20***	110.3 ± 5.56***##
AST (UI/l)	82.1 ± 7.08	79 ± 6.13	125 ± 4.16***	96.5 ± 4.40***###
ALP (UI/l)	87.20 ± 5.09	90.80 ± 7.04	100.80 ± 5.57***	91.80 ± 4.05***##
T-BIL (mg/l)	0.80 ± 0.05	0.76 ± 0.05	1.01 ± 0.06***	0.88 ± 0.05###
D-BIL (mg/l)	0.40 ± 0.06	0.35 ± 0.04	0.48 ± 0.04**	0.40 ± 0.05##

Values represent the mean ± SD of 10 animals. Edible oil (EO); *Nigella sativa* (N); Frying oil (FO). \* $P \leq 0.05$ , \*\* $P \leq 0.01$ , \*\*\* $P \leq 0.001$ : Significantly difference from control (EO-0) group. ## $P \leq 0.01$ , ### $P \leq 0.001$ : Significantly difference from FO-0 group

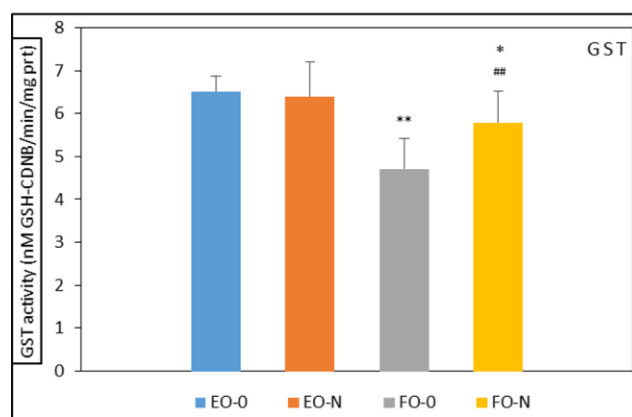
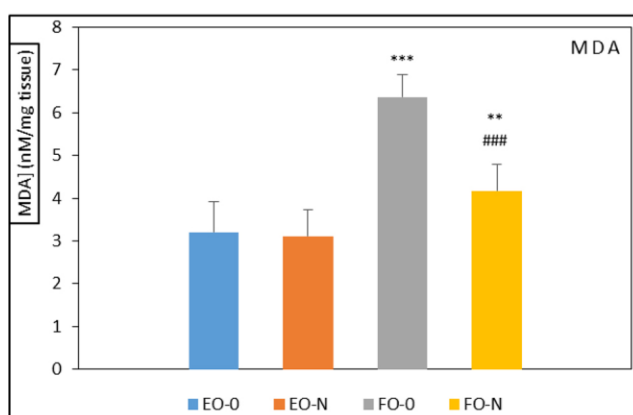
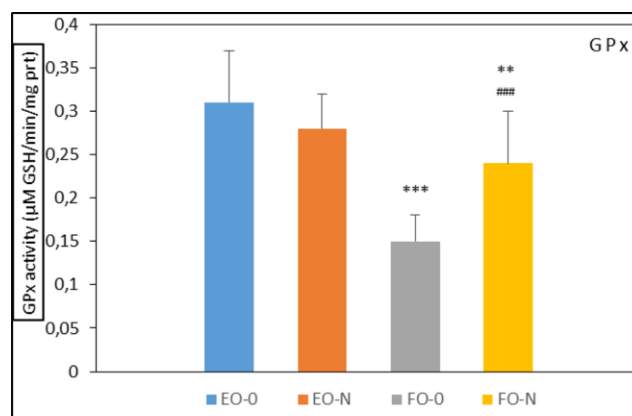
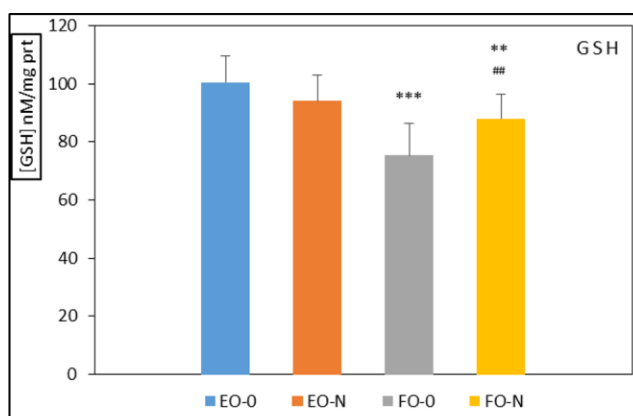


Fig. 1 Hepatic glutathione (nM/mg protein) and malondialdehyde (nM/mg tissue) concentrations in control (EO-0) and treated groups (EO-N, FO-0, and FO-N) after 30 days of treatment. Values represent the mean  $\pm$  SD of 10 animals. Edible oil (EO); *Nigella sativa* (N); Frying oil (FO). \*\* $P \leq 0.01$ , \*\*\* $P \leq 0.001$ : Significantly difference from control (EO-0) group. ## $P \leq 0.01$ , ### $P \leq 0.001$ : Significantly difference from FO-0 group

oil-treated rats (FO-N), the levels of GSH, GPx, GST, and CAT increased significantly, whereas a significant decrease in the concentration of MDA was noted compared to the FO-0 group; we return to figure 2, where we observe that the CAT activity of the FO-N group was restored to the control level.

#### Histopathological study

The representative photomicrographs in figure 3 showing transverse sections of hepatic tissue from all experimental groups. Microscopic observation of the histopathological sections of the liver reveals a normal structure of the hepatic tissue in the controls (Fig. 3A). Note also that the histopathological appearance of the liver is normal in rats treated with the nigella alone (Fig. 3B). However, it was observed an inflammatory infiltrate of the lymphoplasmacytic type of

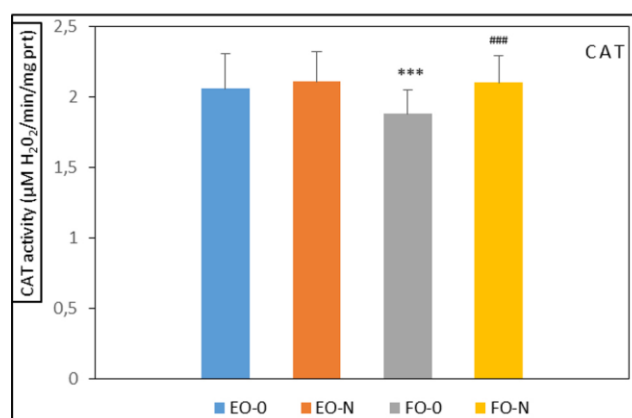


Fig. 2 Hepatic GPx ( $\mu\text{M GSH/min/mg protein}$ ), GST ( $\text{nM GSH-CDNB/min/mg protein}$ ), and CAT ( $\mu\text{M H}_2\text{O}_2/\text{min/mg protein}$ ) activities in control (EO-0) and treated groups (EO-N, FO-0, and FO-N) after 30 days of treatment. Values represent the mean  $\pm$  SD of 10 animals. Edible oil (EO); *Nigella sativa* (N); Frying oil (FO). \* $P \leq 0.05$ , \*\* $P \leq 0.01$ , \*\*\* $P \leq 0.001$ : Significantly difference from control (EO-0) group. ## $P \leq 0.01$ , ### $P \leq 0.001$ : Significantly difference from FO-0 group

the portal space as well as a dilation of the parenchyma in FO-0 rats (Fig. 3C). Severe liver damage reduced dramatically when nigella was added to the diet of the FO-N group (Fig. 3D).

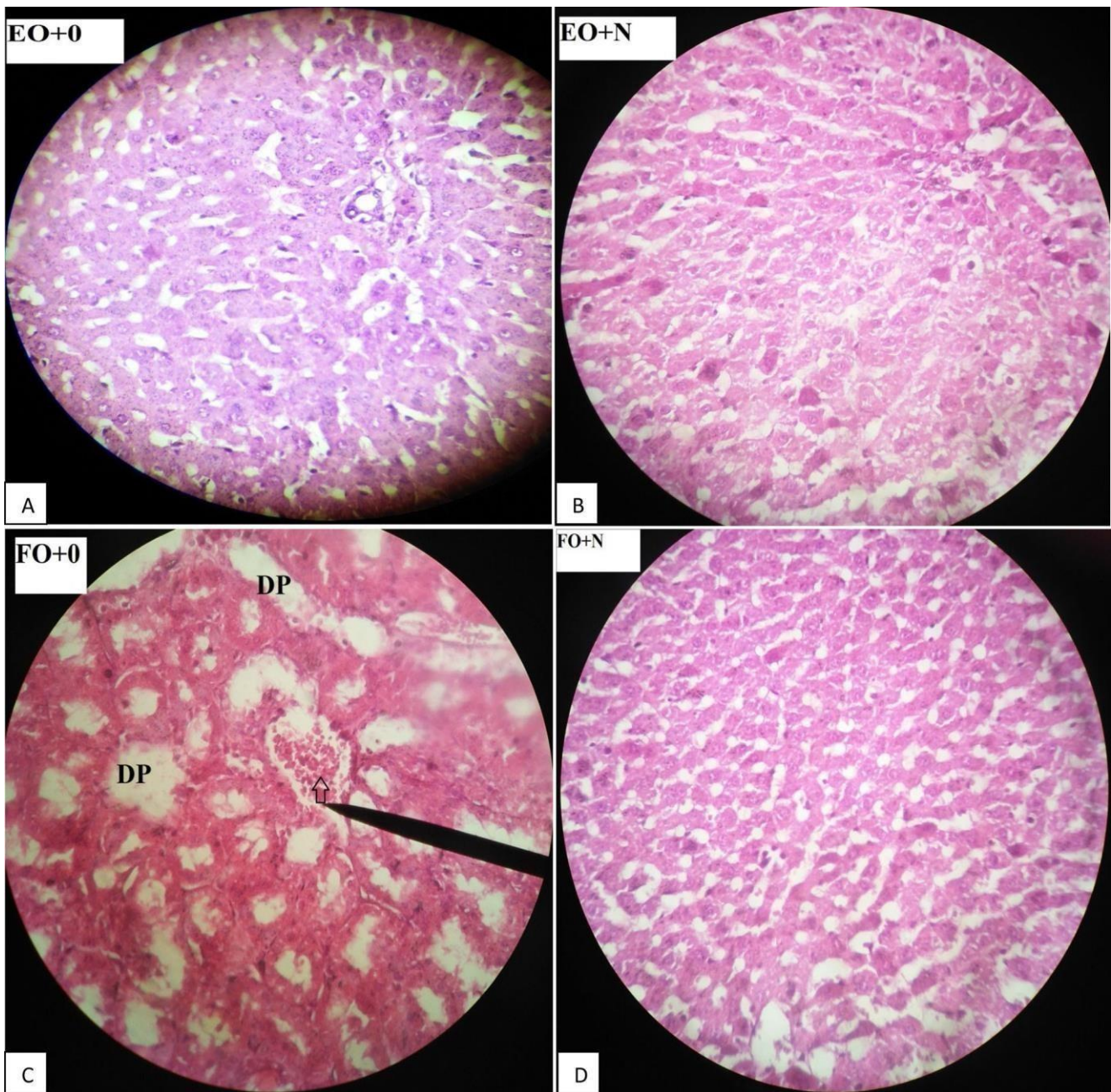


Fig. 3 Histological section of the liver. A: control rats (EO-0); B, C, D: treated rats after 30 days of treatment (EO-N, FO-0, and FO-N). Optic microscopy ( $\times 100$ , H&E):  $\bar{n}$  (inflammatory infiltrate of the portal space lymphoplasmacytic type), DP (dilation of the parenchyma)

## Discussion

Repeated use of frying oil has become a common practice due to a low level of awareness among the public about the bad effect of this practice. Furthermore, since the majority of cooking oils are rich in polyunsaturated fatty acids, they are more prone to oxidation compared to oils, which are rich in monounsaturated fatty acids [2]. Fats are usually oxidized by prooxidants or free radicals at the unsaturated bonds of the fatty acids, which are abundantly present in polyunsaturated

fatty acids such as linoleic (C18:2) and linolenic (C18:3) acids. The bigger numbers of unsaturated bonds, the more prone the fatty acids are subject to oxidation. Intense heating of oils decreases the unsaturation of the fatty acids. Linoleyl, peroxy, and alkoxy radicals were reported to be produced in frying oils. These radicals act on the fatty acids of the oil, producing the oxidized products via hemolytic scission [17].

In the present study, the physicochemical analysis of two types of oils affirms that the repeated frying of the same oil causes a catastrophic effect on the structure of some

polyunsaturated fatty acids, leading to the formation of toxic peroxides. We found that the frying oil had a greater PV than edible oil. The high value of peroxide found in frying oil suggests that this oil was more susceptible to oxidative modification. Azmil Haizam et al. [18] mentioned that the PV indicates the formation of hydroperoxides and hypoxperoxides, which are primary products formed from the lipid oxidation process of polyunsaturated fatty acids. The PV is often used to indicate the edibility of oil; the lower the index, the more edible the oil. Also used to assess the extent to which spoilage has taken place in a cooking oil based on the degree of rancidity of the oil caused by auto- and photo-oxidation. The American Oil Chemists' Society (AOCS) has limited the upper limit of PV not to exceed 10 meq/kg of EO [19].

The excess acidity in the frying oil observed in this study can be explained by the course of the hydrolytic process during the respective frying tests. According to our results, it is probably due to the continuous release of free fatty acids owing to the high temperature and water contained in the dough. However, the increased humidity of the frying oil is due to the presence of water in foods such as potatoes, vegetables, and dough (*Zalabia*), which can provoke rapid hydrolysis of the frying oil and make free fatty acids less stable to auto-oxidation, leading to rancid flavors. The alteration of the frying oil results in an intensification of the original color expressed in units of yellow and red. Furthermore, Farhoosh et al. [20] have shown that the darkening of the oil during frying is due to the formation of unsaturated carbonyl compounds (including ketones and conjugated dienoic acids) and degraded oxidation compounds such as hydroxides and hydroperoxides.

The diet of frying oils and/or nigella for 30 days has not affected any significant change either in the body weight gain or in the liver wet weight of rats in all studied groups. However, a significant decrease in the hepatosomatic index in rats fed with frying oil. In addition, Leong et al. [21] investigated that five times heated palm oil-treated rats did not gain body weight. It is suggested that the frying oil does not change the taste of food and that the animals might maintain their weight [2]. On the other hand, other studies have shown that the body weights of rats treated with frying oil have increased remarkably. Hussein [22] showed that the body weight of rats was significantly increased by feeding them thermally oxidized palm oil. This oil generates free radicals, induces steatosis, and strengthens the intensity of oxidative stress.

The prolonged frying oil consumption caused an increase in fasting serum glucose in rats. Similarly, in previous studies, frying oils caused glucose intolerance, pancreatic beta cell destruction, and reduced insulin secretion by increasing the production of ROS [23]. Nigella and its bioactive component, TQ, have been shown to have positive effects in

controlling glucose levels and lipid profiles in diabetics. Although the molecular mechanism of thymoquinone on insulin secretion has not been completely clarified. It is reported that this bioactive substance exerts an increase in glucose cellular use by increasing the serum concentration, decreasing high levels of serum glucose, and decreasing blood glucose by preventing gluconeogenesis [24].

The liver is a delicate organ susceptible to damage by exogenous toxicants, and hepatic enzymes are good indicators for liver status assessment. Hepatic profile disorder in rats fed on frying oil indicates a hepatic injury, which can be explained by the leakage of tissue substances into plasma. This leakage is due to the alteration of membrane permeability, and the increase in serum enzymes can be due to tissue damage in the liver, kidneys, and heart following changes in the permeability of the cell membranes. Frying oil exerts a harmful effect on the hepatocytes through the production of toxic products that cause cellular damage. These effects were reflected in rats fed on frying oil, through a significant intensification in the serum ALT, AST, ALP, T-BIL, and D-BIL levels. The increase in aminotransferases could be due to the unwholesome effect of free radicals on hepatocyte membranes leading to structural and functional changes and thus, leakage of enzymes in plasma. Furthermore, the uplifting level of T-BIL may be due to hepatocellular destruction, while the increase in the D-BIL and ALP levels may be due to cholestasis. The biochemical study showed that the nigella-diet supplementation significantly reduced the biomarker levels of the hepatic profile (ALT, AST, ALP, T-BIL, and D-BIL) showing the protection of hepatocyte damage and hence the reduced leakage of these enzymes into the serum [25].

Secondary oxidation products can be absorbed after the administration of hydroperoxide-enriched lipids, arising during the frying process [2]. They elicit cytotoxic responses that can promote the generation of ROS and cause oxidative stress [26]. Oxidative stress in the cells or tissues refers to enhanced generation of ROS and/or depletion in the antioxidant defense system. ROS generated in the tissues are efficiently scavenged by an enzymatic antioxidant system, such as GPx and glutathione reductase (GR), as well as non-enzymatic antioxidants such as GSH, vitamins A, C, and E [5].

In our experimental study, results show a significant decrease in hepatic GSH content and antioxidative enzyme activities, as well as an increase in MDA level in rats fed on a frying oil diet. GSH is predominantly found in its reduced form, and measuring the GSH/GSSG ratio is a good method to assess oxidative stress in the body. The reduced GSH enters different detoxifying processes within the living cells through one of its quality reactions. Besides, it contributes to the oxidoreduction reactions of toxic hydroperoxides and free radicals (superoxide anion, alkoxyl, and peroxyl radicals) in the presence of GPx. It also contributes to

conjugation reactions with electrolytes, drug metabolites, xenobiotics, and all other exogenous compounds. All this occurs in the presence of the GST enzymes [2]. The decreased GSH status in frying oil-treated rats may be due to its consumption of the scavenging free radicals produced by frying oil. Our results are in agreement with the Saka et al. [2] study, which demonstrated that both heated oil (HO) and frying oil (FO) caused a significant decrease in hepatic GSH levels. A significant decrease in GPx activity also appears after the diet of frying oil. Since the decreased GSH status is under the decreased GPx activity, it is suggested that the hepatocytes in rats fed on frying oil contain a high concentration of lipid hydroperoxides (ROOH) and hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ). Probably, the degree of aerobic oxidation of reduced GSH affects the catabolism of ROOH and  $H_2O_2$  via GPx activity. Owing to the reduction of  $H_2O_2$  through the oxidation of GSH, it is possible that the CAT enzyme also takes part in  $H_2O_2$  elimination. GPx catalyzes reduction reactions of hydrogen peroxide or lipid hydroperoxides using the reduced GSH while playing a role in the detoxification of these molecules by creating an oxidized glutathione (GSSG). Therefore, the decrease in GPx activity indicates a reduced capacity of this enzyme to eliminate free radicals. Besides, the reduction of CAT activity is the result of various deleterious effects due to the accumulation of superoxide and hydroxyl radicals. Our outcomes are in accordance with the study of Rouaki et al. [26], who found a significant decrease in CAT activity following ingestion of a diet containing frying oil. Coordination between GPx and CAT is required for adequate clearing of  $H_2O_2$ . Because hepatic GPx activity was affected by peroxidation status, it makes sense that CAT activity was also affected. CAT is similar to GPx in that it detoxifies  $H_2O_2$  to produce  $H_2O$ ; however, CAT does so at high and GPx at low concentrations of  $H_2O_2$ . A decrease in the activity of these antioxidant enzymes may lead to an excess of superoxide anion ( $O_2^{\bullet-}$ ) and hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ), which generate free radicals, resulting in the initiation and propagation of lipid peroxidation [27]. It is known that GST enzymes protect the organism against foreign chemicals-induced cytotoxicity and provide tolerance by catalyzing S-conjugation between the -SH group of GSH and electrophilic moiety in the hydrophobic substrate with the formation of hydrophilic glutathione-conjugated metabolites [28]. The decreased activity of GST in treated rats explains the participation of this enzyme in the conjugation reactions of toxic electrophilic compounds derived from the metabolism of frying oil with GSH to form non-toxic hydrophilic metabolites extractable in urine. Our results follow the study of Purushothama et al. [29], which indicates that the decreased enzyme activity following the feeding of heated fats has been attributed to secondary degradation products like carbonyl or cyclic fatty acid monomers generated during frying operations. MDA is a

three-carbon cytotoxic molecule produced by the peroxidation of polyunsaturated fatty acids. The concentration of MDA, as a biomarker of lipid peroxidation status, has been shown to increase due to the consumption of peroxidized oil, as reported in previous studies [30]. It can be attributed to the formation of diglycerides, oxidized triglycerides, triglyceride dimers, oxidized fatty acids, and triglyceride polymers during the frying process, which leads to an increase in lipid peroxidation [31]. The MDA is one of the final products of lipid peroxidation that is considered an important index for the evaluation of cellular damage. Our data showed that the dietary inclusion of frying oil increased the hepatic MDA level, indicating lipid peroxidation in the organism. Our results are in agreement with the Ringseis et al. [32] study, which confirmed the damage to the antioxidant defense system in tissues. The nigella supplementation in rat food has reduced the intensity of frying oil toxicity by increasing the status of GSH through its regeneration. As a result, the functioning of the antioxidant enzymes (GPx, GST, and CAT) has become normal, which has probably increased the cell's ability to trap free radicals. The strong binding between ROS and lipid peroxidation was reduced, ultimately decreasing the chain reaction of unsaturated lipid peroxidation. This resulted in a decrease in the serum MDA level, which is a biomarker of lipid peroxidation. Likewise, several authors have shown that nigella is endowed with strong *in vivo* and *in vitro* antioxidant properties. Kehili et al. [4] showed that *Nigella sativa* dietary supplementation significantly improved the GSH content and antioxidant enzyme activities (GPx, CAT, and GST) in cadmium-treated rats. The researcher groups Zafeer et al. [33] confirmed the role of nigella in stopping the GSH depletion and thus ameliorated the antioxidant enzyme activities (CAT, GPx, and GST) in liver homogenate studied *in vitro*. Another study reported that nigella decreased the elevated ALT, AST, and MDA concentrations, increased the lowered GPx activity and prevented lipid-peroxidation-induced liver damage in hepatotoxic [34]. TQ was found to scavenge the reactive oxygen species (ROS), which includes free radicals such as hydroxyl radical ( $\bullet OH$ ), superoxide ion radical ( $O_2^{\bullet-}$ ), and non-free radical species such as hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) and nitric oxide (NO) [35].

Histopathological observations provided evidence for the biochemical analysis. The present study has also revealed histological changes. Whereas, a diet containing frying oil causes oxidative damage accompanied by histopathological changes expressed essentially by an inflammatory infiltrate of the lymphoplasmacytic type of the portal space as well as a dilation of the parenchyma, which could be due to the production of excessive free radicals. Jaarin et al. [36] indicated that the reuse of sunflower oil causes chronic inflammatory cell infiltration and swollen liver cells in rats. In addition, the results of the histological study confirm the biochemical

observations observed in the liver. These alterations are induced during oxidative stress by the increase in lipid peroxidation. The antioxidant action of *Nigella sativa* has been proposed as one of the major possible mechanisms for the protective actions of the spice against the toxicity and lethality of several toxic agents.

## Conclusion

The above studies indicate that strict supervision of the process of frying should be compulsory regarding both the temperature, the duration of heating, and the number of times of frying because for each oil there is a critical temperature above which it should not be heated. Furthermore, exposure to the toxins present in frying oil generates multiple adverse health effects; this disturbs oxidative homeostasis and leads to changes in blood glucose, the hepatic profile, oxidative biomarkers, and histological sections of the liver. Our study shows that the supplementation of *Nigella sativa* has considerably improved disturbed levels of biochemical indicators and modulates antioxidant defense systems; this shows its hepatoprotective effect against frying oil-induced hepatotoxicity. For a better assessment of the toxicity of frying oils, it would be wise to complete this study by measuring the toxic compounds. It is also advisable to supplement our diet with nigella, especially in fried dishes.

**Acknowledgements** We would like to thank the members of the Algiers Pasteur Institute for providing rats

## Funding

This work was supported by a research project (grant number D01N01UN230120190004) under the leadership of Professor S. Saka, and funded by the Ministry of Higher Education, Algeria.

**Ethics approval and consent to participate**

The Ethical Committee of Annaba University, Algeria, approved the study protocol. The animals were maintained and used in accordance with the Animal Welfare Act, and the guide for the care and use of laboratory animals was prepared by Annaba University, Algeria.

**Links of interests:** the authors have no conflicts of interest to declare.

## References

- Andrikopoulos NK, Kalogeropoulos N, Falirea A, et al (2002) Performance of virgin olive oil and vegetable shortening during domestic deep-frying and pan-frying of potatoes. *Int J Food Sci Technol* 37:177–90
- Saka S, Aouacheri W, Abdennour C (2002) The capacity of glutathione reductase in the cell protection from toxic effect of heated oils. *Biochimie* 84:661–65
- Ben Hammouda I, Márquez Ruiz G, Holgado F, et al (2018) Comparative study of polymers and total polar compounds as indicators of refined oil degradation during frying. *Eur Food Res Technol* 245:967–76
- Kehili N, Saka S, Aouacheri O (2017) L'effet phytoprotecteur de la nigelle (*Nigella sativa*) contre la toxicité induite par le cadmium chez les rats. *Phytothérapie* 16:194–203
- Aouacheri O, Saka S (2020) Cytoprotective effects of zingiber officinale against the oxidative stress induced by lead acetate toxicity in rats. *Phytothérapie* 1:1–9
- Gargiulo S, Testa G, Gamba P, et al (2017) Oxysterols and 4-hydroxy-2-nonenal contribute to atherosclerotic plaque destabilization. *Free Radic Biol Med* 111:140–50
- Yimer EM, Tuem KB, Karim A, et al (2019) *Nigella sativa* L. (Black Cumin): A promising natural remedy for wide range of illnesses. *Evid Based Complement Altern Med* 2019:1–16
- ISO. Corps gras d'origines animale et végétale. Available at 06/01/2020. <https://www.iso.org/fr/standard/36178.html>
- Upreti KK, Das M, Kuman A, et al (1989) Biochemical toxicology of agremoue oil IV short term oral feeding response in rats. *Toxicology* 58:285–89
- Weckbecker G, Cory JG (1988) Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione dependent mouse leukaemia L 1210 cells in vitro. *Cancer Lett* 40:257–64
- Flohé L, Günzler WA (1984) Assays of glutathione-peroxidase. *Methods Enzymol* 105:114–21
- Habig WH, Pabst M, Jacobi WB (1974) The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem* 249:7130–39
- Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K (1979) Assay for lipid peroxidation in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 95:351–58
- Aebi H (1984) Catalase in vitro. *Methods Enzymol* 105:121–26
- Bradford MM (1976) A rapid and sensitive method for the quantities of microgram quantities of protein utilising the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72:248–54
- Taltavull N, Munoz Cortes M, Lluís L, et al (2014) Eicosapentaenoic acid, docosahexaenoic acid 1,1 ratio improves histological alterations in obese rats with metabolic syndrome. *Lipids Health Dis* 13:31
- Picariello G, Paduano A, Sacchi R, et al (2009) Maldi-tof mass spectrometry profiling of polar and nonpolar fractions in heated vegetable oils. *J Agric Food Chem* 57:5391–400
- Azmil Haizam AT, Raza I, Ainie K (2016) Effect of frying on the palm oil quality attributes: a review. *J Oil Palm Res* 28:143–53
- Matthaus B (2006) Utilization of high-oleic rapeseed oil for deep-fat frying of French fries compared to other commonly used edible oils. *Eur J Lipid Sci Technol* 108:200–11
- Farhoosh R, Kenari RE, Pooazrang R (2009) Frying stability of canola oil blended with palm olein, olive and corn oils. *J Am Oil Chem Soc* 86:71–6
- Leong XF, Aishah A, Nor Aini U, et al (2008) Heated palm oil causes rise in blood pressure and cardiac changes in heart muscle in experimental rats. *Arch Med Res* 39:567–72
- Hussein SG (2015) Effect of reused palm oil on biochemical and hematological parameters of mice. *Egypt Acad J Biol Sci* 7:13–21
- Chiang YF, Shaw HM, Yang MF, et al (2011) Dietary oxidised frying oil causes oxidative damage of pancreatic islets and impairment of insulin secretion, effects associated with vitamin E deficiency. *Br J Nutr* 105:1311–19
- Heshmati J, Namazi N (2015) Effects of black seed (*Nigella sativa*) on metabolic parameters in diabetes mellitus: A systematic review. *Complement Ther Med* 23:275–82

25. Ayçan IO, Tufek A, Tokgoz O, et al (2014) Thymoquinone treatment against acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. *Int J Surg* 12:213–18
26. Rouaki F, Mazari A, Kanane A, et al (2013) Cardiotoxicity induced by dietary oxidized sunflower oil in rats: pro- and antioxidant effects of alpha-tocopherol. *Int J Vitam Nutr Res* 83:367–76
27. Chen C, Zhang B, Huang Q, et al (2017) Microwave-assisted extraction of polysaccharides from *Moringa oleifera* Lam. leaves: Characterization and hypoglycemic activity. *Ind Crops Prod* 100:1–11
28. Deavall DG, Martin EA, Horner JM, et al (2012) Drug-induced oxidative stress and toxicity. *J Toxicol* 2012:645460
29. Purushothama S, Ramachandran HD, Narasimhamurthy K, et al (2003) Long-term feeding effects of heated and fried oils on hepatic antioxidant enzymes, absorption and excretion of fat in rats. *Mol Cell Biochem* 247:95–9
30. Lu T, Harper AF, Zhao J, et al (2014) Supplementing antioxidants to pigs fed diets high in oxidants: I. effects on growth performance, liver function, and oxidative status. *J Anim Sci* 92:5455–63
31. Kaffashi Elahi R (2012) Preventive effects of turmeric (*Curcuma longa* Linn.) powder on hepatic steatosis in the rats fed with high fat diet. *Life Sci J* 9:5462–68
32. Ringseis R, Gutgesell A, Dathe C, et al (2007) Feeding oxidized fat during pregnancy up-regulates expression of PPAR alpha-responsive genes in the liver of rat fetuses. *Lipids Health Dis* 6:6
33. Zafeer MF, Waseem M, Chaudhary S, et al (2012) Cadmium-induced hepatotoxicity and its abrogation by thymoquinone. *J Biochem Mol Toxicol* 26:199–205
34. İlhan N, Seckin D (2005) Protective effect of *Nigella sativa* seeds on CCL4-induced hepatotoxicity. *F Ü Sağlık Bil Dergisi* 19:175–79
35. Srisailam DK, Vijayabhaskar K, Gowrishankar NL (2017) Hepatoprotective and antioxidant activity on n-butanol fraction of plants methanolic extract of *Nigella sativa* and *Eclipta alba* Linn. *World J Pharm Sci* 6:2278–4357
36. Jaarin K, Norhayati M, Norzana G, et al (2006) Effects of heated vegetable oils on serum lipids and aorta of ovariectomized rats. *Pak J Nutr* 5:19–29