

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun –Tiaret-
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine: "Sciences de la Nature et de la Vie"

Filière: "Sciences Biologiques"

Spécialité: "Toxicologie et Sécurité sanitaire des aliments "

Présenté et soutenu publiquement par

- BOUABDELLI Asmaa

- RAIS Hanae

Intitulé du mémoire

Etude des propriétés physicochimiques et antioxydantes d'extraits aqueux des graines du fenugrec (*Trigonella foenum-graecum* L.)

JURY:

-Président: Mr. FETOUHI B

-Promoteur: Mr. ACEM K

-Examineurs: Mr. ABBES MA

Grade

Maître de conférences B.

Maître de conférences A.

Matire de conférences B.

Année universitaire: 2016–2017



Remerciements



Avant tout, nous remercions Dieu tout puissant de nous avoir donné la force, le courage, la persistance et nous a permis d'exploiter les moyens disponibles afin d'accomplir de modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

*Au terme de ce travail, nous adressons nos plus sincères remerciements à notre encadreur **Mr. ACEM K** notre promoteur, pour son encadrement, sa disponibilité, sa grande gentillesse et ses conseils et confiance qu'il nous accordé nos ont permet de réaliser ce travail (que dieu vous garde, vous protégé et vous donne plus)*

*Nous offrons nos plus sincères remerciements aux membres de jury, le président **Mr. FETTOUHI B** et l'examineur **Mr. ABBASMA** pour avoir accepté d'examiner notre travail et d'assister à notre soutenance.*

*Nous tenons spécialement remercier le responsables de la spécialité toxicologie **Mr. BOUBKEUR** pour sa collaboration.*

Nous tenons particulièrement remercier les responsables des laboratoires de biochimie et de technologie alimentaire de la faculté des sciences de la nature et de la vie, laboratoire de recherche d'hygiène et pathologie animale de la faculté des sciences vétérinaires pour ses collaborations enrichissantes pour ses précieux conseils durant la réalisation de ce travail.

Un grand merci à tous les enseignants et les techniciens de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'Université d'Ibn Khaldoun de Tiaret.

Enfin à tous qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce modeste travail.



Dédicaces

A l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, J'ai pu réaliser ce travail que je dédie.

A mon père Abdelkader; Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est fruit de tes sacrifices qui tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

A ma très chère mère Amina ; le bonheur de ma vie, Tu es l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi, pour son sacrifice et soutien. Et Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver t'accorder santé, longue vie et bonheur.

*A mes chers frères : Mohamed, Alaa.
A mes chères sœurs : Sabrina, Amel, Ines.*

A mes très chers amis : Hanae R., Kaficha B, Wahiba B, Ahlem T, Amina H.

A toutes les personnes que j'aime et respectés.

Asmaa B



Dédicaces

A l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, J'ai pu réaliser ce travail que je dédie.

A ma chère mère la lumière des mes yeux, pour sa gentillesse, sa tendresse, sa douceur, sa patience et son encouragement durant toute ma vie et qui sans elle rien n'aurait été possible.

*Je dédie spécialement à mon mari **ABDELHALIM** qui n'a jamais cessé de croire source d'amour et de tendresse, sans toi ce mémoire n'aurait jamais vu le jour.....*

*A ma chère fille ; **ANAI***

*A mes chères sœurs : **NADIA, SALHA***

*A ma très chère amie : **ASMAA. B***

A toutes les personnes que j'aime et que je respecte.

Hanae R.

SOMMAIRE

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des annexes

Introduction

Etude expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

| | |
|---|----|
| I.1. Lieu de travail | 02 |
| I.2. Objectifs du travail | 02 |
| I.3. Matériel et produits utilisés..... | 02 |
| I.3.1. Matière végétale | 02 |
| I.3.2. Appareillage, verreries, et produits chimiques utilisés..... | 02 |
| I.3.2.1. Appareillage | 02 |
| I.3.2.2. Verrerie | 02 |
| I.3.2.3. Produits chimiques | 03 |
| I.3.3. Autres..... | 03 |
| I.4. Méthodes d'analyses | 04 |
| I.4.1. Protocole expérimentale | 04 |
| I.4.2. Préparation d'extrait aqueux | 05 |
| I.4.2.1. Extrait aqueux macéré | 05 |
| I.4.2.2. Extrait aqueux décocté..... | 05 |
| I.4.3. Analyses physiques | 06 |
| I.4.3.1. Détermination du pH | 06 |
| I.4.3.2. Détermination de la teneur en eau | 06 |
| I.4.3.3. Détermination du taux de cendres | 07 |
| I.4.3.4. Détermination de la densité..... | 07 |
| I.4.3.5. Détermination de la conductivité électrique | 08 |
| I.4.3.6. Viscosité..... | 08 |
| I.4.3.7. L'indice de réfraction de degré de Brix | 09 |
| I.4.4. Analyses chimiques | 10 |
| I.4.4.1. Flavonoïdes totaux..... | 10 |
| I.4.4.2. Protéines..... | 11 |
| I.4.4.3. Polyphénols totaux | 12 |

| | |
|---|----|
| I.4.4.4. Sucres totaux | 13 |
| I.4.5. Activité antioxydante..... | 15 |
| I.4.5.1. Test de réduction du fer : FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power | 15 |
| Chapitre II : Résultats et discussion | |
| II.1. Propriétés physiques..... | 17 |
| II.1.1. Ph..... | 17 |
| II.1.2. Matière sèche | 17 |
| II.1.3. Taux de cendres | 18 |
| II.1.4. Densité..... | 19 |
| II.1.5. Conductivité électrique..... | 20 |
| II.1.6. Viscosité | 21 |
| II.1.7. Indice de réfraction | 22 |
| II.2. Propriétés chimiques | 23 |
| II.2.1. Flavonoïdes totaux | 23 |
| II.2.2. Protéines | 24 |
| II.2.3. Polyphénols totaux..... | 24 |
| II.2.4. Sucres totaux..... | 25 |
| II.3. Propriétés antioxydantes..... | 26 |
| Conclusion | |
| Références bibliographiques | |
| Annexes | |

Liste Des Abreviations

AFNOR : Association Française de la Normalisation

AOAC : Association officielle des Chimistes analytique

cP : Centipoise

EAM : Extrait Aqueux issu par macération

EAD : Extrait Aqueux issu par décoction

FRAP : Ferric Reducing Antioxydant Power

g : Gramme

mg : Milligramme

min : Minute

ml : Millilitre

nm : Nanomètre

pH : Potentiel d'Hydrogène

R^2 : Indice de corrélation

µg : Microgramme

µl : Microlitre

Liste Des Figures

| | |
|---|----|
| Figure 1 : Protocole expérimental | 04 |
| Figure 2 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe tripyridyltriazine ferrique Fe(III)-TPTZ et un antioxydant (AH) | 15 |
| Figure 3 : Valeurs du pH d'extraits aqueux (EAM et EAD) des graines du fenugrec | 17 |
| Figure 4 : Valeurs du taux de la matière sèche de l'extrait aqueux (EAM et EAD) des graines du fenugrec..... | 18 |
| Figure 5 : Valeurs du taux de cendres des extraits aqueux (EAM et EAD) des graines du fenugrec | 19 |
| Figure 6 : Valeurs de la densité d'extraits aqueux (EAM et EAD) des graines du fenugrec .. | 20 |
| Figure 7 : Valeurs de la conductivité électrique d'extrait aqueux (EAM et EAD) des graines du fenugrec..... | 21 |
| Figure 8 : Valeurs de la viscosité d'extrait aqueux (EAM et EAD) des graines du fenugrec ... | 22 |
| Figure 9 : Valeurs de l'indice de réfraction d'extrait aqueux (EAM et EAD) des graines du fenugrec | 23 |
| Figure 10 : Valeurs des flavonoïdes totaux d'extraits aqueux (EAM et EAD) des graines du fenugrec | 23 |
| Figure 11 : Valeurs des protéines d'extraits aqueux (EAM et EAD) des graines du fenugrec | 24 |
| Figure 12 : valeurs des polyphénols totaux d'extraits aqueux (EAM et EAD) des graines du fenugrec | 25 |
| Figure 13 : Valeurs des sucres totaux d'extraits aqueux (EAM et EAD) des graines du fenugrec | 26 |
| Figure 14 : Pouvoir réducteur des extraits aqueux (EAM et EAD) des graines du fenugrec et l'acide ascorbique..... | 27 |
| Figure 15 : Pouvoir réducteur des deux extraits aqueux (EAM et EAD) des graines du fenugrec | 27 |

Liste Des Tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau 1 : préparation des dilutions de glucose pour la réalisation de la courbe standard des sucres totaux..... | 14 |
|--|----|

Liste Des Annexes

Annexe 1 : Extrait aqueux issu par macération (EAM).

Annexe 2 : Extrait aqueux issu par décoction (EAD).

Annexe 3 : La courbe d'étalonnage pour le dosage des protéines.

Annexe 4 : La courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes

Annexe 5 : La courbe d'étalonnage pour le dosage des sucres totaux.

Annexe 6 : La courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols.

Annexe 7 : Valeurs de l'absorbance des deux extraits aqueux (EAM et EAD) des graines du fenugrec et l'acide ascorbique.

Introduction

Introduction:

Trigonella foenum-graecum L. du nom arabe de l'helba est une herbe annuelle connue sous le nom de fenugrec, il est connu depuis l'antiquité (**Fedelic et al., 2009**).

le fenugrec est une plante légumineuse, sa composition se rapproche de celle des aliments du groupe viande, poisson et œuf en ce qui concerne la richesse en protéines, en éléments minéraux et en vitamines hydrosolubles (**Trimouliers et al., 1980**).

Les graines du trigonelle est riches en mucilage et en protéines qui sont exploitées dans la phytothérapie et l'industrie alimentaire (**Volak et Stodola, 1983**).

La composition des graines du fenugrec est riche en molécules primaires et secondaires telles que les protéines, les sucres totaux et les polyphénols totaux (**Rahmani et al., 2015**).

les polyphénols, les flavonoïdes sont des antioxydants puissants susceptibles d'inhiber la formation des radicaux libres et de s'opposer à l'oxydation des macromolécules (**Van Acker et al., 1995 ; Iserin, 2001**).

Les antioxydants sont des molécules capables d'interagir sans danger avec les radicaux libres et de mettre fin à la réaction en chaîne avant que les molécules vitales ne soient endommagées. Chaque molécule antioxydante ne peut réagir qu'avec un seul radical libre et par conséquent, il faut constamment refaire le plein de ressources antioxydants (**Peli et Lyly, 2003**).

Les antioxydants sont toute substance qui en faible concentration par rapport au substrat susceptible d'être oxydée prévient ou ralentit l'oxydation de ce substrat (**Pastre et Priymenko, 2007**).

Dans ce contexte, notre étude porte sur la mise en évidence des propriétés physicochimiques et antioxydantes d'extraits aqueux des graines du fenugrec (*Trigonella foenum-graecum* L.) issus par macération et décoction.

Etude Expérimentale

Chapitre I

Matériel et Méthodes

I.1. Lieu du travail

L'étude a été réalisée au sein des :

- ❖ Laboratoires (Technologie alimentaire et biochimie) de la faculté des sciences de la nature et de la vie à l'université d'Ibn khaldoun de Tiaret à l'institut des sciences
- ❖ Laboratoire de recherche d'hygiène et pathologie animale de la faculté des sciences vétérinaires à l'université d'Ibn Khaldoun de Tiaret

I.2. Objectifs du travail

Les objectifs de notre étude sont :

- ✓ Caractérisation d'extraits aqueux des graines du fenugrec issus par macération et décoction
- ✓ Caractérisation de la propriété antioxydante d'extraits aqueux des graines du fenugrec issus par macération et décoction

I.3. Matériel et produits utilisés

I.3.1 Matière végétale

Le fenugrec : les graines du fenugrec proviennent du commerce d'origine

I.3.2 Appareillage, verreries et produits chimiques utilisés

III.3.2.1 Appareillage

- Agitateur magnétique chauffant (Fisherbrand)
- Balance de précision (KERN ALS 12C 4N)
- Bain-marie (IKA TS2)
- Conductimètre électrique (HANNA instruments HI 8633)
- Centrifugeuse (Hettich, Universal 2S)
- Etuve (MEMMERT)
- Four à moufle (PYROLABO)
- Passoir en plastique
- pH -mètre (HANNA instruments)
- plaque chauffante (RCT Basic)
- réfractomètre (FSAV)
- spectrophotomètre (UV-1600PC)
- viscosimètre (Thermo-Electron Corporation)

III.3.2.2 Verrerie

- Bêchers
- Burettes
- Creusets
- Capsules

- Dessiccateur
- Eprouvette graduée
- Entonnoir
- Erlen Meyer
- Fioles jaugées
- Micropipette
- Pipette graduée
- Pycnomètre
- Tubes à essai

III.3.2.3 Produits chimiques

- Acétone
- Acide sulfurique (H_2SO_4) concentré
- Acide gallique ($C_7H_6O_5$)
- Acide trichloroacétique
- Carbonate de sodium 20% ($NaCO_3$)
- Chlorure d'aluminium ($AlCl_3, 6H_2O$)
- Catéchine
- Ethanol (C_2H_5OH) 80%
- Ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$
- Glucose ($C_6H_{12}O_6$)
- Hydroxyde de sodium ($NaOH$) 0,3N
- Méthanol (CH_3OH)
- Phénol (C_6H_6O)
- Réactif de Biuret
- Réactif de Folin-Ciocalteu
- Solution tampon : pH=5 et pH=9
- Solution tampon phosphate (0,2M ; pH 7,4)

III.3.3. Autres

- Papier absorbant
- Aluminium

I.4 Méthodes d'analyses

I.4.1. Protocole expérimental

Les différentes étapes du protocole expérimental sont illustrées dans la figure 1

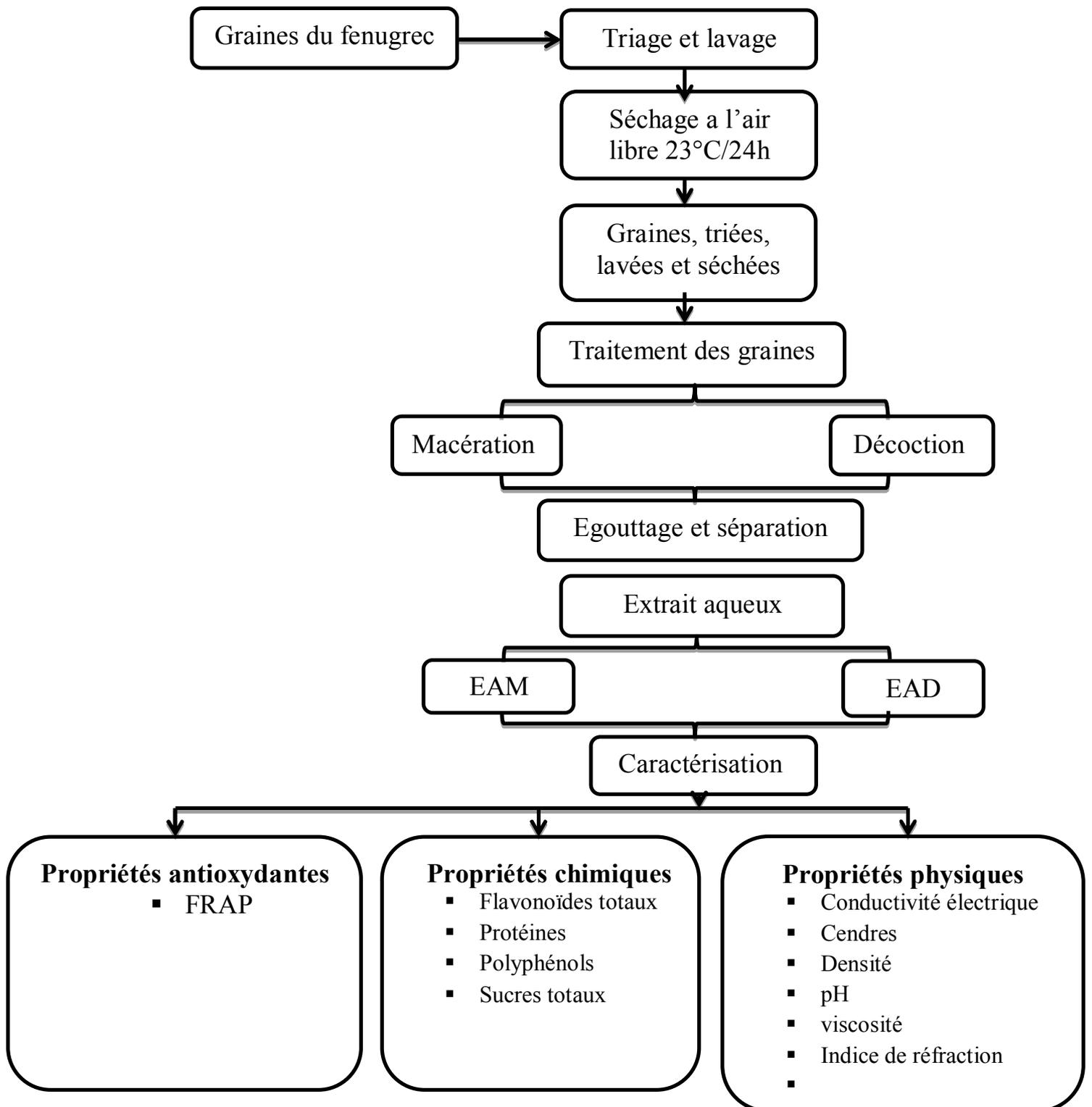


Figure 1 : Protocole expérimental

I.4.2 Préparation d'extraits aqueux

I.4.2.1 Extrait aqueux macéré

La préparation de l'extrait aqueux macéré a été faite selon le mode opératoire suivant :

- 25% des graines du fenugrec ont été mises dans un béccher préparé avec de l'eau potable ;
- Conditionner par aluminium et macéré pendant 24h à température ambiante ;
- Séparer de l'extrait aqueux macéré (EAM) par une passoire plastique dont le diamètre est inférieur de la taille des graines du fenugrec.

I.4.2.2 Extrait aqueux décocté

La préparation de l'extrait aqueux décocté a été faite selon le mode opératoire suivant :

- 25% des graines du fenugrec ont été mises dans un béccher préparé avec de l'eau potable ;
- Les chauffer sur une plaque chauffante dont le temps du chauffage est compté dès l'ébullition jusqu'à 5 minutes ;

Séparer de l'extrait aqueux décocté (EAD) par une passoire plastique dont le diamètre des pores est inférieur de la taille des graines du fenugrec.

I.4.3. Analyses physiques

I.4.3.1. Détermination du pH

a- Principe

Le pH est mesuré par un pH-mètre dont sa valeur est en fonction de la concentration des ions hydroniums présents dans la solution (Geoffrey, 2011).

b- Mode opératoire

La mesure a été réalisée en plongeant l'électrode du pH-mètre dans la solution (AOAC ., 2002)

Le mode opératoire est le suivant :

- Rincer l'électrode par l'acétone et nettoyer avec du papier absorbant ;
- Etalonner le pH-mètre à l'aide des solutions tampons (pH=7 ; pH=5) ;
- Plonger l'électrode du pH-mètre dans un volume suffisant de l'échantillon et lire le pH indiqué sur l'écran de l'affichage du pH-mètre ;
- Attendre la stabilisation puis relever la valeur du pH de la solution à la température désirée à 20°C.

I.4.3.2. Détermination de la teneur en eau

a. Principe

La teneur en eau est mesurée en déterminant la perte de poids de l'échantillon après son séchage dans l'étuve (Wrolstad et al ., 2005).

b. Mode opératoire

15ml d'extrait aqueux du fenugrec a été mis dans des creusets préalablement pesés et tarés puis placés dans l'étuve à 105°C pendant 3 heure, les creusets ont été retirés, mises dans un dessiccateur et pesés après refroidissement.

c. Expression des résultats

La teneur en eau est calculée par la formule donnée par AOAC (2000) :

$$TE = [P_1 - P_2 / P_0] \times 100$$

Dont :

TE : Teneur en eau en % ;

P_0 : Poids de la prise d'essai en g ;

P_1 : Poids du creuset plus échantillon avant étuvage en g ;

P_2 : Poids du creuset plus échantillon après étuvage en g.

$$\text{Matière sèche (\%)} = 100 - TE(\%)$$

I.4.3.3. Détermination du taux de cendres

a. Principe

Selon Nielsen, (2010) l'échantillon est incinéré dans un four a moufle a haute température jusqu'à l'obtention de cendres blanchâtres à poids constant.

b. Mode opératoire

On évapore à sec 25ml de l'extrait aqueux dans des capsules en porcelaine mises dans un bain marie à 100°C, suivi d'une incinération au niveau d'un four a moufle à 550°C pendant 5 heures jusqu'à l'obtention un résidu grisâtre, claire ou blanchâtre, les capsules ont été pesées par la suite (AOAC, 2000).

c. Expression des résultats

Le taux de cendres est calculé par la différence de poids avant et après incinération par la formule suivante (AOAC, 2000) :

$$TC = (P_2 - P_1/P_0) \times 100$$

Dont :

TC : Taux de cendres en % ;

P_0 : Poids de la prise d'essai en g ;

P_1 : Poids des creusets vides en g ;

P_2 : Poids d'échantillon après incinération en g

I.4.3.4. Détermination de la densité

a. Principe

D'après Lydie et Grégory (2013), la densité d'une solution ρ est le rapport de la masse volumique de l'espèce chimique par la masse volumique de l'eau, c'est une grandeur sans unité.

b. Mode opératoire

La densité est calculée à 20°C selon les étapes suivantes :

- Peser le pycnomètre vide et parfaitement sec (P_0) en g ;

- Peser le pycnomètre rempli d'eau distillée (P_1) en g ;
- Vider le pycnomètre, le sécher à l'aide d'une étuve ;
- Peser le pycnomètre rempli de l'échantillon (P_2) en g ;

c.

Expression des résultats

La densité ρ est donnée par la formule suivante :

$$D = \rho = (P_2 - P_0)/(P_1 - P_0)$$

I.4.3.5. Détermination de la conductivité électrique

a. Principe

La conductivité électrique exprime l'aptitude de la solution aqueuse électrique à conduire un courant électrique, elle est en corrélation avec la teneur en sels solubles (**Rodier, 1997**)

b. Expression des résultats

- Rincer la cellule à l'eau distillée ;
- Plonger la cellule conductimétrique dans la solution à analyser qui est laissée au repos sans agitation ;
- Une fois la valeur affichée par le conductimètre est stabilisée, on la note puis enlever la cellule de la solution, la rincer à l'eau distillée ;

c.

Expression des résultats

La lecture de la conductivité a été faite directement sur l'afficheur du conductimètre (**Amellal, 2008**).

I.4.3.6. Viscosité

a. Principe

La viscosité résulte du frottement des molécules, elle se traduit par la résistance plus ou moins grande des liquides à l'écoulement, la viscosité absolue η s'exprime usuellement en centipoise, la viscosité absolue se mesure par le calcul du temps de chute d'une petite boule dans une colonne (viscosimètre d'Hoeppler), fondée sur la loi de poiseuille (**Boubezari, 2010**).

b. Mode opératoire

- Nettoyer le tube de viscosimètre avec l'eau distillée ;
- Remplir le tube avec l'échantillon ;
- Fixer la température à 20°C ;

- Lorsque l'équilibre de la température est atteint, choisir une bille pour laquelle son écoulement à travers l'échantillon dans le tube du viscosimètre, doit être aussi lent que possible
- Laisser ensuite la bille s'écouler librement et lorsqu'elle atteint le repère de la partie supérieur, mettre le chronomètre en marche ;
- Lorsque la bille atteint le repère situé à la partie inférieure du tube viscosimétrique, noter le temps de chute de la bille ;

c. Mode de calcul

Le calcul de la viscosité se fait selon la formule suivante :

$$\eta = t(D_0 - D_1) \cdot k$$

Dont :

η : Viscosité en centipoise (cP) ;

t : Temps de chute de la bille en secondes ;

D_1 : Densité de l'échantillon ;

D_0 : Densité de la bille ;

k : La constante d'étalonnage par gravité du tube égale à 0.10277 ;

I.4.3.7. l'indice de réfraction et degré Brix

a. Principe

L'indice de réfraction c'est la mesure de pouvoir réfringent au moyen d'un réfractomètre par rapport à la raie de sodium, il permet de connaître le degré de la pureté d'un liquide ou de connaître la dose de solide dissout dans une solution, il est mesuré à l'aide d'un réfractomètre (Velsseyre., 1975).

Le degré Brix (%) exprime le pourcentage de la concentration des solides solubles contenus dans un échantillon (l'échelle de Brix sert à mesurer des pourcentages de matières sèches soluble), le contenu des solides solubles représente le total de tous les solides dissous dans l'eau, incluant les sucres, sels, protéines, acides, etc. (Cendres., 2011).

b. Mode opératoire

Selon la méthode d'Afnor«NF-60.22, (1984)», les mesures sont prises comme suit :

- Laver les prismes de réfractomètre par l'acétone et les essuyer avec un papier absorbant ;
- Etalonner l'appareil à l'aide de l'eau distillée ($\eta_D^{20}=1,333$) à 20°C ;
- Verser entre les prismes 2 à 3 goutte de l'échantillon et étaler

- Déplacer alors la lunette de viser pour que la ligne de séparation de la plage claire et la plage sombre se situe a la croisée des fils de réticule ;

c. Expression des résultats

Le degré Brix et l'indice de réfraction ont été notés directement sur les deux échelles a l'intersection de la limite entre la frange claire et la frange foncée (AOAC.,2000).

I.4.4. Analyses chimiques

I.4.4.1. Flavonoïdes totaux

a. Principe

La quantification du taux de flavonoïdes est estimée par la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) et la soude (NaOH). le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes, et la soude forme un complexe de couleur rose qui absorbe dans le visible à 510nm (Vladimir et al., 2011).

b. Mode opératoire

- 250µl de chaque extrait est mélangé avec 1ml d'eau distillée ;
- Addition de 75µl d'une solution de nitrite de sodium ($NaNO_2$) à 15% ;
- Agitation puis incubation pendant 6min à température ambiante ;
- Addition de 75µl de chlorure d'aluminium ($AlCl_3, 6H_2O$) à 10% ;
- Agitation puis incubation pendant 6min ;
- Addition de 1ml d'hydroxyde de sodium(NaOH) à 4% ;
- Le volume total est complété à 100ml d'eau distillée ;
- Agiter et laisser reposer pendant 15 min ;
- La mesure de l'absorbance est faite à 510nm contre le blanc ;
- Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant le catéchine comme contrôle positif

c. Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en µg équivalent de la catéchine /ml d'extrait sont calculés selon la formule suivante :

$$\text{Quantité de flavonoïdes} = a.f/b$$

Dont :

a : Concentration des flavonoïdes en mg/ml déterminée à partir de la courbe d'étalonnage ;

f : Facteur de dilution ;

b : Concentration initiale de l'extrait (1mg/ml) ;

I.4.4.2. Protéines

a. Principe

En milieu alcalin, le biuret ($\text{NH}_2\text{-CO-NH-CO-NH}_2$) se combine avec le cuivre pour donner une coloration violette, cette coloration révèle en effet la présence de deux radicaux CO-NH- ou -CH-NH- séparés par un atome d'azote ou de carbone.

La réaction de biuret est assez peu sensible et s'applique difficilement à des solutions diluées de protéines, toutefois c'est une des méthodes les plus fiables, pratiques et rapides utilisées pour le dosage des protéines totales d'un milieu biologique, l'avantage de la méthode réside dans la non influence de la nature des protéines mais l'inconvénient majeur en est la faible sensibilité (Loncle, 1992).

b. Mode opératoire

- Dans une fiole de 50ml on met 1g d'échantillon et on complète le volume en ajoutant l'eau distillée jusqu'au trait de jauge, ramener à $\text{pH}=8$ avec NaOH (0.3 N)
- Centrifuger pendant 30min à 4000 tours/min ;
- Récupérer le surnageant ;
- Préparer 4 tubes à essais ;
- Mettre successivement dans chaque tube les volumes suivants (0.2.4.6ml) de solution d'échantillon ;
- Diluer chaque tube avec de l'eau distillée en ajoutant respectivement les volumes suivantes (6.4.2.0 ml) ;
- Prendre de chaque tube 2ml, puis ajouter 3ml de réactif de Biuret ;
- Homogénéiser et placer les tubes 30min à l'obscurité pour développer la coloration ;
- Mesurer l'absorbance à 540nm en remplissant la cuve de l'échantillon et la placer dans le spectrophotomètre ;
- Noter les valeurs obtenues pour tracer la courbe ;
- Les résultats sont extrapolés à partir d'une courbe d'étalonnage

c. Expression des résultats

Le calcul de la concentration de protéines est donné par la formule suivante :

$$\text{Protéines g/l} = (A \cdot D) / P$$

Dont :

A : Absorbance d'échantillon ;

D : Facteur de dilution ;

P : Pente de la courbe d'étalonnage ;

I.4.4.3. Polyphénols totaux

a. Principe

Le dosage des polyphénols totaux est réalisé par la méthode décrite par **Singleton et Rossi (1965)** en utilisant le réactif Folin-Ciocalteu, l'acide gallique est utilisé comme standard et les résultats sont exprimés par rapport à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (**Kratchanova, 2010**).

La quantification des polyphénols totaux est réalisée par une méthode à base de Folin-Ciocalteu, ce réactif est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et l'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$), il est réduit lors de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène (**Ardestani et al., 2007**)

b. Mode opératoire

❖ Extraction des polyphénols

Plusieurs solvants organiques peuvent être utilisés pour l'extraction des composés phénolique (**Owen et Jhons, 1999**), le méthanol pur est l'un des solvants qui donne le meilleur rendement d'extraction (**Ribereau-Gayon, 1968**).

L'extraction des polyphénols a été faite à partir de 10g de l'échantillon additionné à 50ml du méthanol, après agitation pendant deux heures à l'obscurité, une filtration a été réalisée et le filtrat a été récupéré.

❖ Dosage

- Dans un tube à essai, 2,5ml de Folin-Ciocalteu (dilué dix fois) a été ajouté à 0,5 ml de l'extrait ;
- Après 3min, 1ml de carbonate de sodium (20%) a été ajouté ;
- Le mélange a été incubé pendant 15min à une température ambiante et a l'obscurité (**Singleton et Rossi, 1965**).

❖ Préparation de la gamme d'étalonnage

La solution mère a été préparée à partir de 0,1g d'acide gallique additionné a 100ml d'eau distillée ; les dilutions ont été réalisées comme suit : 5ml de la solution mère (S) a été ajouté à 5ml d'eau distillée (dilution S/2) par la suite 5ml de la solution S/2 a été ajouté à 5ml d'eau distillée (dilution S/4) et la même procédure a été refaite pour les autres dilutions.

❖ Traçage de la courbe d'étalonnage d'acide gallique

Dans des tubes à essais, 0,5ml de chaque dilution a été prélevé et 2,5ml de réactif Folin-Ciocalteu ont été ajoutés, après 3min, 1ml de carbonate de sodium (20%) a été ajouté par la suite les tubes ont été incubés pendant 15min à température ambiante et à l'obscurité.

La lecture des absorbances a été faite à 760nm, la concentration en composés phénoliques totaux a été déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard d'étalonnage (**Singleton et Rossi, 1965**).

❖ Expression des résultats

La teneur en composés phénoliques a été exprimée en acide gallique équivalent (mg GAE/100 g d'extrait), selon la formule suivante (Gaouar, 2011) :

$$T = [(C.V.D)/P].100$$

Dont :

T : Teneur en polyphénols totaux en mg GAE/100 g d'extrait ;

C : Concentration des polyphénols en équivalent d'acide gallique déduit de la courbe ;

D : Facteur de dilution ;

V : Volume de l'échantillon en ml ;

P : Poids de l'échantillon en g

I.4.4.4. Sucres totaux

a. Principe

La méthode du phénol sulfurique donnée par **Dubois et al., (1956)**, permet de doser les sucres totaux en utilisant le phénol et l'acide sulfurique concentré en présence de ces deux réactifs, les oses donnent une couleur jaune-orange dont l'intensité est proportionnellement à la concentration des glucides, les résultats sont exprimés par rapport à une gamme étalon de glucose préparée à 490nm (**Nielsen, 1997**).

b. Mode opératoire

✓ Préparation de la solution à analyser

L'extraction des sucres a été réalisée à partir de 0,1g de l'échantillon par l'ajout de 30ml d'éthanol (80%), le mélange a été laissé 48heures à température ambiante au moment du dosage, les tubes ont été placés dans l'étuve à 80°C afin d'évaporer l'alcool, par la suite 20ml d'eau distillée a été ajoutée à l'extrait (solution à analyser)

✓ Dosage

Dans un tube à essai, 1ml de phénol (5%) et 5ml d'acide sulfurique concentré (96%) ont été ajoutés à 1ml de la solution à analyser, après 10minutes, le mélange a été placé dans un bain marie pendant 20 minutes à 25-30°C.

La lecture de l'absorbance a été faite à 490nm et la concentration en sucres totaux a été déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant le glucose comme solution standard d'étalonnage (**Dubois et al., 1956**).

✓ Préparation de la gamme d'étalonnage

La solution mère a été préparée à partir de 0.1 g de glucose qui a été dissoute dans 100ml d'eau distillée ; les dilutions ont été réalisées comme suit :

1ml, 2ml, 3ml,...10ml de la solution mère ont été prélevés et le volume a été complété jusqu'à 10ml par l'eau distillée, les concentrations sont représentées dans le tableau, la lecture des absorbances a été faite à 490nm (**Dubois et al ., 1956**).

Tableau 1 : Préparation des dilutions de glucose pour la réalisation de la courbe standard des sucres totaux.

| | | | | | | | | | | | |
|-----------------------|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|
| Tubes | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| Solution mère (ml) | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| Eau distillation | 10 | 9 | 8 | 7 | 6 | 5 | 4 | 3 | 2 | 1 | 0 |
| Concentration (mg/ml) | 0 | 0.1 | 0.2 | 0.3 | 0.4 | 0.5 | 0.6 | 0.7 | 0.8 | 0.9 | 1 |

✓ Traçage de la courbe d'étalonnage de glucose

Dans des tubes à essai, 1ml de chaque dilution a été prélevé puis 1ml de phénol (5%) et 5ml d'acide sulfurique concentré (96%) ont été ajoutés, après 10 minutes de repos, l'incubation a été réalisée dans un bain marie de 25 à 30°C pendant 20 minutes, l'absorbance a été mesurée à 490nm (**Dubois et al ., 1956**).

c. Expression des résultats

La quantité des sucres totaux est déterminée à partir de la courbe d'étalonnage par la formule suivante (**Sadasivam et Manickarn, 1996**) :

$$ST = [(X.V.D)/P].100$$

Dont :

ST : Taux de sucres totaux en % ;

X : Quantité de sucres calculée à partir de la courbe d'étalonnage (mg/ml) ;

D : Facteur de dilution ;

V : Volume de la solution analysée en ml ;

P : Poids de la prise d'essai en g ;

I.4.5 Analyses antioxydantes

I.4.5.1. Test de réduction du fer : FRAP (Ferric reducing antioxidant power)

a. Principe

La méthode FRAP est basée sur la réduction d'un complexe tripyridyltriazine ferrique $[(\text{Fe}(\text{III})\text{-TPTZ})_2]$ en un complexe tripyridyltriazine ferreux $[(\text{Fe}(\text{II})\text{-TPTZ})_2]$ par un antioxydant (AH), à un pH de 3,6 pour maintenir la solubilité du fer. Lors de la réduction du complexe ferrique en complexe ferreux une coloration bleue intense apparaît très rapidement avec un maximum d'absorption à 593 nm. Le pouvoir réducteur est proportionnel à la formation de la couleur bleue, plus la couleur bleue est intense, plus l'échantillon peut être considéré comme un bon réducteur. (Benzie et Strain, 1996, Pulido *et al.*, 2000).

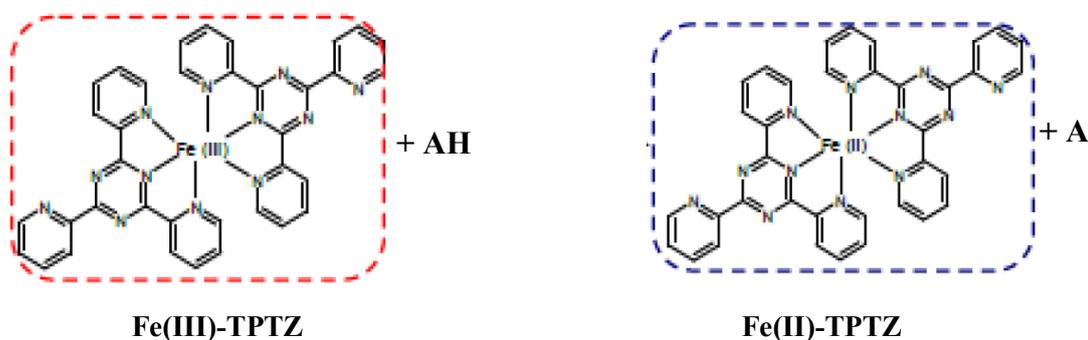


Figure 2: Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe tripyridyltriazine ferrique Fe(III)-TPTZ et un antioxydant (AH).

b. Mode opératoire

L'activité réductrice du fer de nos extraits est déterminé selon la méthode décrite par Oyaizu (1986) ; basée sur la réduction du Fe^{+3} présent dans le complexe $k_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en Fe^{+2} .

Le pouvoir réducteur a été déterminé suivant la méthode préconisée par Oyaizu (1986). En effet, 2,5 ml de différentes concentrations de chaque extrait dilué dans le méthanol est mélangé avec 2,5 ml de la solution tampon phosphate (0,2 M ; pH 7.4) et 2,5 ml de ferricyanure de potassium ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) à 1%. Les mélanges sont incubés à 50°C pendant 30 min. après, 2,5 ml de l'acide trichloracétique (10%) est additionné avec 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml FeCl_3 (0,1%). L'absorbance est mesurée à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif dans cette expérience dans les mêmes conditions opératoires.

c. Expression des résultats

Pour explorer les résultats obtenus, la manière la plus commune utilisée par la majorité des auteurs est de tracer les graphes des absorbances obtenues en fonctions des différentes

concentrations utilisées pour les différentes fractions des extraits étudiés. L'augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des fractions testées.

Chapitre II

Résultats et Discussion

II.1. Propriétés physiques

II.1.1 pH

Les valeurs du pH trouvées pour les extraits aqueux (EAM et EAD) des graines du fenugrec mesurées à 20°C sont présentées par la figure 3.

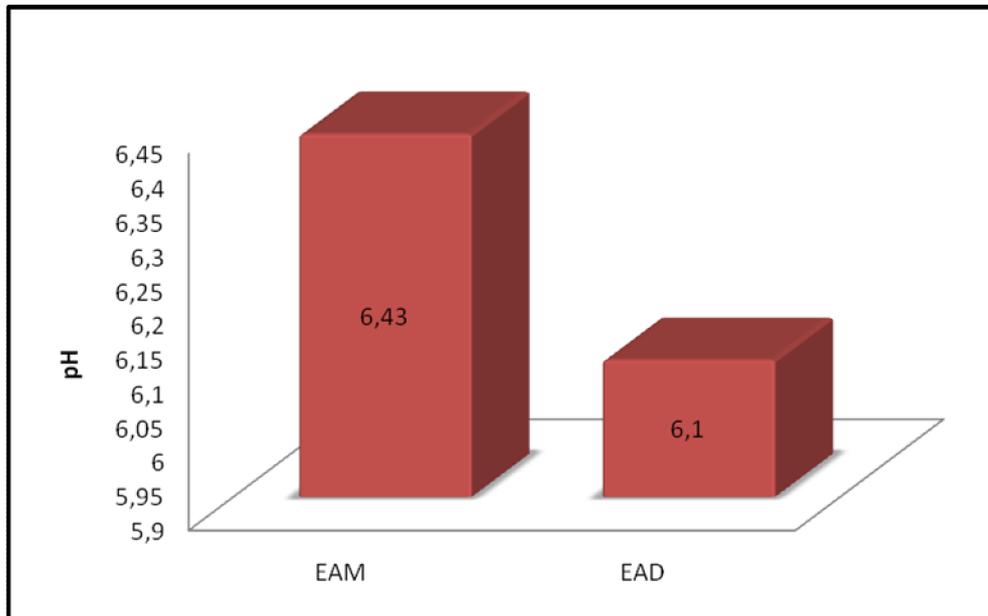


Figure 3 : Valeurs du pH d'extraits aqueux (EAM et EAD) des graines du fenugrec.

Selon les résultats obtenus, la valeur moyenne du pH d'extrait aqueux macéré (EAM) est supérieure à celle trouvée dans l'extrait aqueux décocté (EAD). Les valeurs du pH des extraits aqueux (EAM et EAD) sont donc légèrement neutres et comparables à la valeur trouvée par **Kumar et al .,(2014)** qui est égale à 6,23, la variabilité du pH d'une solution est lié à la concentration des ions hydroniums (**Geoffrey,2011**).

II.1.2. Matière sèche

Les valeurs de la matière sèche pour les extraits aqueux (EAM et EAD) des graines du fenugrec sont illustrées par la figure 4.

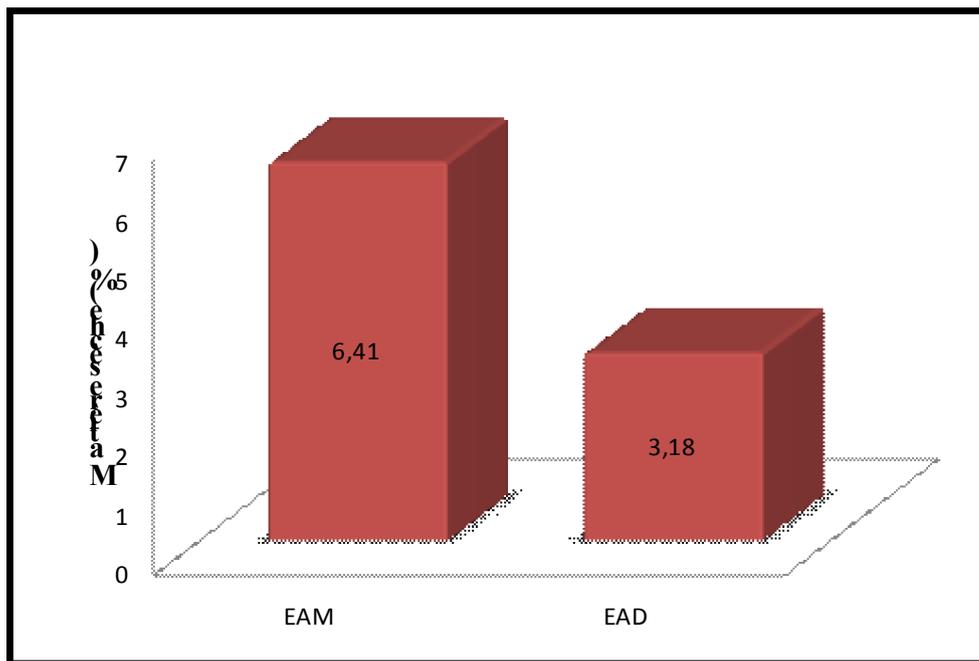


Figure 4 : Valeurs du taux de la matière sèche d'extrait aqueux (EAM et EAD) des graines du fenugrec.

Selon les résultats obtenus, nous remarquons que la valeur de la matière sèche de l'extrait aqueux macéré (EAM) est élevée à celle enregistrée pour l'extrait aqueux décocté (EAD).

Selon **Doukani et Tabac (2015)**, les facteurs qui peuvent influencer sur la teneur en eau sont : l'âge de la plante, la période du cycle végétatif, ou même les facteurs génétique. Cette variation de la teneur en eau peut être due aussi à différentes conditions environnementales.

II.1.3. Taux de cendres

Les valeurs du taux de cendre trouvées pour les extraits aqueux (EAM et EAD) des graines du fenugrec sont illustrées dans la figure 5.

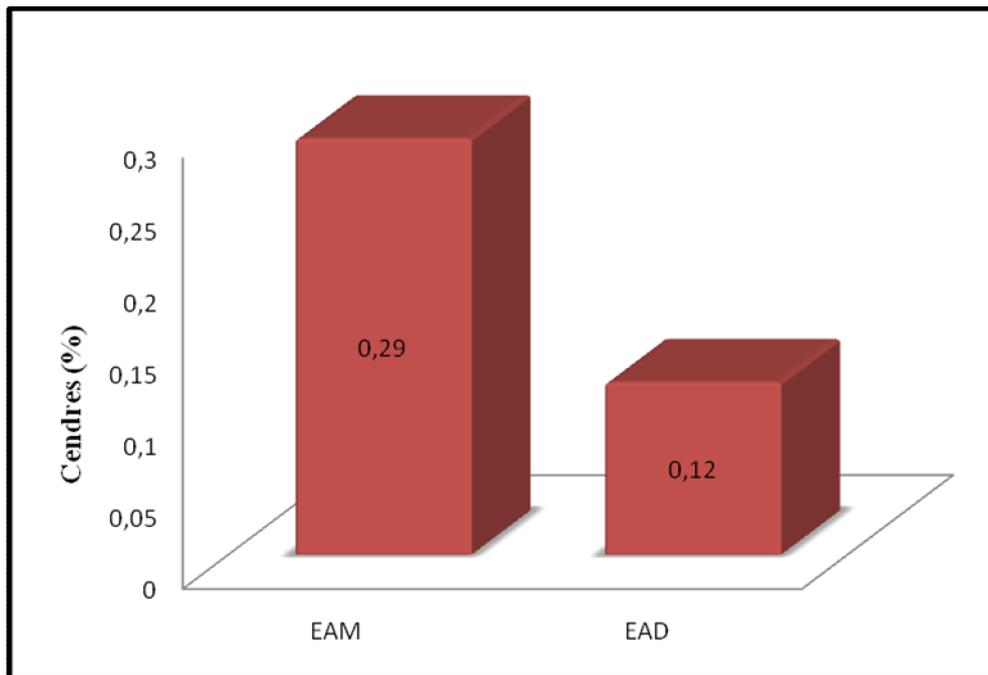


Figure 5 : Valeurs du taux de cendres des extraits aqueux (EAM et EAD) des graines du fenugrec.

Selon les résultats illustrés dans la figure 5, on remarque que la teneur en cendre de l'extrait aqueux macéré (EAM) est élevée à celui de l'extrait aqueux décocté (EAD). Le taux de cendres représente la quantité totale en sels minéraux présents dans un échantillon, les variations du taux de cendre remarqué pour les extraits aqueux (EAM et EAD) peut être que le traitement thermique diminue la teneur en sels minéraux.

Le chauffage provoque la destruction de la matière organique des matières grasses, des protéines, des vitamines et d'autres constituants se combinent pour donner les substances minérales, la minéralisation et la formation de corps minéraux à partir de molécules organiques (Mathieu, 1998).

II.1.4. Densité

Les valeurs de la densité trouvées pour les extraits aqueux (EAM et EAD) des graines du fenugrec mesurées à 20°C sont mentionnées par la figure 6.

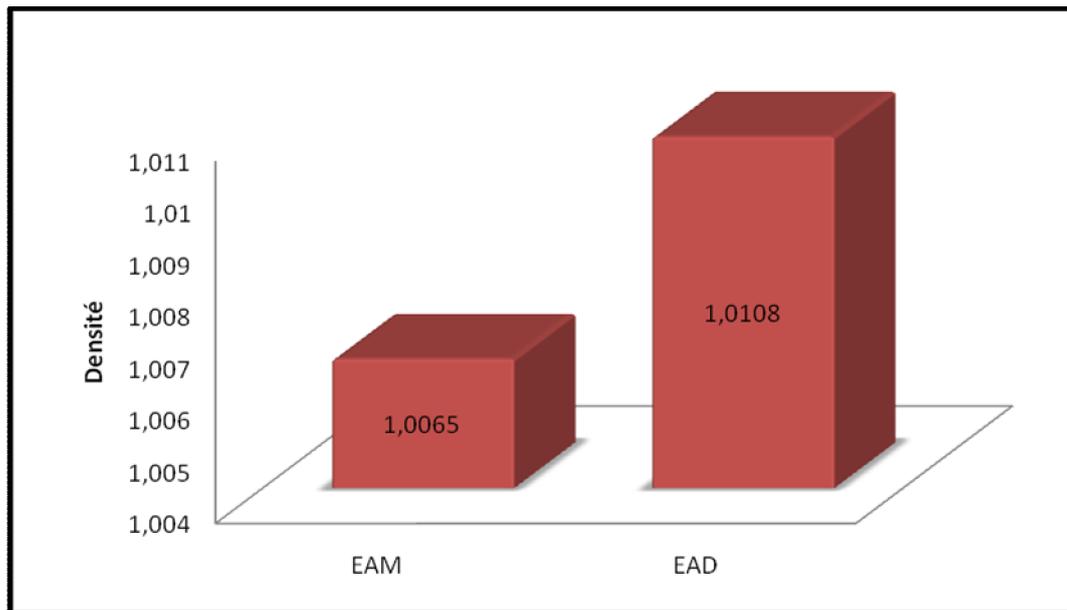


Figure 6 : Valeurs de la densité d'extraits aqueux (EAM et EAD) des graines du fenugrec.

D'après les résultats obtenus, la densité de l'extrait aqueux macéré (1,0065) et décocté (1,0108) des graines du fenugrec sont presque identique.

D'après **Boulier et Luquet (1980)**, la densité dépend de la teneur en matière sèche, matière grasse et ainsi que la température.

II.1.5. Conductivité électrique

Les valeurs de la conductivité électrique trouvées pour les extraits aqueux (EAM et EAD) des graines du fenugrec à 20°C sont mentionnées par la figure 7.

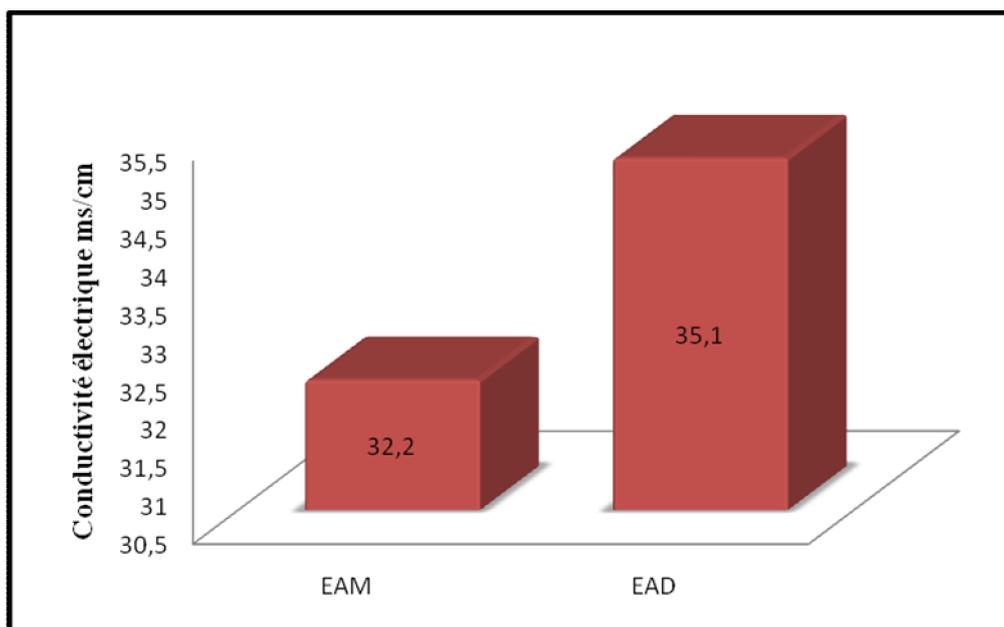


Figure 7 : Valeurs de la conductivité électrique d'extrait aqueux (EAM et EAD) des graines du fenugrec.

Selon les résultats obtenus, les valeurs de la conductivité électrique des extraits aqueux (macéré et décocté) des graines du fenugrec sont comparables, on remarque que la conductivité électrique d'extrait aqueux décocté (EAM= 35,1ms/cm) est supérieure de celle de l'extrait aqueux macéré (EAM= 32,2ms/cm) , cette différence est due à l'action de la température car la conductivité électrique exprime l'aptitude de la solution aqueuse à conduire un courant électrique, elle est en corrélation avec la teneur en sels solubles, la teneur de ces derniers dans les solutions diluées, est proportionnelle à la conductivité (**Amellal ; 2008**).

II.1.6. Viscosité

Les valeurs de la viscosité trouvées pour les extraits aqueux (EAM et EAD) des graines du fenugrec mesurées à 20°C sont illustrées par la figure 8.

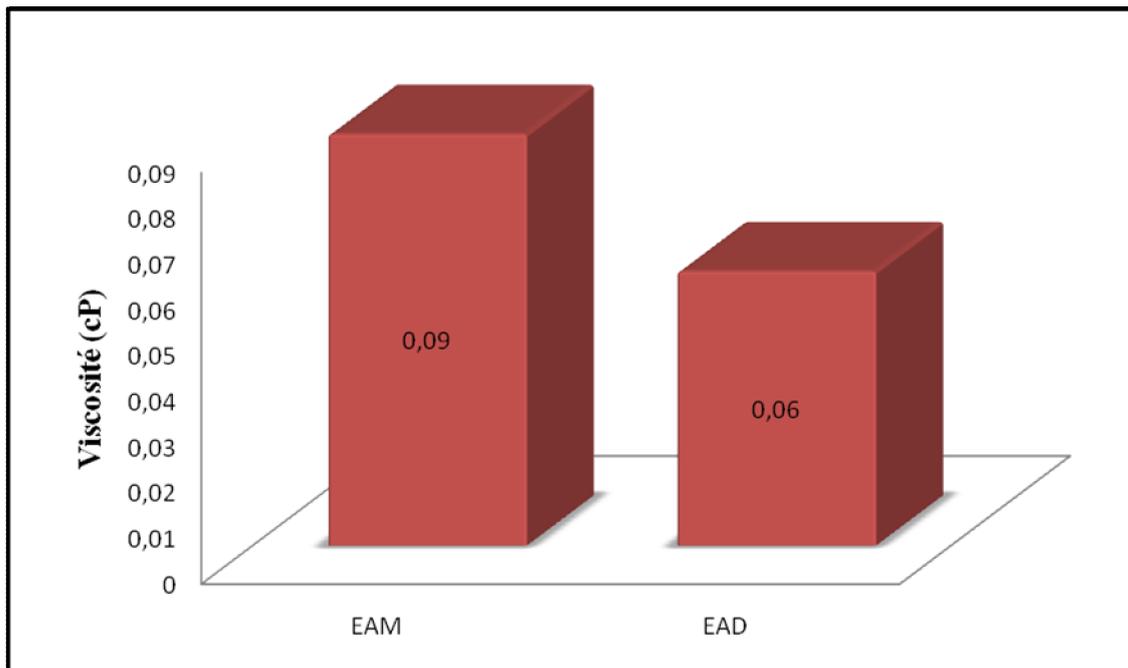


Figure 8 : les valeurs de la viscosité d'extrait aqueux (EAM et EAD) des graines du fenugrec.

Selon les résultats obtenus, on remarque que la valeur de la viscosité de l'extrait aqueux macéré (EAM) est supérieure à celle enregistrée pour l'extrait aqueux décocté (EAD), la viscosité tend généralement à diminuer lorsque la température augmente.

La viscosité dépend de la température, la nature du solvant, de la taille, de la concentration, des particules dispersées et de leur affinité pour le solvant (**Adrain et al., 1981 ;Lorient et al.,1994**).

II.1.7 Indice de réfraction

Les valeurs de l'indice de réfraction trouvées pour les extraits aqueux (EAM et EAD) des graines du fenugrec mesurées à 20°C sont illustrées par la figure 9.

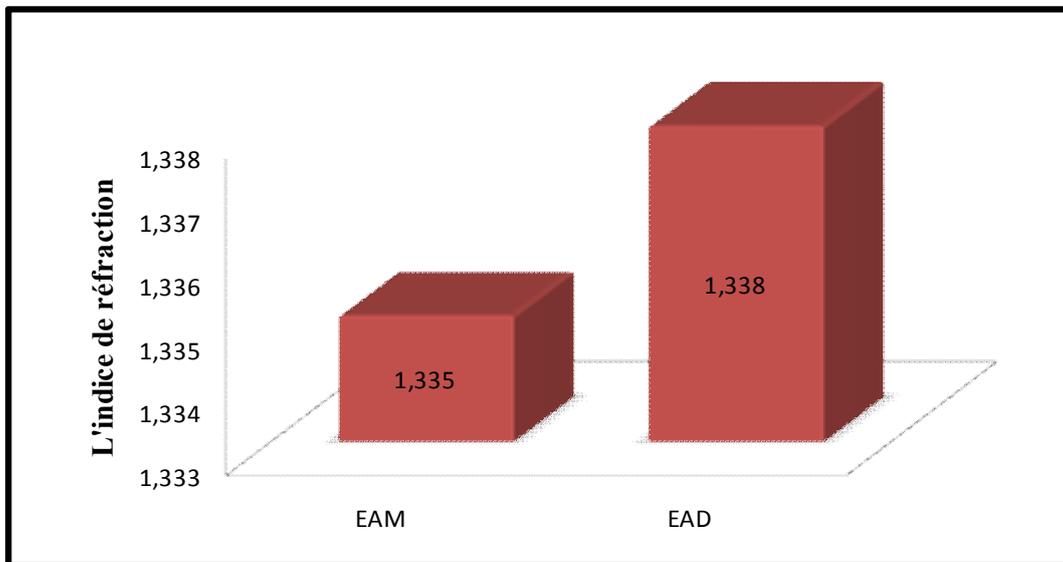


Figure 9 : valeurs de l'indice de réfraction d'extrait aqueux (EAM et EAD) des graines du fenugrec.

Selon les résultats obtenus, on remarque qu'il y'a une petite différence entre les valeurs de l'indice de réfraction des extrait aqueux (EAM et EAD), cela peut être dû à la température et la teneur en matière sèche

II .2. Propriétés chimiques

II.2.1. Flavonoïdes totaux

Les valeurs des flavonoïdes totaux trouvées pour les extraits aqueux (EAM et EAD) des graines du fenugrec sont illustrées par la figure 10.

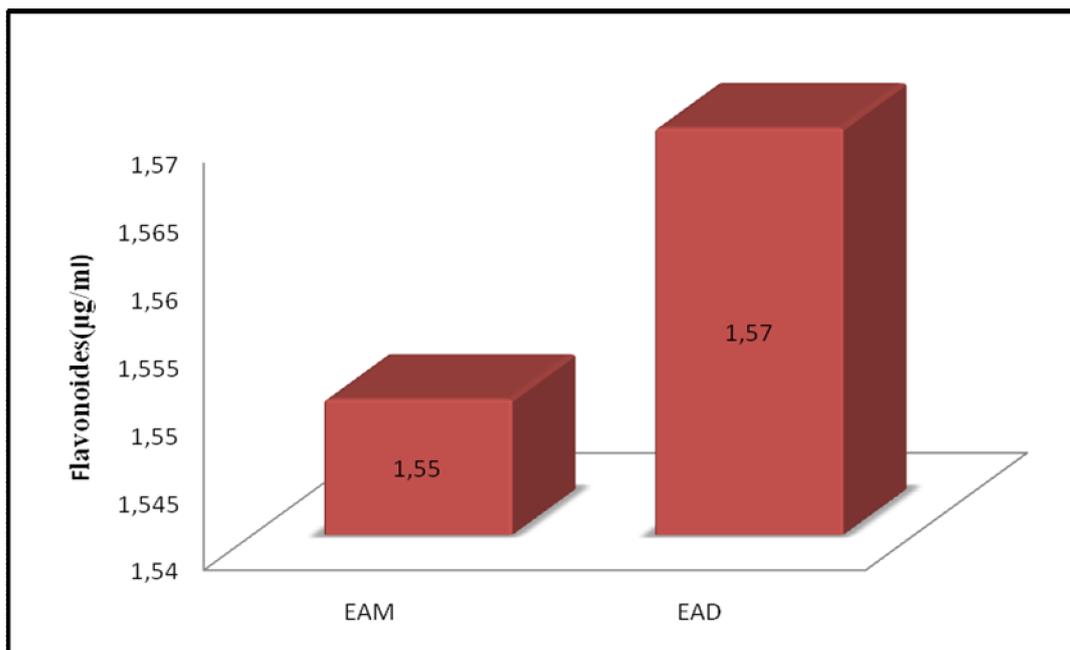


Figure 10 : valeurs des flavonoïdes totaux d'extraits aqueux (EAM et EAD) des graines du fenugrec.

D'après les résultats obtenus, on remarque que les valeurs de flavonoïdes totaux d'extrait aqueux macéré (EAM= 1,55 μ g/ml) et l'extrait aqueux décocté (EAD= 1,57 μ g/ml) des graines du fenugrec sont presque identiques

II.2.2. protéines

Les valeurs des protéines trouvées pour les extraits aqueux (EAM et EAD) des graines du fenugrec sont illustrées par la figure 11.

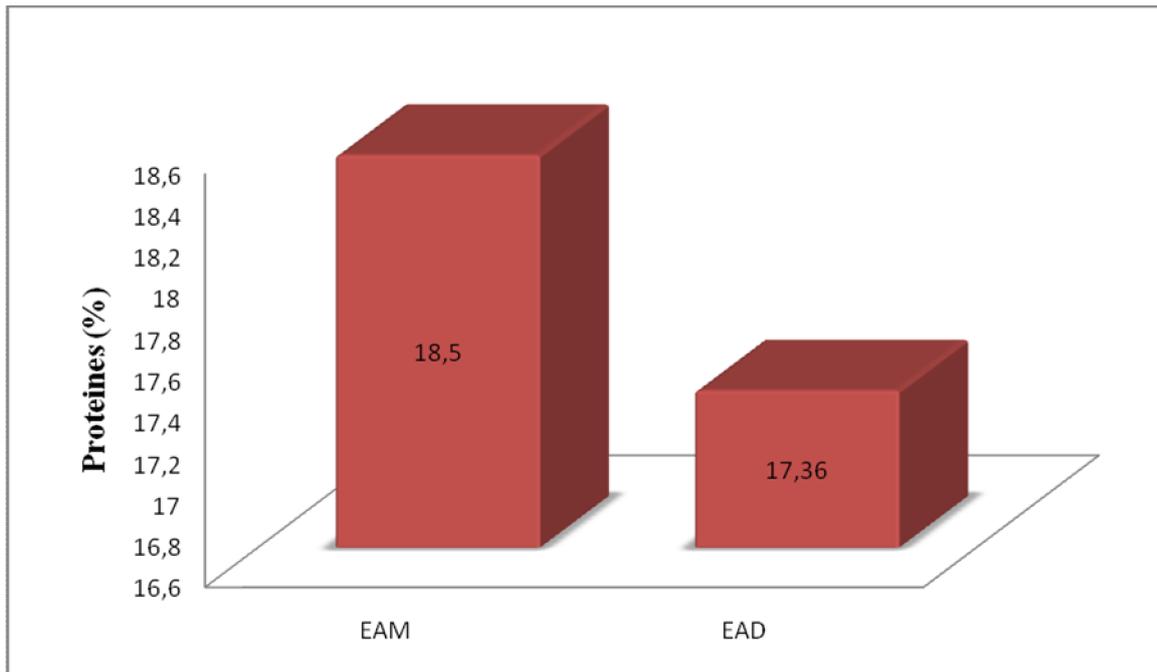


Figure 11 : Valeurs des protéines d'extraits aqueux (EAM et EAD) des graines du fenugrec.

Selon les résultats obtenus, on remarque que la valeur du taux des protéines de l'extraits aqueux macéré (EAM= 18,5%) est supérieure a celle enregistrée pour l'extrait aqueux décocté (EAD= 17,36%).

Les valeurs notées sont inférieures par rapport aux résultats trouvés par **Rahmani et al.,(2015)** qui ont enregistré un intervalle de 28 à 32% de protéines dans les graines du fenugrec.

Les protéines sont les constituants les plus importants dans les graines du fenugrec (*Trigonella foenum-graecum*L.)(**Maletic et Jevdjovic, 2007**).

II.2.3. Polyphénols totaux

Les valeurs des polyphénols totaux trouvées pour les extraits aqueux (EAM et EAD) des graines du fenugrec sont illustrées par la figure 12.

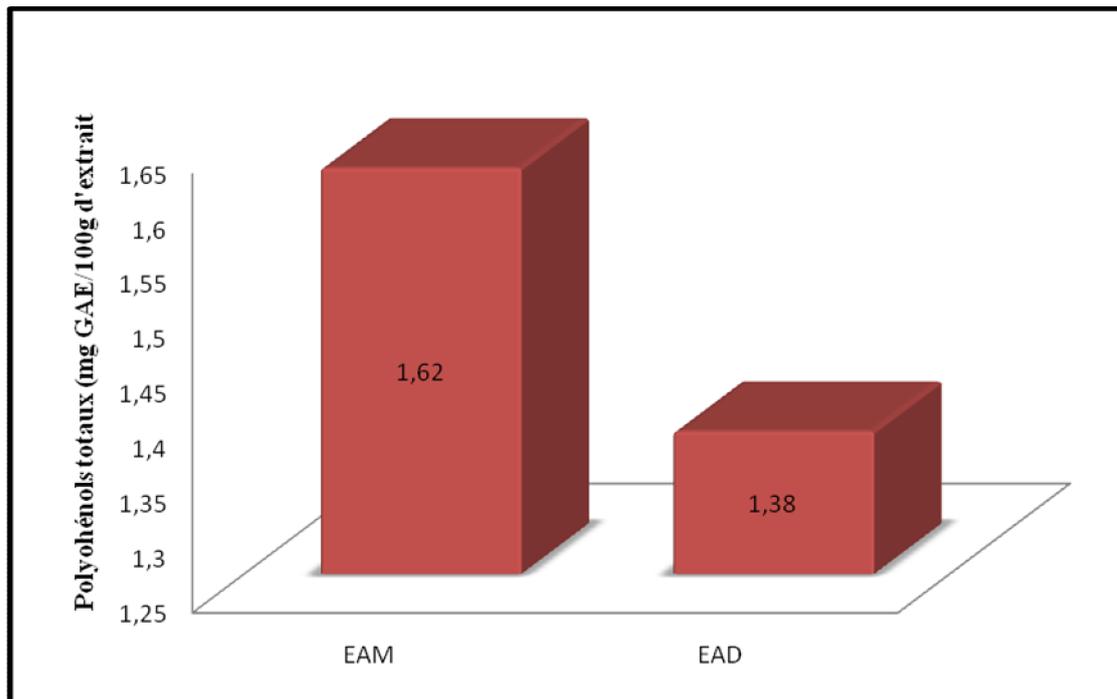


Figure 12 : valeurs des polyphénols totaux d'extraits aqueux (EAM et EAD) des graines du fenugrec.

D'après les résultats obtenus, on remarque que la valeur des polyphénols totaux d'extrait aqueux macéré (EAM) est supérieure à celle enregistrée pour l'extrait aqueux décocté (EAD).

Les polyphénols, les flavonoïdes sont des antioxydants puissants susceptibles d'inhiber la formation des radicaux libres et de s'opposer à l'oxydation des macromolécules (Van Acker et *al.*, 1995 ; Iserin, 2001).

Les polyphénols sont impliqués dans la prévention des maladies cardiovasculaires, cancéreuse, neuro-dégénératives... (Scalbert et Williamson, 2000).

II.2.4. Sucres totaux

Les valeurs des sucres totaux trouvées pour les extraits aqueux (EAM et EAD) des graines du fenugrec sont illustrées par la figure 13.

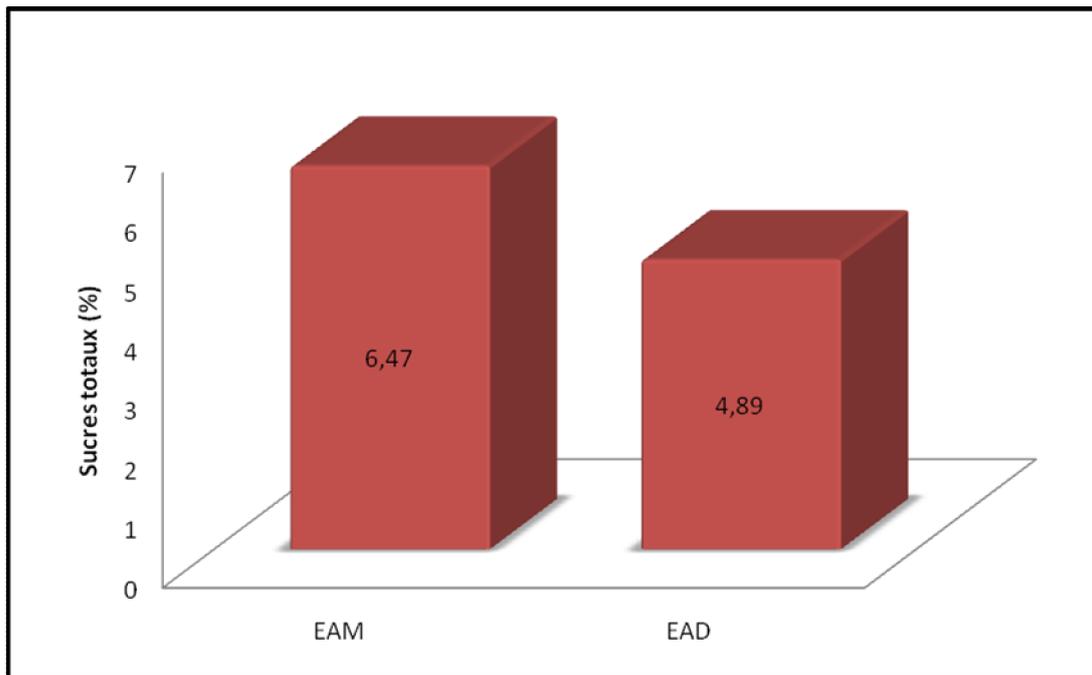


Figure 13 : Valeurs des sucres totaux d'extraits aqueux (EAM et EAD) des graines du fenugrec.

D'après les résultats obtenus, on remarque que la valeur des sucres totaux d'extrait aqueux macéré (EAM) est supérieure à celle d'extraits aqueux décocté (EAD).

Les valeurs notées sont inférieures par rapport aux résultats trouvés par **Ghedir et al.,(2010)** qui ont trouvé 20 à 30% de sucre totaux dans les graines du fenugrec.

II.3 Propriétés antioxydantes

Pour l'évaluation de l'activité antioxydante nous avons utilisé le test chimique FRAP : Ferric Reducing Antioxydant Power qui mesure le pouvoir de réduction des ions de fer, c'est une méthode facile et reproductible (**Li et al., 2007**)

Les valeurs de l'activité antioxydante trouvées pour les extraits aqueux (EAM et EAD) des graines du fenugrec sont illustrées par la figure 14.

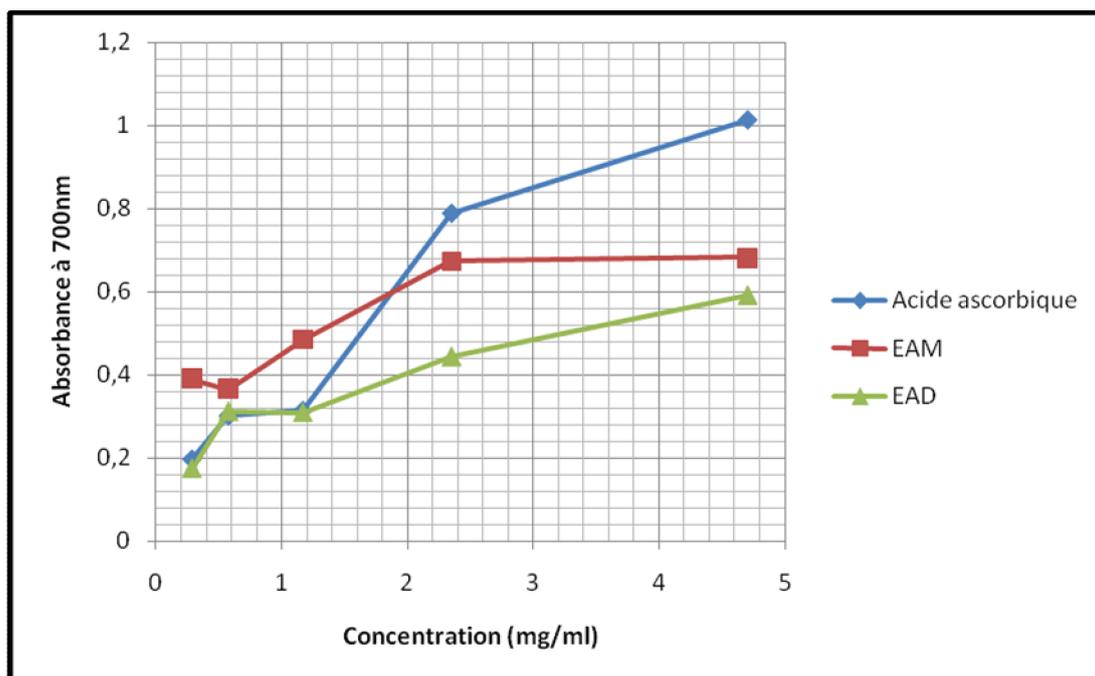


Figure 14 : Pouvoir réducteur des extraits aqueux (EAM et EAD) des graines du fenugrec et l'acide ascorbique.

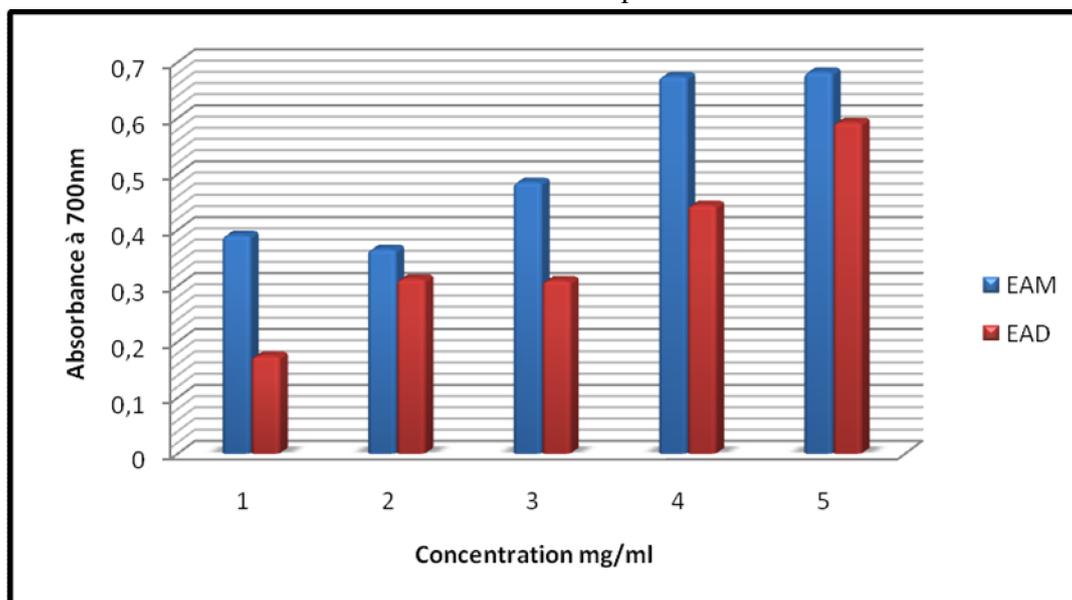


Figure 15 : Pouvoir reducteur des deux extraits aqueux (EAM et EAD) des graines du fenugrec

Les courbes représentent l'absorbance des deux extraits aqueux macéré et décocte des graines du fenugrec et l'acide ascorbique en fonction de leurs concentrations dans le milieu, les pouvoirs réducteurs sont mesurée à 700nm.

A partir de la concentration 1,17mg/ml, il y'a une augmentation de l'absorbance des deux extraits aqueux (EAM= 0,485 et EAD= 0,309).En comparant les deux courbes d'EAM et d'EAD, on constate qu'il y'a une augmentation de l'absorbance en fonction de la

concentration de la solution, l'absorbance de l'extrait aqueux issu par macération est supérieure de celle d'extrait aqueux obtenu par décoction, l'extrait aqueux macéré atteint une valeur maximale $EAM=0,682nm$ alors que l'extrait aqueux décocté $EAD = 0,592nm$ à la même concentration $4,7mg/ml$

L'augmentation de l'absorbance signifie une augmentation du pouvoir réducteur donc le pouvoir réducteur de l'extrait aqueux macéré est plus important que le pouvoir réducteur décocté cela est dû au composés phénolique présent dans l'extrait aqueux ($EAM= 1,62 mg GAE/100g$ d'extrait et $EAD= 1,38mg GAE/100g$), la technique d'extraction et le traitement thermique.

Le pouvoir réducteur des extraits aqueux est dû à la présence des composés phénolique qui peuvent servir comme donneur d'électron par conséquent, les antioxydants peuvent être considérés comme des réductants et inactivateurs des oxydants (**Siddhuraju et Becker, 2007**).

Le dosage des polyphénols totaux nous donne une estimation globale de la teneur en différentes classes des composés phénoliques contenus au niveau de graine du fenugrec (**Pawlowska et al., 2006**).

Le pouvoir réducteur d'un composé, peut servir comme indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle (**Johnson et al., 2001**).

La complexité des extraits aqueux en substance polyphénoliques et la synergie entre eux par une meilleure activité antioxydante (**Vermerris et Nicholson, 2006**).

Conclusion

Conclusion

L'étude des propriétés physicochimiques et l'activité antioxydante d'extraits aqueux des graines du fenugrec (*Trigonella foenum graecum* L.) obtenus par deux opérations distinctes à savoir la macération et la décoction a révélé des résultats très intéressants.

En comparant les résultats à partir des analyses physicochimiques d'extraits aqueux des graines du fenugrec issu par macération et décoction sont caractérisées par une variabilité très importante.

Nous avons enregistré des teneurs élevées en densité, en pH, également en polyphénols (EAM= 1,62mg GAE/100g et EAD= 1,381,62 mg GAE/100g), protéines (EAM =18,5% et EAD = 17,36%), et en sucres totaux (EAM= 6,47% et EAD= 4,89%), dans l'extrait aqueux obtenu par macération des graines du fenugrec que celui issu par décoction.

En revanche, la réalisation des analyses physiques et chimiques d'extraits aqueux (EAM et EMD) des graines de fenugrec a montré que leurs paramètres physiques et chimiques dépendent de leurs techniques d'extractions

Les résultats d'analyses de l'activité antioxydante d'extraits aqueux sélectionnés (EAM et EAD) des graines de fenugrec selon le test de réduction du fer : FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power Assay), ont montré que l'EAM présente un pouvoir antioxydant important et plus supérieur que l'EMD.

D'après l'étude de cette légumineuse, on remarque que ses graines sont riches en biomolécules solubles intéressantes et à des taux élevés, ce qui leurs confèrent une grande valeur alimentaire et présentent de multiples vertus phytothérapeutiques.

En se basant sur ces propriétés remarquées dans les deux types d'extraits aqueux des graines du fenugrec nous suggérons en perspective une étude sur les propriétés biologiques (activité antifongique et antibactérienne) d'extrait aqueux des graines du fenugrec issu par macération et décoction.

Références Bibliographiques

- ❖ **Adrian.J, Legrand.G, Frangner.R. 1981.** Dictionnaire de biochimie alimentaire et de nutrition, 2ème édition, Tec et Doc, Lavoisier, Paris, 223p.
- ❖ **AFNOR nf ISO 279 (T75-111).** mars 1999 : Huiles essentielles- Détermination de la densité Journal officiel du 23fevrier 1999, Num. p146.
- ❖ **Amellal .H. 2008** Aptitudes technologiques de quelques variétés communes de dattes : Formation d'un yaourt naturellement, sucré et aromatisé. These de doctorat en technologie alimentaire.Université M'hamedbougara. Boumerdes.p127
- ❖ **AOAC. 2002.** Official methods of Analytics.17th Ed. Gaithersburg.USA
- ❖ **Ardestani.A. Yazdanparast.R. 2007.** Flavonoïdes as potentialtherapeutic agents for type 1 diabetes. Medicalhypotheses ; (69) 4-955p
- ❖ **Boudier.J-F, Luquet.F. 1980.** Utilisation de lactosérum en alimentation humaine et animale. Seriesynthese bibliographique N° 21. 96p
- ❖ **Doukani.K, Tabac.S. 2015 :** profil physiochimique du fruit lendj (*Arbutusunedo* L.). Revue Nature of Technologie. B-science agronomique et biologiques, N°= 12 Janvier 2015, 57p
- ❖ **Dubois.M., Gilles.K., Hamilton.JK., Rebers.P-A ET Smith.F. 1956.** Calorimetricmethod for determination of sugar and related substance. Anal Chem. 28 :350-356p
- ❖ **Gaouar.N. 2011.** Etude de la valeur nutritive de la caroube de différentesvariétésAlgeriennes .these de magistere en nutrition . université Abou BakrBlkaid Tlemcen 95p
- ❖ **Geoffrey.C-P. 2011.** Food Science and technology .Ed.johnWiley and Son. USA.520p
- ❖ **Ghedir.K., Goetz.P, Le Jeune.R.2010.** Fenugrec : *Trigonella foenum-graecum*L. (Fabaceae ex. leguminosae). Matieremedicale pratique. 180-184p
- ❖ **Iserin.P et al.2001.** Larousse Encyclopédie des Plantes Medicinales.335p.
- ❖ **Johnson K. S.Felton G. W (2001).** "Plant phenolics as dietaryantioxidants for herbivorousinsects: a test withgeneticallymodifiedtobacco." Journal of Chemical Ecology27: 2579-2597
- ❖ **Kratchanova.M., Denev .P. Ciz.M., Lojek.A, Mihailov.A. 09 June 2010.** Evaluation of antioxidantactivity of medicinal plants containingpolyphenolscompounds. Comparaison of two-extraction systems. 229-234p. Bulgaria
- ❖ **Kumar.D, Singhal.A, Bansal.S, Gupta.S-K., 2014.** Extraction, isolation and evaluation*Trigonella foenum-graecum*L. mucoadhesive agent for nasal gel drugdelivery. Journal of NPA vol XXVII n°1. 40-45p
- ❖ **Li H-B. , Wong C-C., Cheng K-W., Feng C.(2008)** . Antioxidantproperties in vitro and total phenolic contents in methanolextractsfrommedicinal plants.
- ❖ **Maletic.R, Jevdjovic.R. 2007.** Sowing date-the factor of yield and quality of Fenugrec seed (*Trigonellafoenum-graecum* L.) Journal of AgriculturalSciences Vol. 52, numéro 11- 8p.

- ❖ **Mathieu.J. 1998.** Initiation a la physicochimie du lait Ed et Doc. Lavoisier, Paris. 220p.
- ❖ **Nielsen S-S. 2010.** Food Analysis.4thEd. Springer. USA. 602p.
- ❖ **Pawlowska.A-M, De Leo. M, Baraca.A. 2006.** Phenolics of Arbutusunedol. L (Ericaceae) fruit : identification of anthocyanins and gallicacidderivatives. Journal of Agriculture and Food Chemistry. 54 (26) :10234-10238p.
- ❖ **Pulio Dor. Bravo.L, and Saura-Calixtof.F. 2000.** Antioxidantactivity of dietarypolyphenols as determined by a modifiedFerricReducing/Antioxidant Power Assay.Jagric Food chem 48(8) : 3396-402.
- ❖ **Rahmani.M, Toumi-Benali.F, Hamel.LMM, Dif.2015.** Apercuethnobotanique et phytopharmacologique sur *Trigonella foenum-graecum*L.
- ❖ **Ribereau-GayonP. 1968.** Les composés phenoliques des vegetaux .Ed. Dunod.paris. 254p.
- ❖ **Sadasivam., Manickarn.A. 1996.** Biochemicalmethods. 2eme Ed. New Age International . New Delhi. 256p.
- ❖ **Scalbert.A, Williamson .G. 2000.** Chocolate modern science investigates an ancientmedicinedietaryintake and bioavailability of polyphenols.Journal of Nutrition. 130 : 2073-2085p.
- ❖ **Siddhuraju P., Becker K. (2007).** The antioxidant and free radical scavengingactivities of processedcowpea (*Vignaungiculata* (L.) Walp.)seedextracts.FoodChemistry, 101: 10-19.
- ❖ **Singleton Let Rossi.A. 1965.** Colorometryof total phenolicswithphosphomolybdic-phosotungesticacidreagent. American Journal of Enology and Viticulture.
- ❖ **Singleton V. L., Orthofer R. and Lamuela-Raventos R. M.** Analysis of Total Phenols and OtherOxidationSubstrates and Antioxidants by Means of Folin-CiocalteuReagent. MethodsEnzymol. 1999; 152-177.
- ❖ **Vollak.J, et Stodola.J, 1983 :** plante medicinales.Edit GRUND. Paris. 319p.
- ❖ **Van Delden C. and Iglewski B. H.** Cell-to-cellsignaling and Pseudomonas aeruginosa infections. Emerg. Infect. Dis. 1998; 4: 551-560.
- ❖ **Van Acker S., Tromp M., Haenen G R M M., Van Der Vijgh W., Bast A., 1995.** Flavonoids as scavengers of nitricoxide Radical. Biochem. Biophy. Res. Co. Vol 214 (3):755759.
- ❖ **Owen.P-L, Jhons. T. 1999.** Xantineoxidaseinhibitoryactivity of northeastern. North American plant remediesused for gout. Journal of Ethnopharmacology. 64 :149-160p.
- ❖ **OYAIZU M., 1986.** Studies on products of browning reactionpreparedfrom glucose amine. Japanese Journal of Nutrition. 44: 307-315.

Annexes

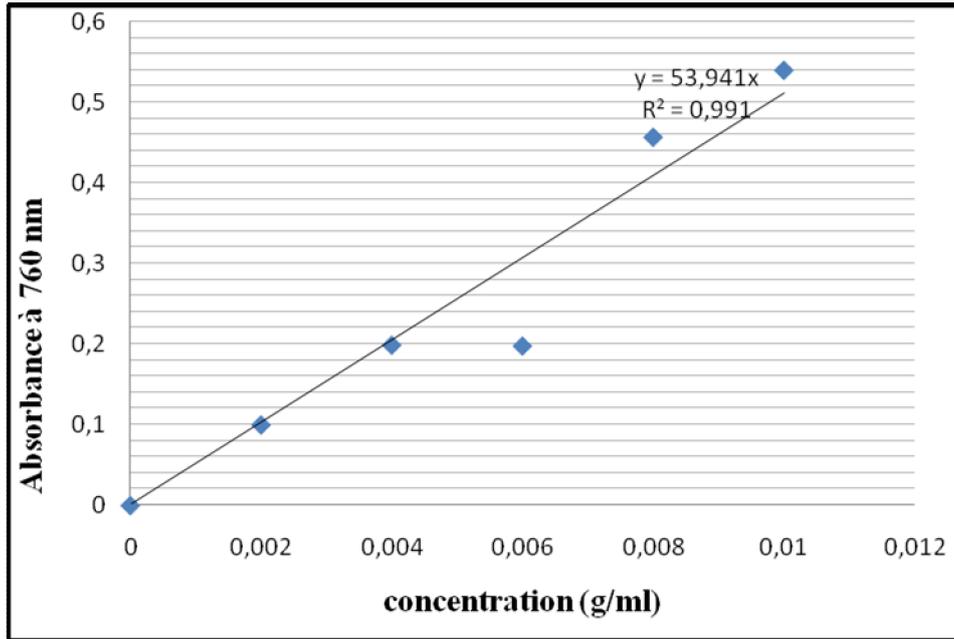
Annexe 1 : Extrait aqueux issu par macération (EAM).



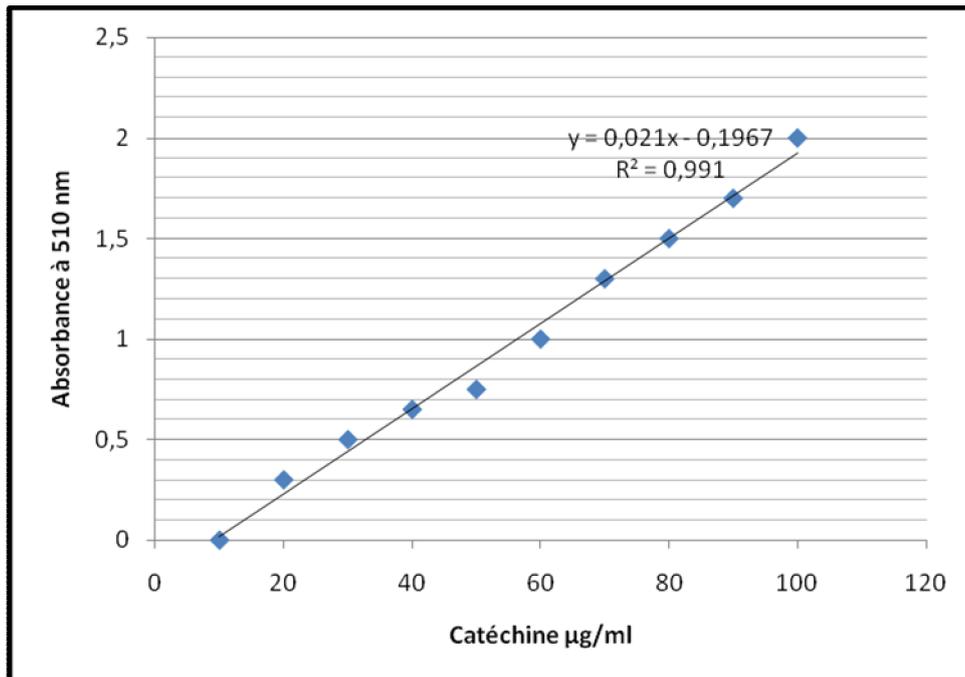
Annexe 2 : Extrait aqueux issu par décoction (EAD).



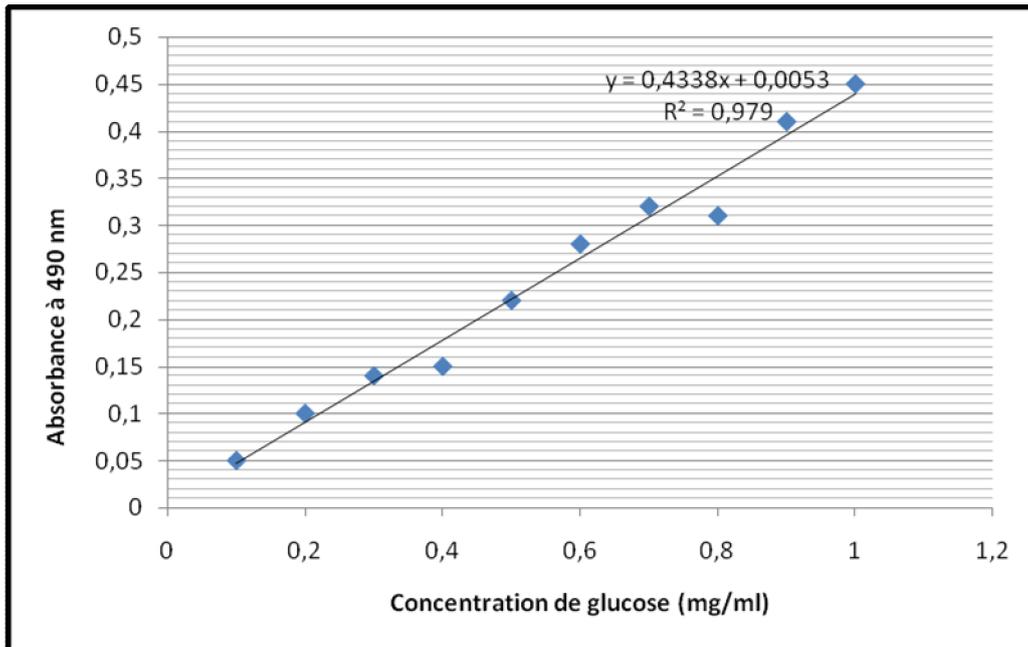
Annexe 3 : la courbe d'étalonnage pour le dosage des protéines.



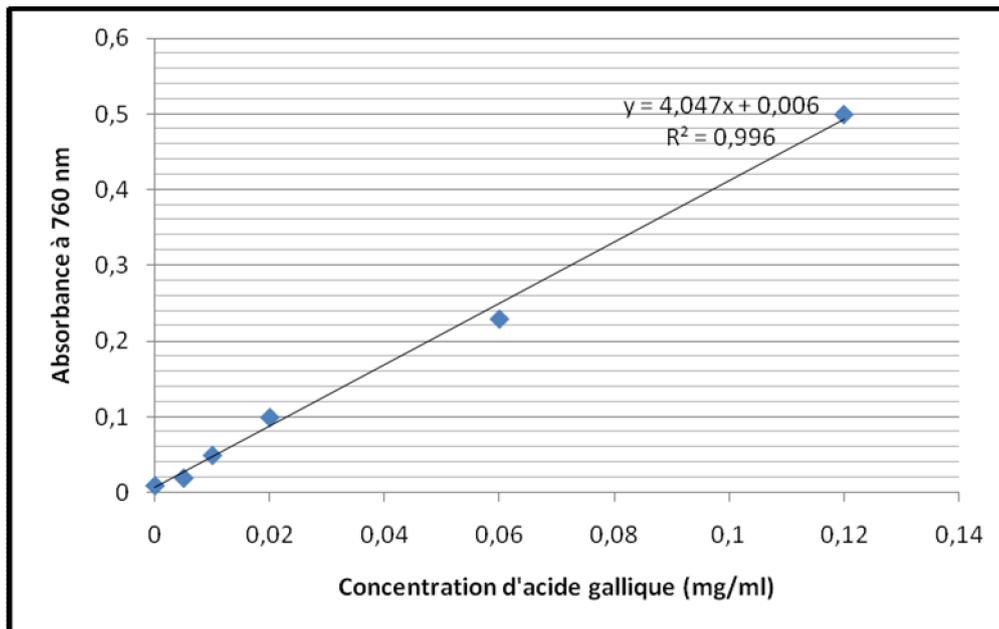
Annexe 4 : la courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes.



Annexe 5 : la courbe d'étalonnage pour le dosage des sucres totaux.



Annexe 6 : la courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols.



Annexe 7 : Valeurs de l'absorbance des deux extraits aqueux (EAM et EAD) des graines du fenugrec et l'acide ascorbique.

| Absorbance A 700nm \ Concentration (mg/ml) | 0,29 | 0,58 | 1,17 | 2,35 | 4,7 |
|--|-------|-------|-------|-------|-------|
| Acide ascorbique | 0,198 | 0,302 | 0,315 | 0,788 | 1,012 |
| EAM | 0,390 | 0,365 | 0,485 | 0,674 | 0,682 |
| EAD | 0,174 | 0,312 | 0,309 | 0,444 | 0,592 |

Résumé

Le fenugrec ou trigonelle (*Trigonella foenum-graecum*L.), du nom arabe l'helba, originaire d'Afrique du nord et des pays riverains de la méditerranée orientale, il est considéré comme plante médicinale et culinaire utilisée depuis les anciens temps, il a été employé dans le domaine alimentaire et dans la phytothérapie.

Dans ce contexte notre travail expérimentale est basé sur l'évaluation des propriétés physico-chimique des extraits aqueux des graines du fenugrec issus par macération et décoction et l'étude des propriétés antioxydante par le test de réduction de fer :FRAP.

Les résultats ont montré que la majorité des propriétés physicochimique d'extrait aqueux des graines du fenugrec issu par macération sont marqué par des teneurs élevées que celles obtenues par décoction, par conséquent le pouvoir antioxydant d'extrait aqueux macéré est plus important que celui de l'extrait aqueux décocté.

Mots clés : Fenugrec, graine, extrait aqueux, macération, décoction, antioxydant.

ملخص

تعرف الحلبة علميا باسم *Trigonella foenum-graecum*L. اصلها من افريقيا الشمالية و الدول المطلة على البحر الابيض المتوسط، تعتبر من النباتات الطبية المستعملة منذ القدم، تستخدم في صناعة المواد الغذائية والعلاج يستند عملنا التجريبي على دراسة الخواص الفيزيائية والكيميائية للمستخلصات المائية لبذور الحلبة التي نتحصل عليها بواسطة عملية النقاة والغليان وكذا دراسة الخصائص المضادة للأكسدة عن طريق كاشف إرجاع الحديد. أظهرت النتائج أن معظم الخصائص الفيزيائية والكيميائية للمستخلص المائي لبذور الحلبة المتحصل عليها بواسطة عملية النقاة تتميز بمستويات عالية مقارنة بتلك المتحصل عليها بواسطة الغليان، وبالتالي الخاصية المضادة للأكسدة للمستخلص المائي المنقوع أكبر من الخاصية المضادة للأكسدة للمستخلص المائي المغلي.

الكلمات المفتاحية: الحلبة، بذور، مستخلص مائي، نقاعة، غليان، مضادات الأكسدة.