

UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Biologiques



Mémoire de Master Académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

THEME

**CARACTÉRISATION ET ACTIVITÉ BIOLOGIQUE D'EXTRAIT
POLYSACCHARIDIQUE ISSU DES GRAINES DE PLANTE MÉDICINALE**

Présenté par :

Melle BOUZIANE Ilhem

Soutenu publiquement :

Le 18 /06/2025

Devant le jury :

M. BOUAL Zakaria.

Président

Pr. UKM Ouargla

M. OULD ELHADJ Mohamed Didi

Promoteur

Pr. UKM Ouargla

Mme. BOUZIANE Ghania

Co-promotrice

Dr. UKM Ouargla

Mme. BENAOUN Fatima

Examinatrice

MCB UKM Ouargla

Année Universitaire : 2024/2025

Remerciement

Avant toute chose, je rends grâce à Allah, Le Tout-Puissant, pour Sa guidance et pour la force et la passion qu'Il m'a insufflées tout au long de ce parcours. Sans Son aide, Son soutien je ne serais pas arrivée là où je suis aujourd'hui. Alhamdulillah.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à Monsieur le Professeur OULD ELHADJ Mohamed Didî, directeur de ce mémoire, pour son encadrement, ses corrections et ses remarques pertinentes qui ont fortement contribué à l'enrichissement de ce travail.

Mes remerciements sincères vont également à Melle Ghania Bouziane, ma Co-encadrante, pour son soutien, ses encouragements, ses conseils précieux et ses idées inspirantes. Son accompagnement et sa gentillesse ont été pour moi une véritable source de motivation. Sans elle, ce travail n'aurait probablement jamais vu le jour dans cette forme.

Je remercie également les membres du jury, Monsieur BOUAL Zakaria d'avoir accepté de présider le jury de soutenance, Melle BENAOUN Fatima pour avoir accepté d'évaluer mon travail avec bienveillance.

Je souhaite également remercier chaleureusement toute l'équipe du Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyse Physico-Chimique (CRAPC) Merci en particulier à Monsieur BELKHELFA Hakim, directeur de CRAPC Ouargla, pour leur accueil et pour m'avoir permis de réaliser mes travaux pratiques dans leur laboratoire. Une mention spéciale à Melle Imen, Iness et Maria pour leur accompagnement, leur patience et leur gentillesse tout au long de cette expérience.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à ma famille, qui a toujours manifesté une confiance inébranlable en mes capacités et m'a apporté un soutien indéfectible tout au long de mon parcours académique. Je tiens à exprimer ma gratitude pour leur patience, leur compréhension et

leur présence à mes côtés. Je prie Allah de les préserver dans ma vie comme une source de lumière qui éclaire ma voie.

Toute ma gratitude va au peuple de Gaza et à sa résistance. Votre courage et votre persévérance ont été ma plus grande source d'inspiration. Votre patience m'a donné la force pour continuer malgré les difficultés. Tout mon respect et mes salutations les plus sincères vous sont adressés.

Mes pensées reconnaissantes vont également à mes amis spécialement Leïla, Abir, Maroua, à toutes les personnes qui m'ont soutenue, conseillée, encouragée et qui ont cru en moi, même dans les moments de doute.

Et enfin, merci à moi-même, pour ma patience, mes efforts et ma persévérance. Merci de ne pas avoir abandonné malgré les difficultés. Je suis fière de ce que j'ai accompli.

À toutes celles et ceux qui, de près ou de loin, ont croisé mon chemin, tendu une main, offert un mot ou simplement cru en moi : merci du fond du cœur.

Dédicace

Mue par l'amour, la gratitude et une profonde fierté, je dédie humblement ce travail..

À l'âme qui m'a toujours accompagnée, à l'ombre fidèle qui ne m'a jamais quittée...

*À celui qui restera à jamais vivant dans mon cœur, même en son absence
toute la miséricorde à toi, mon père Lakhdar, et à ton âme pure.*

*À la plus grande femme et au cœur le plus sincère,
à celle qui a été, qui est, et qui restera toujours mon modèle et mon exemple :
à toi, maman Houria, source inépuisable de tendresse et de don de soi.
Je suis fière d'être ta fille. Puisse Dieu te préserver pour moi.*

*À ceux dont la présence suffit à combler tous les manques,
à ceux dont les paroles ont toujours été pour moi un remède et une force :*

*mes frères et sœurs : Siham, Fatima,
et mes chères Samah et Ghania,
ainsi que mes frères Abdelghani et Rami.
Qu'Allah vous garde à mes côtés.*

*À tous ceux qui m'ont enseigné, guidé, soutenu dans ce chemin,
à ceux qui ont eu la patience de répondre à mes nombreuses questions et à ma curiosité
scientifique,
je vous dédie humblement ce travail.*

*À toutes les personnes qui m'ont encouragée, par une prière, une parole ou un geste de
gentillesse,
et à tous ceux qui ont croisé mon chemin et y ont laissé une trace inoubliable,
merci*

*À ceux qu'on oublie trop souvent,
à ceux qui luttent chaque jour pour changer le monde sans se laisser changer par lui,
je vous dédie également ce travail.*

*Et enfin, à moi-même,
à celle que j'ai été, que je suis, et que je deviens...
Te voilà arrivée ici. Ce travail, cette réussite, sont à toi.*

*Je demande à Allah d'accepter humblement ce travail,
et d'en faire une œuvre bénéfique pour Moi et pour mes parents.*

Table de matières

Remerciements.....	I
Dédicace.....	III
Table de matières.....	V
Liste des figures.....	X
Liste des tableaux.....	XIII
Liste des abréviations.....	XIV
Introduction générale.....	1
Chapitre I. Matériels et méthodes	5
I.1 Principe d'étude.....	6
I.2.- Présentation de la région d'étude.....	6
I.3.- Choix de la Plante.....	7
I.3.1.- Taxonomie de la plante (<i>Jarvis, 2007</i>)	7
I.3.2.- Echantillonnage.....	8
I.4.- Extraction des polysaccharides de <i>T. foenum-graecum</i>	8
I.5.- Composition biochimique de l'extrait polysaccharidique TFGP	9
I.5.1.- Dosage des oses totaux par la méthode de Dubois.....	9
I.5.1.1 Principe.....	9
I.5.1.2.- Mode opératoire.....	9
I.5.2.- Dosage des protéines par la méthode de Bradford.....	10
I.5.2.1.- Principe.....	10

I.5.2.2.- Mode opératoire.....	10
I.5.3.- Dosage des composés phénoliques par la méthode de Singleton.....	11
I.5.3.1.- Principe.....	11
I.5.3.2.- Mode opératoire.....	11
I.6.- Test de solubilité.....	12
I.6.1.- Principe.....	12
I.6.2.- Mode opératoire.....	12
I.7.- Test de rouge Congo.....	12
I.7.1.- Principe.....	12
I.7.2.- Mode opératoire.....	13
I.8.- Microscope électronique à balayage couplée à spectroscopie par dispersion d'énergie des rayons X (MEB-EDX).....	13
I.8.1.- Principe.....	13
I.8.2.- Mode opératoire.....	13
I.9.- Analyse de TFGP par Diffraction des rayons X (DRX).....	14
I.9.1.- Principe.....	14
I.9.2.- Mode opératoire.....	14
I.10.- Caractérisation des résidus glycosidiques et Composition en monosaccharides de TFGP..	14
I.10.1.- Hydrolyse acide des liaisons glycosidiques.....	15
I.10.1.1.- Principe.....	15
I.10.1.2.- Mode opératoire.....	15
I.10.2.- Analyse par chromatographie liquide à haute performance (HPLC).....	16

I.10.2.1.- Principe.....	16
I.10.2.2.- Mode opératoire.....	16
I.11.- Activités antioxydantes de TFGP.....	16
I.11.1.- Test de piégeage de radical libre DPPH.....	16
I.11.1.1.- Principe.....	16
I.11.1.2.- Préparation des solutions et des réactifs.....	17
I.11.1.3.- Mode opératoire.....	17
I.11.2.- Test de piégeage de radical libre ABTS.....	17
I.11.2.1.- Principe.....	17
I.11.2.2.- Préparation des solutions et des réactifs	18
I.11.2.3.- Mode opératoire	18
Chapitre II. Résultats et discussion.....	19
II.1.- Rendement polysaccharidique.....	20
II.2.- Composition de l'extrait polysaccharidique hydrosoluble.....	20
II.3. Solubilité.....	21
II.4. Test de rouge Congo.....	22
II.5. Microscope électronique à balayage couplée à spectroscopie (MEB).....	22
II.6. Analyse de TFGP par Diffraction des rayons X (DRX).....	23
II.7. Composition en monosaccharides de TFGP.....	24
II.8. Activités antioxydantes de TFGP.....	25
II.8.1. Test de piégeage de radical libre DPPH.....	25

II.8.2. Test de piégeage de radical libre ABTS.....	26
Conclusion et perspectives.....	27
Références bibliographiques.....	31
Annexe.....	41
Résumés.....	42

Liste des figures

Figure II.1: Extrait polysaccharidique TFGP après lyophilisation.....	20
Figure II.2: Représentation graphique des résultats du test de rouge Congo de l'extrait polysaccharidiques TFGP.....	22
Figure II.3: Analyse par MEB de l'extrait polysaccharidique TFGP.....	23
Figure II.4: DRX diagramme de l'extrait polysaccharidique TFGP.....	24
Figure II.5: Chromatogramme par HPLC de l'extrait polysaccharidique TFGP.....	25

Liste des tableaux

Tableau II.1: Composition biochimique de l'extrait polysaccharidique TFGP.....	21
Tableau II.2 : Activités antioxydantes de TFGP (DPPH et ABTS).....	26

Liste des abréviations

ABTS : 2,2'-azino-bis-3-éthylbenzothiazoline-6 sulphonique

A Gal : acide galacturonique

A Glc : acide glucuronique

Ara : arabinose

BSA : albumine sérique bovine

DRX : Diffraction des rayons X

DPPH : 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl

FG : Les galactomannanes de fenugrec

FTIR : spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

Fru : fructose

Gal : galactose

g : gramme

Glc : glucose

H3PMo12O40 : acide phosphomolybdique

H3PW12O40 : acide phosphotungstique

HPLC : chromatographie liquide à haute performance

Man : mannose

MEB-EDX : Microscope électronique à balayage couplé à spectroscopie par dispersion d'énergie des rayons X

ml : millilitres

Na₂CO₃ : carbonate de sodium

NaOH : hydroxyde de sodium

rpm : rotation par minute

Rha : rhamnose

TFGP : Trigonella foenum-graecum polysaccharides

TFA : acide trifluoroacétique

UV : ultraviolet

Xyl : xylose

μl : microlitre

Introduction générale

Les plantes médicinales sont un pilier des systèmes de soins traditionnels. Ces dernières représentent une ressource naturelle inestimable en molécules bioactives, employées pour la prévention ou le traitement d'un éventail de pathologies. L'essor récent de la recherche en pharmacognosie et en biotechnologie a relancé l'intérêt scientifique pour ces plantes. En effet, la richesse et la diversité de leurs composés chimiques, dont les polysaccharides, sont des atouts majeurs pour la recherche [1].

Les polysaccharides dérivés de sources végétales constituent une vaste catégorie de biopolymères. Ils sont présents dans de nombreux écosystèmes à l'échelle mondiale. Plusieurs groupes de polysaccharides ont fait l'objet d'études scientifiques, afin d'explorer leur bioactivités spécifique pour la santé humaine. Cette tendance s'est renforcée au cours de la dernière décennie, comme l'atteste l'accroissement notable du nombre de publications dans ce domaine. Les publications et les citations dans les revues scientifiques relatives aux « polysaccharides bioactifs » ont augmenté de manière régulière, en particulier depuis les dernières années [2,3].

Les polysaccharides jouent un rôle important comme des substrats métaboliques qui régulent activement plusieurs processus métaboliques à différentes phases de croissance et du développement des plantes. En particulier, les polysaccharides végétaux ont attiré l'attention des chercheurs dans les domaines alimentaire et biomédical, en raison de leurs diverses activités biologiques et physiologiques. Ils servent de réserves d'énergie, de composants structuraux et de molécules de signalisation. Chez les plantes, les champignons, les bactéries et les algues, ils forment les parois cellulaires [4].

Dans le règne animal, ces composants sont présents dans deux structures distinctes : la matrice extracellulaire et les exosquelettes. Dans le cadre de l'alimentation humaine, les polysaccharides sont reconnus comme des sources d'énergie, comme l'amidon. En outre, elles ont exercé une influence significative sur les propriétés organoleptiques des aliments, notamment sur des aspects tels que la texture et l'astringence [5].

Les polysaccharides caractérisés par une diversité de propriétés physico-chimiques qui les rendent particulièrement adaptés aux applications biomédicales. Leurs avantages notables incluent une excellente biocompatibilité, une biodégradabilité contrôlée, une hydrophilie, une stabilité chimique, ainsi qu'une facilité de modification chimique pour répondre à des besoins spécifiques.

Ce sont des polymères qui offrent une plateforme polyvalente et prometteuse pour le développement de biomatériaux innovants, adaptés aux besoins spécifiques des sciences [6].

Ces biopolymères sont utilisés dans la préparation de matériaux pharmaceutiques, comme agents de libération de médicaments et substituts plasmatiques. Ils trouvent également des applications biologiques dans divers domaines thérapeutiques tels que l'immuno-régulation, l'activité antitumorale, antivirale, anti-inflammatoire, antioxydante et hypoglycémiant. Aussi sont largement étudiés pour le développement de nouveaux produits dans divers secteurs industriels, notamment la cosmétique, l'alimentation, la médecine, la pétrochimie et la papeterie [7].

Les polysaccharides sont constitués généralement de plus de 10 unités de monosaccharides reliées par des liaisons glycosidiques, formant des chaînes linéaires ou ramifiées. Lorsqu'ils sont composés d'un seul type de monosaccharide, on les appelle des homopolysaccharides, tels que l'amidon. En revanche, les polysaccharides composés de différents monosaccharides sont appelés hétéropolysaccharides, comme la gomme arabique, qui est constituée de pentose et de galactose ou les galactomannanes des graines des plantes légumineuses. Généralement sont insolubles dans l'eau, n'ont pas de goût sucré, ne peuvent pas former de cristaux et ne présentent ni réduction ni mutarotation [8].

La classification des polysaccharides repose sur des critères tels que la nature des monomères, le type de liaisons et la structure moléculaire. Ils peuvent être classés selon leur origine (végétale, animale, microbienne ou algale), leur fonction (structurelle ou de réserve), leur charge électrique (neutre, cationique ou anionique), et leur composition (homo- ou hétéropolysaccharides). [9].

Parmi les plantes médicinales les plus étudiées pour leur richesse en polysaccharides, le fenugrec (*Trigonella foenum-graecum*) [10], est une plante légumineuse annuelle, également connue sous le nom de Methi, originaire d'Afrique de l'Ouest et aujourd'hui largement cultivée en Inde, en Chine, au Pakistan, en Turquie, en Égypte et dans les pays méditerranéens. Il s'agit d'un légume important, d'une épice et d'une légumineuse médicinale utilisée sous forme de feuilles et de graines fraîches et séchées dans de nombreuses régions du monde [11].

Traditionnellement, les fenugrecs étaient utilisés dans l'Antiquité Égypte ancienne, en Chine, en Europe et dans la médecine pour traiter les troubles inflammatoires, respiratoires et gastro-intestinaux [12].

Le potentiel thérapeutique des graines de fenugrec dépend de ces composants bioactifs. Des preuves pharmacologiques et cliniques significatives ont mis en évidence l'application médicinale des graines de fenugrec en tant qu'activité antidiabétique, l'activité hypolipidémique, l'activité anti-obésité, l'activité anticancéreuse, l'activité anti-inflammatoire, l'activité antioxydante et l'activité antibactérienne en raison de sa riche composition en composés phytochimiques. Le fenugrec présente une opportunité nutraceutique unique et rare de fournir de multiples avantages pour la santé ainsi que dans des applications médicales qui sont des pratiques anciennes de l'histoire de l'humanité. Les graines de fenugrec sont utilisées aussi dans l'alimentation pour augmenter la saveur et la couleur, et également modifie la texture des matières alimentaires, et peut compléter la thérapie médicale conventionnelle pour les maladies chroniques telles que le diabète de type 2, la dyslipidémie, les inflammations articulaires et gastro intestinales [13].

Le fenugrec renferme plusieurs types de composés, notamment des protéines, des acides aminés, et des flavonoïdes, des saponines stéroïdiennes, de la coumarine, des lipides, des vitamines, des minéraux, et des alcaloïdes, tels que la trigonelle, et surtout en polysaccharides, parmi lesquels les galactomannanes sont les plus abondants. La composition nutritionnelle et les composés bioactifs des graines de fenugrec a été étudiée dans divers travaux, dans lesquels la teneur en humidité (7,5%-10,6%), la teneur en protéines (0,78%-1,5%), la teneur en matières grasses (0,5%-1,6%), la teneur en cendres (0,5%-1,5%), et les galactomannanes (73,6%) [14].

Les galactomannanes sont des polysaccharides hétérogènes comprenant un squelette β - (1 \rightarrow 4) D-mannose ramifié avec des unités monomériques de D-galactose liées α - (1 \rightarrow 6). Ils sont l'une des catégories les plus primaires de gomme d'origine végétale qui sont principalement obtenues à partir de l'endosperme des graines dicotylédones de nombreuses plantes, en particulier les légumineuses [15]. Il est bien admis que le rapport mannose/galactose (M/G) et comportement rhéologique des galactomannanes dans une phase aqueuse et également à la liaison intermoléculaire dans certaines conditions définit la techno-fonctionnalité des galactomannanes, c'est-à-dire sont largement utilisés dans l'industrie en raison de leurs propriétés fonctionnelles appropriées, telles que les capacités d'épaississement, de liaison et de stabilisation [16,17].

Des études récentes ont démontré que les galactomannanes peuvent moduler le stress oxydatif, inhiber la croissance de micro-organismes pathogènes, réduire l'inflammation et exercer des effets cytotoxiques sélectifs contre certaines lignées tumorales. Leur biocompatibilité, leur faible toxicité et leur capacité à être chimiquement modifiés renforcent leur attractivité en tant qu'agents thérapeutiques ou supports d'administration de médicaments [18].

Les galactomannanes de fenugrec (FG) constituent un domaine d'étude qui n'a pas encore été amplement exploité. Des recherches supplémentaires sur leurs propriétés rhéologiques et physico-chimiques s'avèrent nécessaires pour favoriser leur application dans les systèmes alimentaires et non alimentaires [19,20].

Néanmoins, les connaissances scientifiques concernant les galactomannanes extraits des graines de fenugrec cultivées spécifiquement dans les zones sahariennes algériennes restent restreintes. Les recherches antérieures se focalisent en majeure partie sur des variétés cultivées dans d'autres régions géographiques (Inde, Égypte, etc.). Face à ce constat, la présente étude recherche les caractéristiques des polysaccharides des graines de fenugrec des variétés locales algériennes. Elle tente d'évaluer leur potentiel d'application dans les secteurs pharmaceutique, alimentaire et cosmétique, et d'utilise des analyses physico-chimiques, rhéologiques et biologiques, visant à fournir une compréhension approfondie de la nature de ces composés. L'étude porte sur les propriétés bioactives du fenugrec. Il s'agit d'analyser les caractéristiques structurales et leurs activités biologiques.

Chapitre I. *Matériels et méthodes*

I.1.- Principe d'étude

Le travail s'inscrit dans le cadre de l'exploration des ressources naturelles du Sahara algérien et a pour objectif la valorisation des plantes médicinales locales. C'est une partie de la démarche de recherche sur les polysaccharides issus des graines de *Trigonella foenum-graecum* L. (fenugrec), une espèce appartenant à la famille des Fabacées.

L'étude vise à mettre en évidence les caractéristiques spécifiques des polysaccharides extraits du fenugrec originaire du Sahara algérien, en les comparant à ceux provenant d'espèces ou de régions différentes, qui pourraient avoir des applications dans les domaines pharmaceutique, alimentaire ou cosmétique.

Elle porte sur l'extraction des polysaccharides hydrosolubles à partir des graines du fenugrec, la caractérisation est réalisée à l'aide de méthodes physico-chimiques telles que les dosages colorimétriques (dosage des sucres totaux, dosage des protéines, dosage des polyphénols) et par les analyses structurales.

I.2.- Présentation de la région d'étude

La wilaya d'Adrar, située au nord du Sud-Ouest algérien, couvre une superficie de 427 968 km², représentant près de 18 % du territoire national. Elle est composée de 11 daïras et 28 communes, et limitrophe de plusieurs wilayas ainsi que du Mali et de la Mauritanie. La région se caractérise par un ensemble d'oasis formant un arc entre le Grand Erg Occidental et le Grand Erg Oriental, regroupées sous le nom d'Archipel Touatien. La topographie est variée, incluant ergs, plateau du Tademaït, vallées et sebkhas. Les sols, majoritairement peu évolués, sont sableux sauf dans les zones cultivées. La végétation est essentiellement concentrée dans les palmeraies des ksour [21].

Le climat de la région est de type saharien hyperaride, marqué par une très forte évaporation. Les températures varient de 12 à 16 °C en janvier, le mois le plus froid, et atteignent en moyenne 36,2 °C en juillet, le mois le plus chaud. Les précipitations sont très faibles, avec une moyenne annuelle de seulement 10 mm. Cependant, un microclimat plus doux s'installe au niveau des oasis grâce à la présence d'eau et de végétation [22].

Dans la région d'Adrar, les habitants utilisent 50 plantes médicinales issues de 21 familles botaniques pour traiter diverses affections. Les familles les plus représentées sont les Apiaceae, Lamiaceae et Asteraceae et Fabaceae. Les parties les plus utilisées sont les feuilles, les racines, les fleurs et les fruits. Parmi les plantes les plus citées figurent *Thymus vulgaris* pour le rhume et *Mentha piperita* pour la grippe et le *Trigonella foenum-graecum* [23].

I.3.- Choix de la plante

Le choix s'est porté sur la plante *Trigonella foenum-graecum* L., connue sous le nom de Trigonelle Fenugrec, une espèce largement cultivée et utilisée dans les régions sahariennes, notamment pour ses propriétés médicinales reconnues. Cette plante est bien adaptée aux conditions climatiques arides du sud algérien. Par ailleurs, plusieurs études menées sur *Trigonella foenum-graecum* ont mis en évidence sa richesse en composés bioactifs, notamment en polysaccharides, en protéines et en saponines, lui conférant des applications dans les domaines pharmaceutique, nutritionnel et cosmétique.

I.3.1.- Taxonomie de la plante (Jarvis, 2007)

Royaume : Plantae (Plantes)

Sous-catégorie : Tracheobionata

Super division : Spermatophyta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida (Dicotylédones)

Sous-classe : Rosidae

Ordre : Fabales

Famille : Fabaceae

Genre : *Trigonella* L

Espèce : *Trigonella foenum-graceum* L [24]

Nom vernaculaire : Elhalba

I.3.2.- Echantillonnage

Les graines de *T. foenum-graecum* utilisées dans cette étude proviennent de la région d'Adrar, elles ont été acquises le 5 février 2025 auprès d'un herboriste local exerçant dans le marché traditionnel (Souk El Hadjar) de la wilaya de Ouargla. Elles ont été nettoyées afin d'éliminer les impuretés, puis broyées partiellement à l'aide d'un mortier. Elles ont ensuite soumis à une agitation continue pendant une nuit dans l'acétone. Après cette étape, le matériau végétal a été séché à température ambiante afin de le préparer à l'extraction.

I.4.- Extraction des polysaccharides hydrosolubles de *T. foenum-graecum*

L'extraction des polysaccharides à partir de graines de fenugrec a été réalisée selon un protocole précis. Tout d'abord, 30 g de graines broyées et mélangés avec 500 ml d'eau distillée. Le mélange a été agité à l'aide d'un agitateur magnétique à une vitesse de 500 rpm, la température est fixée au 70 °C. Après le mélange a été centrifugé à 4100 rpm pendant 15 mn et les polysaccharides présents dans le surnageant obtenus sont ensuite précipité par l'ajout d'éthanol froid dans un rapport volumique de (1 :3, v/v), puis incubé toute une nuit à 4 °C.

Après précipitation, une seconde centrifugation a été effectuée pendant 10 mn à 4500 rpm. Le culot obtenu a été lavé trois fois avec de l'acétone, puis congelé avant d'être lyophilisé pour obtenir les polysaccharides sous forme sèche, c'est l'extrait brut nommé TFGP. Le rendement d'extraction des polysaccharides hydrosolubles TFGP est calculé suivant la formule :

Rendement d'extraction (%) = (masse des polysaccharides extraits / masse des graines sèches) × 100 [25].

I.5.- Composition biochimique de l'extrait polysaccharidique TFGP

Dosages colorimétriques

Dosage colorimétrique est une technique qui consiste à évaluer quantitativement les couleurs couramment utilisées dans les recherches biochimiques. La couleur peut être produite par n'importe quelle substance lorsqu'elle se lie à des chromogènes formant la couleur. La différence d'intensité de la couleur résulte de la différence d'absorption de la lumière. L'intensité de la couleur est directement proportionnelle à la concentration du composé mesuré.

La longueur d'onde comprise entre 380 nm et 780 nm correspond à la bande visible de la lumière dans le spectre électromagnétique [26].

I.5.1.- Dosage des oses totaux par la méthode de Dubois

I.5.1.1.- Principe

La méthode du Dubois est largement utilisée en raison de sa sensibilité et de sa simplicité. Il s'agit de la méthode phénol-acide sulfurique qui est une méthode colorimétrique simple et rapide pour déterminer les glucides totaux dans un échantillon. L'acide sulfurique concentré décompose tous les polysaccharides, oligosaccharides et disaccharides en monosaccharides. Les pentoses (composés à 5 carbones) sont ensuite déshydratés en furfural, et les hexoses (composés à 6 carbones) en hydroxyméthyl furfural. Ils réagissent ensuite avec le phénol pour produire un complexe coloré de couleur jaune-or [27].

I.5.1.2.- Mode opératoire

Dans des tubes à essai en verre, 200 µl de la solution polysaccharidique à analyser, ainsi que 200 µl des solutions étalons de glucose, sont introduits à des concentrations de (0,0.002,0.004,0.006,0.008,0.01 M).

À chaque tube, 200 µl de solution de phénol sont ajoutés, suivis de l'addition rapide de 1 ml d'acide sulfurique concentré. Les tubes sont ensuite immédiatement vortexés pour homogénéiser le mélange, puis incubés pendant 5 minutes dans un bain-marie sec à 90 °C. Après incubation, les tubes sont laissés à température ambiante, à l'obscurité, durant 30 mn. L'absorbance des échantillons est mesurée à 490 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible.

I.5.2.- Dosage des protéines par la méthode de Bradford

I.5.2.1-Principe

La méthode de Bradford (1976) est largement utilisée pour la quantification rapide et précise des protéines dans les échantillons biologiques. La réaction est induite par l'ajout du bleu de Coomassie G-250 avec les groupements amines des protéines, en particulier les résidus d'acides aminés basiques et aromatiques. En milieu acide, le colorant existe sous plusieurs formes ioniques, dont la forme cationique libre absorbe à 465 nm, lorsqu'il se lie aux protéines, le colorant adopte une forme anionique stable, induisant un changement de couleur du brun au bleu, avec un maximum d'absorbance à 595 nm [28]. Cette variation spectrale est proportionnelle à la concentration en protéines et est mesurée par spectrophotométrie. La concentration est ensuite déterminée à l'aide d'une courbe d'étalonnage établie avec une solution standard d'albumine sérique bovine (BSA) [29].

I.5.2.2-Mode opératoire

✓ Préparation de la gamme étalon de BSA

- La solution mère de sérum albumine bovine (BSA) 0,01% est préparée par dilution de 0,01 g de BSA dans 100 ml d'eau distillée ;
- La gamme est de 0.002% à 0.01%.

✓ Préparation de la solution de bleu de Coomassie

- Pour la préparation du réactif de Bradford, dissoudre précisément 25 mg de bleu de Coomassie G-250 dans 12,5 ml d'éthanol absolu sous agitation ;
- Ajouter ensuite 25 ml d'acide phosphorique,
- Compléter le volume final de la solution à 250 ml par l'eau distillée.

Prélever 2 ml de l'échantillon et le transférer dans un tube à essai, puis ajouter 0,5 ml du bleu de Coomassie. Après homogénéisation par agitation, les tubes sont soumis à une incubation

dans l'obscurité pendant une durée de 15 minutes. L'absorbance de chaque échantillon est ensuite mesurée à 595 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible.

I.5.3.- Dosage des composés phénoliques par la méthode de Singleton

I.5.3.1-Principe

La méthode de Folin-Ciocalteu, décrite par Singleton *et al.* (1965), constitue la méthode de référence pour la quantification des composés phénoliques dans diverses matrices. Cette réaction est basée sur un transfert d'électrons entre des composés phénoliques, qui agissent comme donneurs d'électrons, et le réactif Folin-Ciocalteu, qui est un mélange d'acides phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀) et phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀). La réduction de ce réactif, initialement de couleur jaune, conduit à la formation d'un complexe chromophore bleu, dont l'absorbance maximale se situe à 765 nm [30].

I.5.3.2-Mode opératoire

- ✓ **Préparation de la gamme d'étalon d'acide gallique**
 - 10 mg d'acide gallique dissoudre dans 100 ml d'eau distillée,
 - La gamme d'étalon d'acide gallique est de 0.001 % à 0.01 %,
- ✓ **Préparation de folin dilué 1/10**
- ✓ **Préparation de solution carbonate de sodium 10 %**

Prélever 0,25 ml de l'échantillon et le transférer dans des tubes à essai, puis ajouter successivement 5 ml d'eau distillée et 0,25 ml de réactif de Folin-Ciocalteu préalablement dilué au 1/10. Après homogénéisation, le mélange est laissé à température ambiante pendant 3 min. Ensuite, ajouter 0,5 ml d'une solution de carbonate de sodium (Na₂CO₃) à 10 %, puis agiter délicatement pour homogénéiser l'ensemble, les tubes sont ensuite incubés à l'obscurité pendant 60 mn.

L'absorbance des solutions est mesurée à 750 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible, ce qui permet de quantifier les composés phénoliques présents dans l'échantillon.

I.6.- Test de solubilité

I.6.1.- Principe

Le test de solubilité des polysaccharides repose sur leur capacité à former des liaisons hydrogène avec l'eau. Leur solubilité dépend de la structure, de la stéréochimie et des interactions internes. Lors de l'hydratation, les liaisons entre chaînes sont remplacées par des liaisons avec l'eau, dans un processus progressif et entropique, différent de la dissolution des substances cristallines [31].

I.6.2.- Mode opératoire

Une dispersion liquide à 0,5 % (p/v) a été préparée en ajoutant du TFGP à de l'eau. Elle a été agitée magnétiquement à 30 °C pendant 1 heure, puis centrifugée. Le surnageant a été transféré dans un bécher préalablement pesé et séché à 105 °C pendant 4 heures. La solubilité (%) a été calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Solubilité (\%)} = (W_s / W) \times 100 \%$$

Où W_s représente le poids sec de la fraction soluble et W correspond au poids sec total de la poudre de galactomannanes de fenugrec [32].

I.7.- Test de rouge Congo

I.7.1-Principe

La structure des polysaccharides a été établie par analyse de la transition hélice-boucle. Le rouge Congo est un colorant histologique utilisé pour détecter la conformation en triple hélice de certains polysaccharides. Il provoquant un déplacement du maximum d'absorption (λ_{\max}) de 489 à 520 nm en milieu alcalin, ce qui indique la formation d'un complexe. Cette interaction révèle la structure en triple hélice [33].

I.7.2-Mode opératoire

L'échantillon polysaccharidique TFGP (1,0 mg/ml) a été dissous dans NaOH (0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8 et 0.9 M) et ajouté à la solution de Congo Red (1,0 ml, 90 mM). Le mélange a été complètement réagi à température ambiante pendant 10 minutes. Les spectres ont été enregistrés à l'aide d'un spectrophotomètre ultraviolet (UV), et la longueur d'onde d'absorption maximale a été déterminée.

I.8.- Microscopie électronique à balayage couplée à spectroscopie par dispersion d'énergie des rayons X (MEB-EDX)

I.8.1-Principe

La microscopie électronique à balayage (MEB) permet d'observer la distribution et la caractérisation des composants multiphasiques des échantillons à des échelles allant du micromètre au centimètre. C'est une technique qui repose sur l'observation de l'interaction entre un faisceau d'électrons et la surface à étudier qui provoque l'émission d'un rayonnement électromagnétique dans le domaine des rayons X sous forme de photon X [34,35]. La mesure de l'énergie des photons X émis permet de remonter aux éléments chimiques présents à la surface de l'échantillon observé.

I.8.2-Mode opératoire

Une petite quantité de TFGP en poudre a été déposée sur un support métallique, puis les échantillons ont été fixés et recouverts d'une fine couche d'or à l'aide d'un appareil de pulvérisation cathodique sous vide. Les surfaces adaxiales sont ensuite observées à l'aide d'un microscope électronique à balayage. Des images numériques de haute résolution sont acquises à l'aide d'une station d'imagerie numérique couplée au microscope, permettant une analyse détaillée des caractéristiques morphologiques et de la microstructure de l'échantillon [36].

I.9.- Analyse de TFGP par Diffraction des rayons X (DRX)

I.9.1-Principe

La diffraction des rayons X appliquée permet d'analyser en détail les structures cristallines. La diffraction est principalement employée pour l'identification des différentes phases présentes dans un échantillon. Il s'agit d'une méthode non destructive, adaptée à l'analyse qualitative et quantitative des matériaux polycristallins. Cette approche repose sur les interactions entre la structure cristalline de l'échantillon et des radiations électromagnétiques de faible longueur d'onde [37].

I.9.2- Mode opératoire

La structure des galactomannanes TFGP a été analysée par diffraction des rayons X à grand angle (DRX) à l'aide d'un diffractomètre. L'échantillon a été placé sur un support en aluminium et analysé dans des conditions stabilisées. Les diffractogrammes ont été enregistrés dans une plage angulaire de 5 à 60° (2 θ), à l'aide d'un goniomètre, avec une vitesse de balayage de 5° mn⁻¹. Pour déterminer la cristallinité, l'aire totale diffractée et l'aire correspondant aux pics cristallins ont été obtenues par intégration, après correction des données pour l'absorption. Le rapport entre l'aire cristalline et l'aire totale diffractée a été pris comme indice de cristallinité relative [38].

I.10.- Caractérisation des résidus glycosidiques et Composition en monosaccharides de TFGP

Les polysaccharides présentent des caractéristiques structurelles très variables selon leur source d'origine. La composition en monosaccharides joue un rôle essentiel dans la caractérisation de leur structure, car elle permet de mieux comprendre la diversité et la spécificité de ces macromolécules [39]. Le processus analytique repose tout d'abord sur une étape essentielle de libération complète des monosaccharides à partir des polysaccharides présents dans l'échantillon. Cette hydrolyse permet d'obtenir les oses libres ou leurs dérivés, qui sont ensuite identifiés et quantifiés à l'aide de techniques de séparation et de détection adaptées, telles que la chromatographie ou la spectrométrie, permettant une caractérisation qualitative et/ou quantitative précise du profil en monosaccharides, l'identification des monosaccharides constitutifs des

polysaccharides nécessite la rupture de toutes les liaisons glycosidiques et les monosaccharides libérés sont analysés par HPLC [40].

I.10.1.- Hydrolyse acide des liaisons glycosidiques

I.10.1.1-Principe

L'hydrolyse acide constitue une méthode couramment utilisée pour la dépolymérisation des polysaccharides en monosaccharides. Elle présente l'avantage d'être simple, peu coûteuse et facilement contrôlable, notamment par la neutralisation du milieu réactionnel pour interrompre la réaction. Les acides les plus fréquemment employés dans ce contexte sont l'acide sulfurique, l'acide chlorhydrique et l'acide trifluoroacétique [41]. Cette hydrolyse est généralement conduite à des températures supérieures à 60 °C, pour des durées variables allant de 2 à 6 heures, selon la nature des polysaccharides et le degré de polymérisation recherché. Le bon déroulement de la réaction est assuré par un suivi rigoureux du pH ou de la concentration acide dans le milieu réactionnel. À titre d'exemple, une solution d'acide chlorhydrique à 0,54 M a été utilisée pour hydrolyser certains polysaccharides, tandis que des autres polysaccharides ont été traités à l'aide d'acide trifluoroacétique 0,2 M, permettant l'obtention d'oligosaccharides de différents poids moléculaires [42].

I.10.1.2- Mode opératoire

L'analyse des monosaccharides se repose sur la rupture des liaisons glycosidiques, 40 mg de TFGP sont soumis à une hydrolyse acide dans un tube en verre scellé, par addition de 1 ml d'acide trifluoroacétique (TFA) à 2 M. Le mélange sera incubé dans une étuve à 120 °C pendant 90 minutes. Après refroidissement à température ambiante, ajouté quelques gouttes de méthanol. L'hydrolysate obtenu après séchage, est récupéré par 1,5 ml d'eau ultrapure, puis centrifugé pendant 10 mn. La solution est ensuite filtrée à travers un filtre de porosité 0,22 µm avant l'injection. L'analyse des monosaccharides libérés est réalisée par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) à l'aide d'un système analytique adapté [43].

I.10.2.- Analyse par chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

II.10.2.1 Principe

La chromatographie liquide haute performance (HPLC) est une technique analytique puissante et polyvalente, utilisée pour la séparation, l'identification et la quantification de composés dans des échantillons complexes. Elle est essentielle dans les secteurs pharmaceutique, agroalimentaire, biotechnologique, cosmétique et environnemental [44]. La HPLC permet l'analyse qualitative et quantitative de petites molécules (comme les vitamines, acides aminés, sucres) ainsi que de macromolécules (protéines, polysaccharides) [45]. La méthode consiste à injecter un échantillon liquide dans une phase mobile sous haute pression, qui traverse une colonne remplie d'une phase stationnaire. La séparation repose sur les différences de rétention des analytes, selon leurs interactions physico-chimiques avec les phases mobile et stationnaire. Plusieurs modes chromatographiques sont utilisés selon la nature des composés : phase normale, phase inverse, échange d'ions, exclusion de taille et chromatographie d'affinité [46].

II.10.2.2 Mode opératoire

L'analyse est réalisée par HPLC en mode isocratique, avec une phase mobile composée d'acétonitrile et d'eau ultrapure. Les conditions opératoires incluent un volume d'injection de 10 µl, une température de 35 °C et une durée d'analyse de 30 minutes. Les monosaccharides présents dans l'échantillon hydrolysé sont identifiés par comparaison des temps de rétention avec neuf étalons : glucose (Glc), galactose (Gal), fructose (Fru), arabinose (Ara), mannose (Man), acide glucuronique (A Glc), xylose (Xyl), acide galacturonique (A Gal) et rhamnose (Rha), afin de permettre une analyse quantitative [47].

I.11.- Activités antioxydantes de TFGP

I.11.1.- Test de piégeage de radical libre DPPH

II.11.1.1 Principe

La méthode DPPH repose sur l'utilisation du radical libre stable 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH·) pour évaluer l'activité antioxydante par spectrophotométrie. Le DPPH· est un radical azoté stable présentant une couleur violette intense, due à une large bande

d'absorption visible. Lorsqu'un antioxydant donneur d'hydrogène est ajouté, le radical DPPH· est réduit en sa forme hydrazine (DPPH-H), entraînant une décoloration progressive de la solution (du violet au jaune pâle). L'intensité de la décoloration est proportionnelle à la capacité antioxydante du composé et est mesurée par spectroscopie UV-Vis. Cette méthode est largement utilisée, notamment pour évaluer les capacités antioxydantes de molécules pures ou en chimie des polymères, grâce à sa sensibilité et à la stabilité du radical utilisé [48].

II.11.1.2 Préparation des solutions et des réactifs

- Préparation de la solution mère d'extrait polysaccharidique de concentration $1\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$.
- Préparation de Solution DPPH de 0.1mM .
- Solution d'acide ascorbique est préparé par 30mg de vitamine c dissoudre dans 30ml .

II.11.1.3 Mode opératoire

Une série de solutions TFGP à différentes concentrations ($0,1$ à 1 mg/ml) a été préparée dans de l'eau distillée. Pour chaque échantillon, 1 ml de solution TFGP a été mélangé à 1 ml de solution de DPPH ($0,1\text{ mM}$). Les mélanges ont été incubés à 37 °C pendant 30 mn à l'abri de la lumière et l'acide ascorbique est un contrôle positif. L'absorbance des solutions a été mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis. Le pourcentage d'activité de piégeage des radicaux DPPH a été calculé à l'aide de l'équation suivante :

Activité (%) = $[(AC - AE) / AC] \times 100$ où AC est l'absorbance du témoin (DPPH seul) et AE celle de l'échantillon testé [49].

I.11.2.- Test de piégeage de radical libre ABTS

II.11.2.1 Principe

L'activité de piégeage du radical libre (2,2'-azino-bis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) (ABTS) de l'extrait polysaccharidique TFGP, est une méthode spectrophotométrique couramment utilisée, basée sur la réaction entre un antioxydant et le radical libre ABTS. La méthode se déroule en deux étapes. Tout d'abord, les radicaux ABTS, de couleur vert bleu, sont générés par une réaction d'oxydation avec le persulfate de potassium. Ensuite, les antioxydants

sont ajoutés et, en fonction de leur capacité de transfert d'électrons, le radical ABTS est réduit en un réactif ABTS incolore [50].

II.11.2.2 Préparation des solutions et des réactifs

- Une solution mère d'extrait polysaccharidique a été préparée à une concentration de 1 mg/ml ;
- Le radical ABTS•+ a été généré par mélange de 20 ml de solution d'ABTS (7 mM) avec 10 ml de solution de persulfate de potassium (2,45 mM),
- La solution obtenue a ensuite été incubée (en général à l'obscurité pendant 12 à 16 h à température ambiante) pour permettre la formation complète du radical ABTS•+,
- Avant utilisation, cette solution a été diluée avec de l'eau distillée jusqu'à obtention d'une densité optique de $0,70 \pm 0,02$ à 734 nm, mesurée par spectrophotométrie.

II.11.2.3 Mode opératoire

La solution de cation radicalaire ABTS•+ préalablement préparée (1ml) a été ajoutée à 0.25 ml de solutions de polysaccharides de concentrations variables (0.1 à 1 mg/ml), puis incubé à température ambiante pendant 15 minutes avant de mesurer leur absorbance à 734 nm. La vitamine C a été utilisée comme contrôle positif. L'activité de piégeage du radical cation ABTS•+ a été calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Activité de piégeage du radical ABTS (\%)} = (AC - AE) / AC \times 100$$

AC : absorbance du contrôle ;

AE : absorbance de l'échantillon [51].

Chapitre II. *Résultats et discussion*

II.1.- Rendement polysaccharidique

À partir de 30g des graines de fenugrec sèches, une masse d'extrait équivalente à 5,1573g a été obtenue, correspondant à un rendement de 17,2 %. Des rendements d'extraction de polysaccharides de fenugrec ont été rapportés, compris entre 10 % et 15 % [52,53], qui restent inférieurs au rendement obtenu pour l'extrait TFGP (17,2 %). Bien que ce rendement soit supérieur à ceux mentionnés de polysaccharides de fenugrec, il reste inférieur à d'autres valeurs telles que 18,44 % [54], 22 % [55] et 22,25 % [56]. Les rendements en polysaccharides de fenugrec obtenus par extraction de l'endosperme ou des graines entière broyées varie de 13,6 à 38 %, en fonction de la variété ou du cultivar, ainsi que des méthodes d'extraction utilisées [57].



Figure II.1 : Extrait polysaccharidique TFGP après lyophilisation

II.2.- Composition de l'extrait polysaccharidique hydrosoluble

Les teneurs de l'extrait polysaccharidique TFGP, consignées dans le tableau III.1, en oses totaux, en protéines et en composés phénoliques sont respectivement de 68,60 %, 19,60 % et 3,90%. La teneur en oses totaux (68,60 %) est inférieure à celle rapportée pour d'autres gommes végétales telles que la gomme de guar (75–85 %) et la gomme de caroube (80–85 %), ainsi qu'à celle d'*Astragalus gombiformis* Pomel, dont la composition en oses totaux se situe dans la même fourchette [58]. Ces variations sont attribuées aux différences de structure, et de méthode

d'extraction [59]. Pour la teneur en protéines, TFGP présente un taux de 19,60 %, ce qui est inférieur à celui rapporté par Singh *et al.* (2022), qui ont observé 26,65 % dans les polysaccharides de graines de fenugrec, mais supérieur aux résultats de Zhang *et al.* (2021), où les protéines n'ont pas été détectées après purification [60]. La détection de composés phénoliques dans TFGP à hauteur de 3,90 % diffère des résultats rapportés dans certaines études, où ces molécules ont été totalement éliminées à la suite de procédures de purification plus poussées. Ces différences de composition traduisent l'influence des protocoles d'extraction et de purification sur le profil final de l'extrait, en plus des caractéristiques intrinsèques de la matière première [61].

Tableau II.1: Composition biochimique de l'extrait polysaccharidique TFGP

Rendement d'extraction (m/m)	17.2 %
Oses totaux (m/m)	68.60 ± 0.047%
Protéines (m/m)	19.60 ± 0.019 %
Composés phénoliques (m/m)	3.90 0.0032%

II.3.- Solubilité

Les galactomannanes, et en particulier la gomme de fenugrec, présentent une forte solubilité dans l'eau et ne forment pas d'agrégats insolubles en milieu aqueux [62]. L'extrait de graines de fenugrec (TFGP) se dissout à 72,5 %. Ce résultat est inférieur à 82,82 % de la gomme de fenugrec (FG) mentionné dans les études, mais supérieur à celui de la gomme de graines de sésame (GSG, 70,11 %). Mais il est un peu moins soluble que la gomme de guar (GG, 78,75 %) [63]. Ces différences s'expliquent par plusieurs choses, comme les conditions d'extraction, le degré de pureté, la taille des particules et surtout le degré de substitution en galactose. En effet, plus il y a de galactose dans les galactomannanes ; plus il y a de groupes hydroxyles hydrophiles qui peuvent se

lier à l'eau [64].

II.4.- Test de rouge Congo

L'interaction entre le rouge Congo et l'extrait TFGP a été analysée en présence de concentrations croissantes de NaOH. Les résultats ont montré que λ_{\max} du complexe ne présentait aucune variation significative, quelle que soit la concentration de NaOH utilisée comme l'indique la figure III.2. Ce comportement suggère que l'extrait TFGP ne possède pas de conformation en triple hélice. Ces résultats sont similaires à ceux rapportés dans d'autres études, notamment pour des polysaccharides tels que l'arabinan RGP70–2, isolé à partir de *Rehmannia glutinosa* Libosch. (*R. glutinosa*) [65].

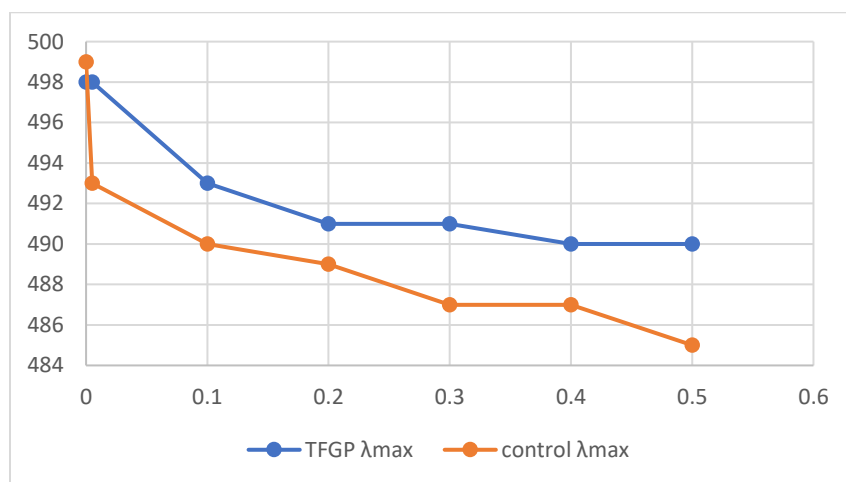


Figure II.2: Représentation graphique des résultats du test de rouge Congo de l'extrait polysaccharidiques TFGP

II.5.- Microscopie électronique à balayage couplée à spectroscopie (MEB)

L'analyse en microscopie électronique à balayage (MEB) du polysaccharide TFGP, illustrée à la Figure III.3, met en évidence une structure spongieuse caractérisée par la présence de nombreuses cavités. Une telle morphologie confère aux polysaccharides hydrosolubles TFGP une aptitude à diverses utilisations industrielles. Par ailleurs, la présence et la répartition de ces cavités

permettent au TFGP d'absorber une quantité importante d'eau lorsqu'il est mis en solution aqueuse [66]. Cette observation est en accord avec les travaux qui ont émis que la présence de telles cavités améliore les propriétés fonctionnelles des polysaccharides, notamment leur solubilité, leur capacité de rétention d'eau et d'huile, ainsi que leurs propriétés émulsifiantes. Ces caractéristiques sont particulièrement recherchées dans les formulations alimentaires [67]. Par ailleurs, la structure et la morphologie de surface des polysaccharides peuvent être influencées par les différentes méthodes de préparation, notamment l'extraction et la purification [68]. La morphologie observée pour l'extrait TFGP suggère un potentiel intéressant pour des applications technologiques, notamment comme agent gélifiant ou stabilisant dans l'industrie agroalimentaire.

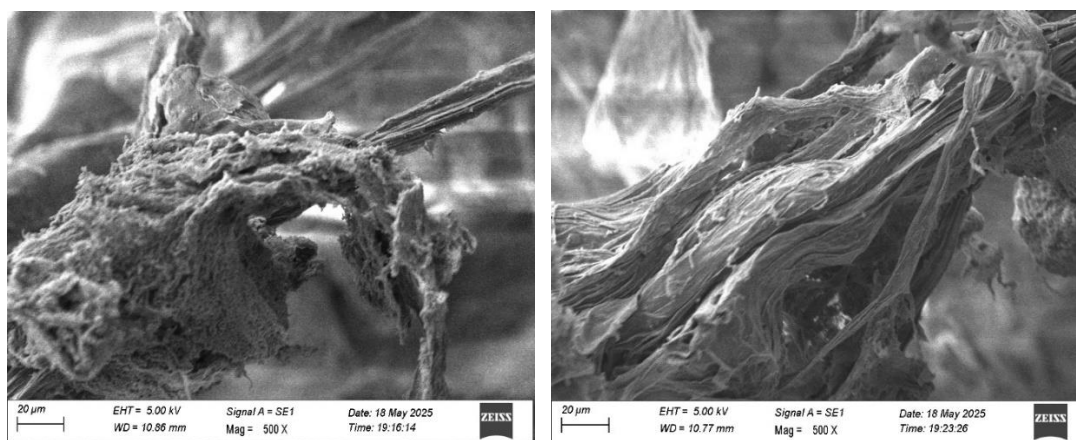


Figure II.3: Analyse par MEB de l'extrait polysaccharidique TFGP

II.6.- Analyse de TFGP par Diffraction des rayons X (DRX)

L'analyse par diffraction des rayons X (XRD) de l'extrait polysaccharidique TFGP a révélé un profil caractéristique d'une structure majoritairement amorphe. Le diffractogramme montre une faible intensité au début, suivie d'un pic relativement marqué à $2\theta \approx 17^\circ$, puis une décroissance progressive accompagnée de pics larges et peu définis. Cette distribution indique la présence d'un faible ordre cristallin localisé, traduisant une structure semi-cristalline à prédominance amorphe. Ce profil reflète un faible degré de cristallinité, similaire à celui observé dans d'autres polysaccharides, comme rapporté par Shabir *et al.* (2017). Ce type de structure est souvent associé

à une solubilité cinétique plus élevée et à une vitesse de dissolution plus rapide [69].

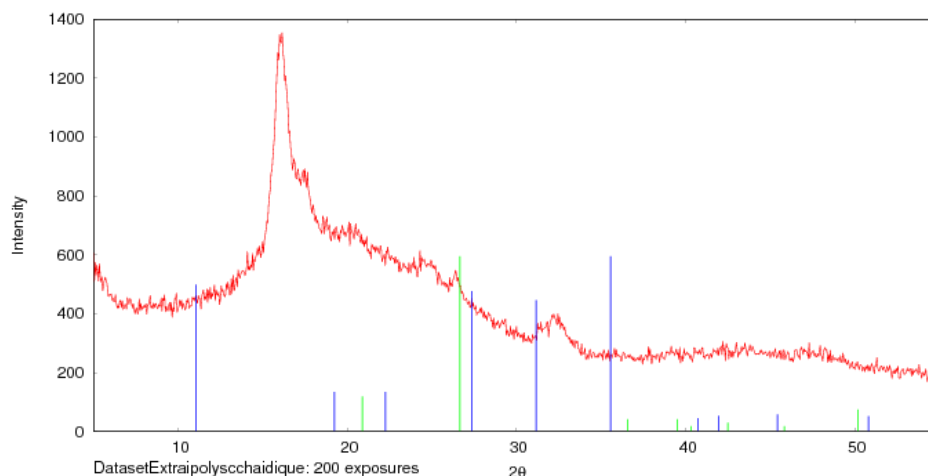


Figure II.4: DRX diagramme de l'extrait polysaccharidique TFGP

II.7.- Composition en monosaccharides de TFGP par HPLC

L'étude des sucres constitutifs des galactomannanes de l'extrait TFGP a révélé du mannose (50,63 %) et du galactose (49,37%), correspondant à un rapport molaire mannose/galactose de 1,02. Ce profil est proche de celui rapporté pour une autre gomme de galactomannanes (GM), présentant respectivement 55,58 % de mannose et 42,12 % de galactose, soit un rapport M/G de 1,32 [70]. La méthode d'extraction appliquée dans une autre étude a permis d'obtenir une composition dominée par le glucose (50,01 %), suivi du xylose (11,06 %) et du rhamnose (9,42 %), alors que le mannose, le galactose et d'autres sucres acides n'étaient présents qu'en faibles proportions [71].

Hellebois *et al.* (2020) ont rapporté que la gomme de fenugrec est principalement constituée de mannose et de galactose, avec de faibles teneurs en arabinose et glucose, et un rapport M/G de 1,18 [72]. Ce résultat est très proche de celui obtenu pour l'extrait TFGP (1,02). En revanche, la gomme de guar (2,00) et la gomme de caroube (2,74) présentent des rapports M/G nettement plus élevés, traduisant une structure plus riche en mannose. Des études comparatives ont également confirmé que la gomme de fenugrec présente des valeurs de M/G plus faibles que celles mesurées pour la gomme de guar (1,65–1,70), la gomme de Tara (3,0), la gomme de caroube (3,7) et la

gomme de *Gleditsia sinensis* (3,55) (Liu *et al.*, 2020 ; Wu *et al.*, 2009) [73,74]. Il convient de noter que la composition en monosaccharides des graines de fenugrec peut varier selon les sous-espèces et les conditions environnementales de culture [75,76].

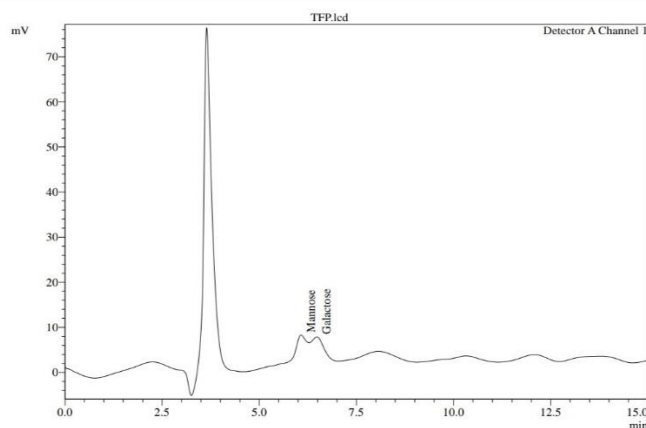


Figure II.5: Chromatogramme par HPLC de l'extrait polysaccharidique TFGP

II.8.- Activités antioxydantes de TFGP

II.8.1.- Test de piégeage de radical libre DPPH

Les résultats obtenus indiquent que l'extrait TFGP exerce une activité antioxydante notable vis-à-vis du radical DPPH, avec une efficacité croissante en fonction de la concentration. En effet, lorsque la concentration varie de 0,1 mg/ml à 1 mg/ml, une augmentation progressive de l'activité de piégeage est observée. À la concentration maximale de 1 mg/ml, les pourcentages d'inhibition du DPPH par le TFGP et l'acide ascorbique atteignent respectivement 89,16 % et 89,29 %.

En comparaison, dans autre étude l'extrait polysaccharidiques de fenugrec présente également une activité antioxydante dose-dépendante, bien que globalement plus faible. À une concentration bien plus élevée de 10 mg/ml, l'inhibition du DPPH par l'extrait est de 73,9 % [56].

Ces résultats suggèrent que le TFGP est plus efficace à plus faible dose. Certaines études ont évalué l'activité antioxydante de polysaccharides de fenugrec (FSPs), qui à 10 mg/ml, présentent une capacité de piégeage de 91 %, légèrement inférieure à celle de l'acide ascorbique

(98,10 %) [61]. Le TFGP présente une activité antioxydante remarquable, comparable à celle de standards comme l'acide ascorbique et supérieure à celle de certains extraits polysaccharidiques testés à des concentrations plus élevées des autres espèces de fenugrec (Tunisie, chine, Inde).

II.8.2.- Test de piégeage de radical libre ABTS

Les résultats obtenus montrent que l'extrait TFGP exerce une activité antioxydante contre le radical ABTS, qui augmente avec la concentration. À 1 mg/ml, son pouvoir inhibiteur atteint 49,2 %, indiquant une efficacité modérée. En comparaison, l'acide ascorbique, utilisé comme référence, présente une capacité de piégeage nettement supérieure, atteignant 99 % à la même concentration.

L'extrait TFGP présente une activité antioxydante contre le radical ABTS+• plus élevée (49,2 % à 1 mg/ml) que les extraits YLP-1, YLP-2 et YLP-3 des graines de *Lupinus luteus* L, qui atteignent respectivement 26,8 %, 40,8 % et 21,4 % à 5 mg/ml. Cela indique que le TFGP a un pouvoir de piégeage plus efficace à une concentration inférieure [77].

Tableau II.2 : Activités antioxydantes de TFGP (DPPH et ABTS)

Concentration de 1 mg/ml	DPPH	ABTS
Acide ascorbique	89,29 %	99%
TFGP	89,16 %	49.2%

Conclusion et perspectives

Les plantes médicinales constituent une source précieuse et durable de composés naturels bioactifs aux multiples propriétés thérapeutiques. Dans ce contexte, l'exploration de nouvelles sources de polysaccharides, en particulier ceux extraits du fenugrec (*Trigonella foenum-graecum*), suscite un intérêt croissant. Obtenus à partir de graines récoltées dans les régions du sud algérien, ces biopolymères naturels présentent un fort potentiel biologique, pouvant offrir des applications innovantes dans les domaines pharmaceutique, nutraceutique et cosmétique.

L'étude du rendement d'extraction et de la composition chimique de l'extrait polysaccharidique issu des graines de fenugrec (TFGP) a mis en évidence l'efficacité du protocole appliqué, aboutissant à un rendement de 17,2 %. Ce résultat, supérieur à plusieurs données rapportées dans la littérature, témoigne de la richesse de cette espèce en polysaccharides hydrosolubles, bien que légèrement inférieur à certains rendements optimaux obtenus dans d'autres études.

Sur le plan biochimique, l'extrait s'est révélé composé majoritairement d'oses totaux (68,60 %), ainsi que de protéines (19,60 %) et de composés phénoliques (3,90 %). Ces proportions reflètent non seulement la complexité structurale des gommages végétales, mais aussi l'influence des techniques d'extraction et de purification sur le profil final de l'extrait.

La solubilité de l'extrait a été mesurée à 72,5 %, ce qui confirme sa nature hydrophile. Ce degré de solubilité peut être attribué à la structure chimique de l'extrait notamment en raison de la présence de groupes hydroxyles qui interagissent avec l'eau et facilitent la dispersion en milieu aqueux. L'analyse structurale par test au rouge Congo n'a révélé aucune variation significative de l'absorbance maximale (λ_{max}) en présence de concentrations croissantes de NaOH. Ce résultat suggère l'absence de conformation en triple hélice dans l'extrait TFGP, indiquant une structure plus amorphe ou désordonnée à l'état natif.

L'analyse morphologique par microscopie électronique à balayage a révélé que l'extrait polysaccharidique TFGP présente une structure spongieuse riche en cavités, ce qui lui confère une forte capacité d'absorption d'eau et des propriétés fonctionnelles intéressantes. Cette morphologie est favorable à des applications technologiques, notamment comme agent stabilisant ou épaississant dans l'industrie agroalimentaire.

En complément, l'analyse structurale par diffraction des rayons X a mis en évidence une organisation majoritairement amorphe, avec une faible cristallinité. Cette structure désordonnée est généralement associée à une bonne solubilité et à une vitesse de dissolution rapide, renforçant encore l'intérêt fonctionnel de l'extrait.

L'étude de la composition en monosaccharides de l'extrait polysaccharidique TFGP a révélé une forte teneur en mannose (50,63 %), suivie de près par le galactose (49,37 %), traduisant un rapport molaire mannose/galactose (M/G) de 1,02.

L'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait polysaccharidique TFGP a été réalisée à l'aide des tests de piégeage des radicaux libres DPPH et ABTS. Les résultats obtenus ont mis en évidence une activité antioxydante dose-dépendante, traduisant une capacité croissante de neutralisation des radicaux avec l'augmentation de la concentration.

Dans le test DPPH, le TFGP a démontré une forte efficacité antioxydante, atteignant un taux d'inhibition de 89,16 % à 1 mg/ml, comparable à celui de l'acide ascorbique (89,29 %), standard de référence. Cette performance souligne le fort pouvoir réducteur de l'extrait, même à faible concentration.

Concernant le test ABTS, l'extrait a montré une activité antioxydante plus modérée, avec une inhibition de 49,2 % à la même concentration. Bien que cette valeur reste inférieure à celle de l'acide ascorbique (99 %).

Les résultats obtenus démontrent que les polysaccharides extraits des graines de fenugrec présentent des propriétés physico-chimiques et biologiques intéressantes, notamment une bonne solubilité, une structure adaptée et une activité antioxydante significative. Ces caractéristiques confirment le potentiel de ces extraits pour des applications thérapeutiques et industrielles.

Perspectives

✓ **Optimisation des procédés d'extraction et purification**

Poursuivre l'amélioration des méthodes d'extraction pour augmenter le rendement et la pureté des polysaccharides.

✓ **Études structurales approfondies**

Réaliser des analyses structurales plus détaillées (RMN, spectrométrie de masse) afin de mieux comprendre la relation structure-fonction des polysaccharides extraits.

✓ **Évaluation des activités biologiques complémentaires**

Étendre les tests biologiques à d'autres activités telles que l'anti-inflammatoire, l'antidiabétique ou antimicrobienne, pour valoriser davantage le potentiel thérapeutique des extraits.

✓ **Valorisation socio-économique locale**

Promouvoir la culture durable du fenugrec dans le Sahara algérien, associée à des chaînes de production locales, afin de soutenir l'économie régionale tout en préservant la biodiversité.

Références bibliographiques

- [01] Guo M., Lv H., Chen H., Dong S., Zhang J., Liu W., He L., Ma Y., Yu H., Chen S., Luo H., 2024. – Strategies on biosynthesis and production of bioactive compounds in medicinal plants. *Chinese Herbal Medicines*, 16(1), 13-26. <https://doi.org/10.1016/j.chmed.2023.01.007>
- [02] Salehi M., Rashidinejad A., 2025. – Multifaceted roles of plant-derived bioactive polysaccharides: A review of their biological functions, delivery, bioavailability, and applications within the food and pharmaceutical sectors. *International Journal of Biological Macromolecules*, 290. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.138855>
- [03] Wang X., Li X., Zhang L., An L., Guo L., Huang L., Gao W., 2023. – Recent progress in plant-derived polysaccharides with prebiotic potential for intestinal health by targeting gut microbiota: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. <https://doi.org/10.1080/10408398.2023.2248631>
- [04] Verma N., Goyal M., Rawat I., 2020. – *Trigonella foenum-graecum* L. (Fenugreek). In: *Medicinal Plants in India: Importance and Cultivation*, January 2020.
- [05] Mekky R.H., et al., 2024. – Metabolic profiling and antioxidant activity of fenugreek seeds cultivars ‘Giza 2’ and ‘Giza 30’ compared to other geographically related seeds. *Food Chemistry: X*, à paraître.
- [06] Ashooriyan P., Mohammadi M., Najafpour Darzi G., 2023. – Development of *Plantago ovata* seed mucilage and xanthan gum-based edible coating with prominent optical and barrier properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 248, 125938. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.125938>
- [07] Garg R. C., 2016. – Fenugreek: Multiple Health Benefits. In: *Nutraceuticals*, Elsevier, pp. 599–617. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802147-7.00044-9>
- [08] Fernandes P. A. R., Coimbra M. A., 2023. – The antioxidant activity of polysaccharides: A structure–function relationship overview. *Carbohydrate Polymers*, 314, 120965. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2023.120965>
- [09] Bouziane G., 2025. – Caractérisation et potentiel biologique des polysaccharides issus

- d'Astragalus gombiformis Pomel (Fabaceae). Thèse de doctorat, 2025.
- [10] Majeed M., Majeed S., Nagabhushanam K., Arumugam S., Natarajan S., Beede K., Ali F., 2018. – Galactomannan from *Trigonella foenum-graecum* L. seed: Prebiotic application and its fermentation by the probiotic *Bacillus coagulans* strain MTCC 5856. *Food Science & Nutrition*, 6(3), 666–673. <https://doi.org/10.1002/fsn3.606>
- [11] Mohammed A. S. A., Naveed M., Jost N., 2021. – Polysaccharides: Classification, chemical properties, and future perspective applications in fields of pharmacology and biological medicine. *Journal of Polymers and the Environment*, 29(8), 2359–2371. <https://doi.org/10.1007/s10924-021-02052-2>
- [12] Zhao T., Yang M., Ma L., Liu X., Ding Q., Chai G., Lu Y., Wei H., Zhang S., Ding C., 2023. – Structural modification and biological activity of polysaccharides. *Molecules*, 28(14), 5416. <https://doi.org/10.3390/molecules28145416>
- [13] Thambiraj S. R., Phillips M., Koyyalamudi S. R., Reddy N., 2018. – Yellow lupin (*Lupinus luteus* L.) polysaccharides: Antioxidant, immunomodulatory and prebiotic activities and their structural characterisation. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.111>
- [14] Garg R.C., 2016. – Chapter 44: Fenugreek – Multiple Health Benefits. In : *Nutraceuticals*, Elsevier.
- [15] Hellebois T., Castéra P., Chassenieux C., 2021. – Cryotropic gel-forming capacity of alfalfa (*Medicago sativa* L.) and fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) seed galactomannans. *Carbohydrate Polymers*, 259, 117745.
- [16] Zhao N., Liu W., Liu L., Yang H., 2019. – Preparation and physical/chemical modification of galactomannan film for food packaging. *International Journal of Biological Macromolecules*, 137, 1060–1067.
- [17] Prajapati V. D., Jani G. K., Moradiya N. G., Randeria N. P., 2013. – Galactomannan: A versatile biodegradable seed polysaccharide. *International Journal of Biological Macromolecules*, 60, 83–92. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.05.017>

- [18] Xie J.H., Jin M.L., Morris G.A., Zha X.Q., Chen H.Q., Yi Y., Li J.E., Wang Z.J., Gao J., Nie S.P., Shang P. & Xie M.Y., 2016. – Advances on bioactive polysaccharides from medicinal plants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(sup1): S60–S84. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1069255>
- [19] Gadkari P.V., Tu S., Chiyarda K., Reaney M.J.T., Ghosh S., 2018. – Rheological characterization of fenugreek gum and comparison with other galactomannans. *International Journal of Biological Macromolecules*. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.07.108>
- [20] Ullah S., Khalil A. A., Shaukat F., Song Y., 2019. – Sources, extraction and biomedical properties of polysaccharides. *Foods*, 8(8), 304. <https://doi.org/10.3390/foods8080304>
- [21] Bellal S.-A., Ghodbani T., Hadeid M., Dari O., 2022. – L'eau et l'agriculture dans un écosystème oasien du Sud-Ouest Algérien : le cas de la wilaya d'Adrar. Les ouvrages du CRASC, pp. 63–77.
- [22] Rahmouni Abdallah, 2019. – Contribution à l'étude des bio-agresseurs aux cultures de tomates dans la wilaya d'Adrar. Mémoire de Master, Université d'Adrar.
- [23] Loumani A., Tahri A., Mediani A., Larbi A. A., Chaouch W. B., Meriama F., Kalloum S., Zahra B., 2022. – Assessment of biodiversity of medicinal plants used in treatments for native people in Adrar, Algeria. *International Journal of Design & Nature and Ecodynamics*, 17(3), 469–473. <https://doi.org/10.18280/ijdne.170319>
- [24] Jarvis C., 2007. – *Trigonella foenum-graecum* L. In: *Order out of Chaos. Linnaean Plant Names and their Types (part T)*. Linnaean Society of London / Natural History Museum, pp. 878-905. DOI: 10.5281/zenodo.291971
- [25] Xie J.-H., Jin M.-L., Morris G. A., Zha X.-Q., Chen H.-Q., Yi Y., Li J.-E., Wang Z.-J., Gao J., Nie S.-P., Shang P. & Xie M.-Y., 2016. – Advances on Bioactive Polysaccharides from Medicinal Plants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(sup1): S60–S84. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1069255>
- [26] Gummadi S., Kommoju M., 2019. – Colorimetric Approaches to Drug Analysis and Applications – A Review. *American Journal of PharmTech Research*, 9(1), 14–37.

<https://doi.org/10.46624/ajptr.2019.v9.i1.002>

- [27] Nielsen S. S., 2010. – Phenol-Sulfuric Acid Method for Total Carbohydrates. In Food Analysis Laboratory Manual, Food Science Texts Series. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1463-7_6
- [28] Kruger N. J., 2002. – The Bradford Method for Protein Quantitation. In The Protein Protocols Handbook, 2nd Edition.
- [29] Bradford M. M., 1976. – A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. Analytical Biochemistry.
- [30] Dominguez-López I., Pérez M., Lamuela-Raventós R. M., 2023. – Total (poly)phenol analysis by the Folin-Ciocalteu assay as an anti-inflammatory biomarker in biological samples. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 64(27), 10048–10054. <https://doi.org/10.1080/10408398.2023.2220031>
- [31] Singh V., Indoria S., Jisha K. J., Gardas R. L., 2021. – Structure and Solubility of Polysaccharides. In: Polysaccharides: Properties and Applications, Scrivener Publishing LLC, pp. 325–336. <https://doi.org/10.1002/9781119711414.ch15>
- [32] Zhu Y., Zhang J., Zhang Y., Zhang Y., 2024. – Study on structure and properties of galactomannan and enzyme changes during fenugreek seeds germination. Carbohydrate Polymers, 327, 121653. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2023.121653>
- [33] Guo X., Kang J., Xu Z., Guo Q., 2021. – Triple-helix polysaccharides: Formation mechanisms and analytical methods. Carbohydrate Polymers, 262, 117962. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.117962>
- [34] Brodusch N., Brahimí S. V., de Melo E. B., Song J., Yue S., Piché N., Gauvin R., 2021. – Scanning Electron Microscopy versus Transmission Electron Microscopy for Material Characterization: A Comparative Study on High-Strength Steels. Scanning, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/5511618>

- [35] Morvan J., Elies P., 2018. – Analyse par la microscopie électronique à balayage de monnaies féodales bretonnes. fhal-01831986f
- [36] Fett W. F., Cooke P. H., 2003. – Scanning electron microscopy of native biofilms on mung bean sprouts. NRC Research Press. <http://ejm.nrc.ca>
- [37] Serna F., 2014. – Diffraction des rayons X et Catalyse. CHIMIE NOUVELLE, N° 116.
- [38] Jiang J.-X., Jian H.-L., Carrasco C., Zhang W.-M., Sun R.-C., 2011. – Structural and thermal characterization of galactomannans from genus *Gleditsia* seeds as potential food gum substitutes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(4), 732–737. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4243>
- [39] Zhao M., Kuang F., Zhang Y., Lv G., 2024. – Effects of Hydrolysis Condition and Detection Method on the Monosaccharide Composition Analysis of Polysaccharides from Natural Sources. *Separations*, 11(1), 2. <https://doi.org/10.3390/separations11010002>
- [40] Liu D., Tang W., Yin J.-Y., Nie S.-P., Xie M.-Y., 2021. – Monosaccharide composition analysis of polysaccharides from natural sources: Hydrolysis condition and detection method development. *Food Hydrocolloids*, 116, 106641.
- [41] Yan X., 2014. – HPLC for carbohydrate analysis. In Y. Zou (Ed.), *HPLC: Principles, Practices and Procedures*, pp. 22. Nova Science Publishers.
- [42] Moura F. A., Macagnan F. T., da Silva L. P., 2015.– Oligosaccharide production by hydrolysis of polysaccharides: a review. *International Journal of Food Science and Technology*, 50, 275–281. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12681>
- [43] Liu D., Tang W., Yin J. Y., Nie S. P., Xie M. Y., 2021. – Monosaccharide composition analysis of polysaccharides from natural sources: Hydrolysis condition and detection method development. *Food Hydrocolloids*, 116, 106641. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106641>
- [44] Ali A. H., 2022. – High-Performance Liquid Chromatography (HPLC): A review. *Annals of Advances in Chemistry*, 6, 010-020. <https://doi.org/10.29328/journal.aac.1001026>

- [45] Lozano-Sánchez J., Borrás-Linares I., Sass-Kiss A., Segura-Carretero S., 2018. – Chromatographic Technique: High-Performance Liquid Chromatography (HPLC). In: Modern Techniques for Food Authentication, 2nd ed., Elsevier, pp. 459–526. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814264-6.00013-X>
- [46] Reuhs B. L., 2017. – High-Performance Liquid Chromatography. In Food Analysis, Food Science Text Series, Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-319-45776-5_13
- [47] Sadaphal P., Dhamak K., 2022. – Review article on high-performance liquid chromatography (HPLC) method development and validation. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research, 74(03), 23–29. <https://doi.org/10.47583/ijpsrr.2022.v74i02.003>
- [48] Gulcin İ., Alwasel S. H., 2023. – DPPH Radical Scavenging Assay. Processes, 11(8), 2248. <https://doi.org/10.3390/pr11082248>
- [49] Brand-Williams W., Cuvelier M. E., Berset C., 1995. – Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT - Food Science and Technology, 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- [50] Haque M. A., Morozova K., Ferrentino G., Scampicchio M., 2021. – Electrochemical Methods to Evaluate the Antioxidant Activity and Capacity of Foods: A Review. Electroanalysis, 33(6), 1419–1435. <https://doi.org/10.1002/elan.202060600>
- [51] Zhu Z., Chen J., Chen Y., Ma Y., Yang Q., Fan Y., Fu C., Limsila B., Li R., Liao W., 2022. – Extraction, structural characterization and antioxidant activity of turmeric polysaccharides. LWT, 154, 112805. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112805>
- [52] Dhull S. B., Kaur M., Sandhu K. S., 2020. – Antioxidant characterization and in vitro DNA damage protection potential of some Indian fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) cultivars: Effect of solvents. Journal of Food Science and Technology, 57(9), 3457–3466. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04380-y>
- [53] Rashid F., Hussain S., Ahmed Z., 2018. – Extraction, purification and characterization of

- galactomannan from fenugreek for industrial utilization. *Carbohydrate Polymers*, 180, 88–95. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.10.025>
- [54] Bandyopadhyay P. K., Nayak A. K., 2023. – Thiolation of Fenugreek Seed Polysaccharide; Utilization as a Novel Biomucoadhesive Agent in Drug Delivery. *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 15(1), 290–297. <https://dx.doi.org/10.22159/ijap.2023v15i1.46459>
- [55] Brummer Y., Cui S. W., Wang Q., 2003. – Extraction, purification and physicochemical characterization of fenugreek gum. *Food Hydrocolloids*, 17, 229–236.
- [56] Ktari N., Trabelsi I., Bardaa S., Triki M., Bkhairia I., Ben Slama-Ben Salem R., Nasri M., Ben Salah R., 2017.– Antioxidant and hemolytic activities, and effects in rat cutaneous wound healing of a novel polysaccharide from fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) seeds. *International Journal of Biological Macromolecules*. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.11.091>
- [57] Shukla A. K., Kumar M., Bishnoi R. S., Jain C. P., 2017. – Application Of Fenugreek Seed Gum: In Novel Drug Delivery. *Asian Journal of Biomaterial Research*, 3(6), 1–10. <http://www.ajbr.in/>
- [58] Bouziane. G., Henni, A., Bouricha, M., Boual, Z., Belkhalifa, H., Bachari, K., & Didi Ould El Hadj, M., 2024. – A new galactomannan extracted from the seeds of *Astragalus gombiformis* Pomel (Fabaceae) and its utilization in the biosynthesis of silver nanoparticles. *Process Biochemistry*, 136, 48–59. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2023.11.009>
- [59] Dhull, S. B., Bamal, P., Kumar, M., Bangar, S. P., Chawla, P., Singh, A., Mushtaq, W., Ahmad, M., Sihag, S., 2023. – Fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) gum: A functional ingredient with promising properties and applications in food and pharmaceuticals—A review. *Legume Science*, 5, e176. <https://doi.org/10.1002/leg3.176>
- [60] Yasothai R., 2021. – Chemical composition of fenugreek (*Trigonella foenumgraecum* L.) seed and galactomannan depleted fenugreek residue. *The Pharma Innovation Journal*, 10(7), 944–947. <http://www.thepharmajournal.com/>
- [61] Ghasemi Kia A., Ganjloo A., Bimakr M., 2018. – A Short Extraction Time of Polysaccharides

- from Fenugreek (*Trigonella foencem graecum*) Seed Using Continuous Ultrasound Acoustic Cavitation: Process Optimization, Characterization and Biological Activities. *Food and Bioprocess Technology*. <https://doi.org/10.1007/s11947-018-2178-2>
- [62] Garti N., Madar Z., Aserin A., Sternheim B., 1997. – Fenugreek Galactomannans as Food Emulsifiers. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 30, 305–311.
- [63] Liu, Y., Lei, F., He, L., Xu, W., Jiang, J., 2020. – Physicochemical characterization of galactomannans extracted from seeds of *Gleditsia sinensis* Lam and fenugreek. Comparison with commercial guar gum. *International Journal of Biological Macromolecules*, 158, 1047–1054. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.04.208>
- [64] Pollard M. A., Fischer P., 2006. – Partial aqueous solubility of low-galactose-content galactomannans—What is the quantitative basis? *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 11, 184–190. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cocis.2005.12.001>
- [65] Zhang H. , Yue, Y., Zhang, Q., Liang, L., Li, C., Chen, Y., Li, W., Peng, M., Yang, M., Zhao, M., Cao, X., Zhong, L., Du, J., Wang, Y., Zhou, X., Shu, Z.2023. – Structural characterization and anti-inflammatory effects of an arabinan isolated from *Rehmannia glutinosa* Libosch. *Carbohydrate Polymers*, 303, 120441. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.120441>
- [66] Trabelsi, I., Ben Slima, S., Ktari, N., Bouaziz, M., Ben Salah, R., 2021. – Structure Analysis and Antioxidant Activity of a Novel Polysaccharide from Katan Seeds. *BioMed Research International*, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/6349019>
- [67] Kaushik, P., Dowling, K., Adhikari, R., Barrow, C. J., & Adhikari, B., 2017. – Effect of extraction temperature on composition, structure and functional properties of flaxseed gum. *Food Chemistry*, 215, 333–340. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.137>
- [68] Nep E. I., Conway B. R., 2011. – Physicochemical characterization of grewia polysaccharide gum: Effect of drying method. *Carbohydrate Polymers*, 84(1), 446–453. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.12.005>
- [69] Shabir, F., Erum, A., Tulain, U. R., Hussain, M. A., Ahmad, M., Akhter, F., 2017. –

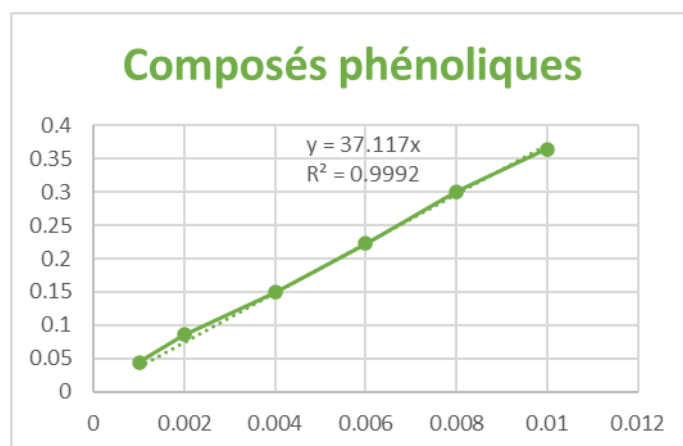
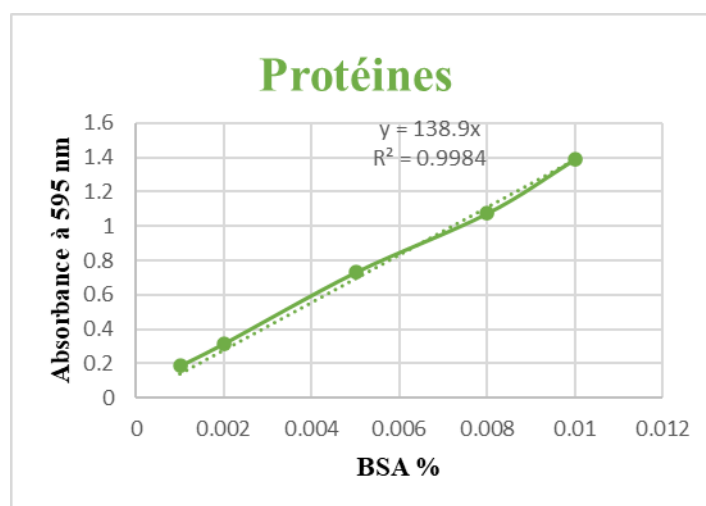
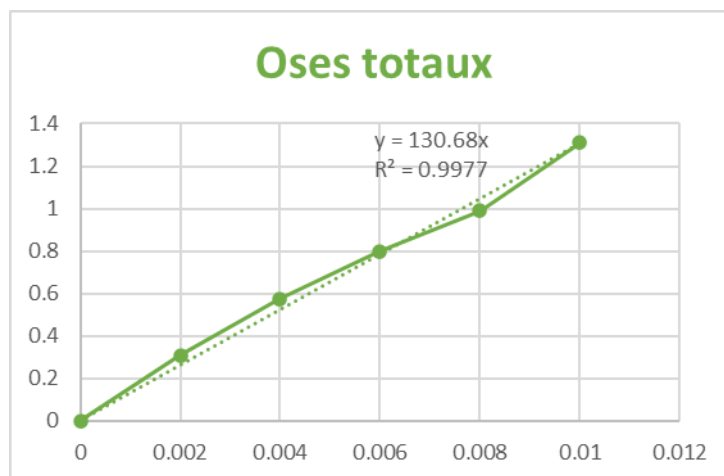
- Preparation and characterization of pH sensitive crosslinked Linseed polysaccharides-co-acrylic acid/methacrylic acid hydrogels for controlled delivery of ketoprofen. Designed Monomers and Polymers, 20. <https://doi.org/10.1080/15685551.2017.1368116>
- [70] Srinivasa U. M., Naidu M. M., 2021. – Selective extraction of galactomannan from fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) seed husk and its enzyme inhibitory potential associated with hyperglycaemia. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(11), 4429–4861. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11121>
- [71] Mohammadi Lindi, A., Gorgani, L., Mohammadi, M., Hamedi, S., Najafpour Darzi, G., Cerruti, P., Fattahi, E., Moeini, A., 2024. – Fenugreek seed mucilage-based active edible films for extending fresh fruit shelf life: Antimicrobial and physicochemical properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 269 (Part 2). <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.132186>
- [72] Hellebois T., Soukoulis C., Xu X., Hausman J. F., Shaplov A., Taoukis P. S., Gaiani C., 2020. – Structure conformational and rheological characterisation of alfalfa seed (*Medicago sativa* L.) galactomannan. *Carbohydrate Polymers*, 256, 117394.
- [73] Liu Y., Lei F., He L., Xu W., Jiang J., 2020. – Physicochemical characterization of galactomannans extracted from seeds of *Gleditsia sinensis* Lam and fenugreek. Comparison with commercial guar gum. *International Journal of Biological Macromolecules*, 158, 1047–1054. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.04.208>
- [74] Wu Y., Cui W., Eskin N. A. M., Goff H. D., 2009. – An investigation of four commercial galactomannans on their emulsion and rheological properties. *Food Research International*, 42(8), 1141–1146. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.05.015>
- [75] McCormick, K. M., Norton, R. M., Eagles, H. A., 2009. – Phenotypic variation within a fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) germplasm collection. II. Cultivar selection based on traits associated with seed yield. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 56, 651–661. <https://doi.org/10.1007/s10722-008-9391-1>
- [76] Dhull P., Bamal M., Kumar S. P., Bangar P., Chawla A., Singh W., Mushtaq M., Ahmad S., Sihag S., 2023. – Fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) gum: a functional ingredient with

promising properties and applications in food and pharmaceuticals — a review. *Legume Science*, 5, e176.

- [77] Rajesh Thambiraj, S., Phillips, M., Rao Koyyalamudi, S., Reddy, N., 2018. Yellow lupin (*Lupinus luteus* L.) polysaccharides: Antioxidant, immunomodulatory and prebiotic activities and their structural characterization. *Food Chemistry*. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.111>

Annexe

Annexe 1 : Courbes étalons pour les dosages colorimétriques



Caractérisation et activité biologique d'extrait polysaccharidique issue des graines de plante médicinale

Résumé

Cette étude vise à explorer les caractères spécifique et activité antioxydante des polysaccharides hydrosolubles issus des graines de fenugrec (*Trigonella foenum-graecum*) récoltées dans le Sahara algérien. L'extrait obtenu (TFGP) présente un rendement massique de 17,2 %. L'analyse chimique a révélé des teneurs de 68,60 % en oses totaux, 19,60 % en protéines et 3,90 % en composés phénoliques. L'extrait a une solubilité de 72,5 % et une structure amorphe avec un faible ordre cristallin localisé, comme le montre l'analyse par DRX. L'observation par MEB met en évidence une morphologie spongieuse, caractérisée par la présence de cavités. L'étude spectroscopique n'a révélé aucune variation significative du λ_{\max} lors de l'interaction avec le rouge Congo, suggérant l'absence de conformation en triple hélice. L'analyse en monosaccharides par HPLC a montré que le galactomannanes TFGP est constitué de mannose (50,63 %) et de galactose (49,37 %), traduisant un rapport molaire mannose/galactose (M/G) de 1,02. Selon les tests de DPPH, d'ABTS, TFGP semblaient avoir des propriétés antioxydantes remarquables.

Mots clés : Polysaccharides, fenugrec (*Trigonella foenum-graecum*), galactomannane, caractérisation, activité antioxydante

Characterization and biological activity of polysaccharide extract from Medicinal Plant Seeds

Abstract

This study aims to explore the specific characteristics and antioxidant activity of water-soluble polysaccharides extracted from fenugreek seeds (*Trigonella foenum-graecum*) harvested in the Algerian Sahara. The obtained extract (TFGP) exhibited a mass yield of 17.2%. Chemical analysis revealed contents of 68.60% total sugars, 19.60% proteins, and 3.90% phenolic compounds. The extract showed a solubility of 72.5% and an amorphous structure with a low degree of localized crystallinity, as demonstrated by XRD analysis. SEM results revealed a spongy morphology characterized by the presence of cavities. Spectroscopic study showed no significant shift in λ_{\max} upon interaction with Congo red, suggesting the absence of a triple-helix conformation. Monosaccharide analysis by HPLC, indicated that the TFGP galactomannans are mainly composed of mannose (50,63 %) and galactose (49,37 %), with a mannose/galactose (M/G) ratio of 1,02. According to DPPH and ABTS assays, TFGP appeared to possess remarkable antioxidant properties.

Keywords: Polysaccharides, fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*), galactomannan, characterization, antioxidant activity

التوصيف والنشاط البيولوجي لمستخلص عديد السكاريد مستخلص من بذور النبات الطبي

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى استكشاف الخصائص المحددة والنشاط المضاد للأكسدة لبوليسكاريدات قابلة للذوبان في الماء مستخرجة من بذور الحلبة (*Trigonella foenum-graecum*) التي جُمعت من صحراء الجزائر. أظهر المستخلص الناتج (TFGP) نسبة عائد كتلي قدرها 17.2%. كشفت التحليلات الكيميائية عن محتويات من السكريات الكلية بنسبة 68.60%، والبروتينات بنسبة 19.60%، والمركبات الفينولية بنسبة 3.90%. أظهر المستخلص قابلية ذوبان بنسبة 72.5% وتركيباً غير متبلور مع درجة منخفضة من البلورية الموضعية، كما بين تحليل حيود الأشعة السينية (XRD). أظهرت الميكروسكوبية الإلكترونية الماسحة (SEM) مورفولوجيا إسفنجية مميزة بوجود تجاويف. أظهرت الدراسة الطيفية عدم وجود تغيير كبير في λ_{max} عند التفاعل مع Congo red، مما يشير إلى غياب تركيب اللولب الثلاثي (Triple-helix conformation). أظهرت تحاليل السكريات الأحادية HPLC أن جلاكتومانان لمستخلص TFGP تتكون بشكل رئيسي من مانوز بنسبة (50,63%) و جلاكتوز بنسبة (49,37%) مع نسبة مانوز/جلاكتوز تبلغ 1,02. وفقاً لاختبارات DPPH و ABTS، بدا أن TFGP يمتلك خصائص مضادة للأكسدة ملحوظة.

الكلمات المفتاحية: عديد السكاريد، الحلبة (*Trigonella foenum-graecum*)، جلاكتومانان، التوصيف، النشاط

المضاد للأكسدة.