

N° Ref :.....

Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF-Mila

Institut des Sciences et de la Technologie
Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire préparé En vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Biotechnologie
Spécialité : Biotechnologie végétale

Thème :

**L'activité biologique des extraits aqueux et
méthanoliques chez *Trigonella foenum-graecum* L.**

Présenté par :

- BRAHMA Ahlem
- SABOUNI Hadjira
- SOUAYEB Ilham

Devant le jury :

Président : BERRABAH Hicham

M.C.B. Centre Universitaire de Mila.

Examinatrice : BOUKEZZOULA Fatima

M.C.A. Centre Universitaire de Mila.

Promoteur : YAHIA Abdelouhab

Pr. Centre Universitaire de Mila.

Année Universitaire : 2021/2022

لَا إِلَهَ إِلَّا اللَّهُ
مُحَمَّدٌ رَسُولُ اللَّهِ

Remerciement

*Avant toute chose nous tenons à remercier **ALLAH** le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force, la volonté, la santé, la patience et le courage d'accomplir ce modeste travail.*

Au terme de ce travail, nous avons le plaisir de remercier sincèrement toutes les personnes qui ont participé à la réalisation de ce travail.

*En premier lieu, Nous exprimons nos profonds remerciements, nos vives reconnaissances et nos sincères gratitudes à **Mr YAHIA Abdelouhab**, pour avoir accepté de nous encadrer et pour ses conseils et ses précieuses orientations pour nous avoir accordée sa confiance, ainsi que le temps qu'il nous a consacré pour notre travail.*

*Nous remercions sincèrement **Mr BERRABAH Hichem**, pour nous avoir fait l'honneur d'accepter d'être le président du jury. Un grand merci à **M^{me} BOUKEZOULA Fatima**, d'avoir accepté d'examiner et juger ce modeste travail.*

*Nous n'oublions pas de remercier infiniment **M^{me} AMMARI Salima** et **M^{me} BENSERADJ Wafa**, pour nous avoir guidés et aidés à la réalisation de l'activité antibactérienne et qui nous donné les souches bactériennes.*

Également nous remercions infiniment nos parents, qui nous encouragé et aidé à arriver à ce stade de nos formation.

*Nous remercions également tous nos enseignants, nos collègues de la promotion **2017-2022**, et les administrateurs du département des Sciences de la Nature et de la Vie. Nous ajoutons des remerciements groupés à tous les techniciens des laboratoires de centre universitaire de Mila.*

Nos remerciements vont également à tous ceux qui ont contribué de loin ou de près à la réalisation et la réussite de ce travail avec leur soutien et encouragement.

Merci 

Hadjira ... Ilham et Ahlem

Dédicace

*Je rends grâce à **ALLAH** de m'avoir donné le courage, la volonté et la sagesse d'être patient dans mes études et d'atteindre le frisson de la réussite.*

C'est avec profonde gratitude et sincères remerciements que je dédie ce modeste travail :

*À ma mère ♥**Monira**♥, mon amour, la lumière de mes yeux et la joie de mon cœur... à mon premier professeur qui m'a soutenue et encouragée tout au long de mon parcours académique ... à celle qui n'a ménagé aucun effort pour me rendre heureuse.*

*À mon père ♥**Messaoud**♥, mon idole, pour qui je suis fière d'être sa fille.*

Je suis la grâce à vous, ce succès est votre succès ... Je vous dois beaucoup, un mot de remerciement ne vous donne pas votre droit que Dieu te bénisse pour moi.

*À ma force et mon soutien dans la vie après mes parents, mes chers frères ♥**Youcef etThamir**♥.*

*À mon grand-père paternelle ♥**Elhadj lakhdar**♥la personne que je n'arrive pas à trouver les mots pour remercier, merci infiniment de m'avoir aidé à atteindre ce succès, et sa femme ♥**Zaghda** ♥.que dieu prolonge votre vie*

*À mon grand père et ma grande mère maternelle ♥**Mostapha et Djamila**♥.Merci d'être à mes côtés tout le temps que dieu prolonge votre vie.*

*À toutes mes tantes maternelles ♥**Afaf, Khalida,Aicha et Halouma**♥ et ses enfant sur leur tête ♥**Asma et Aya** ♥.*

*À tous mes oncles maternel ♥**Ammar, Fateh, Ibrahim et zinou**♥et ses femmes et ses enfants. Merci vivement de vos encouragements♥.*

*À mes tantes paternels ♥**Nora, Souaad, Soraya, Aicha et Sabrina** ♥.*

À toute ma famille ♥

*À mes amies ♥**Ferial, Rayen, chourouk, Asma, Rima, Maroua, Sara et Noujoud**♥.*

*À mon trinôme ♥**Ilham et Ahlem**♥qui sont partagées avec moi les moments difficiles pour réaliser ce travail.*

♥À tous ceux qui ont contribué à ma réussite de près ou de loin et qui ont participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail ♥.

Merci 

Hadjira ♥

Dédicaces

♥Avant tout, nous remercions **Allah** tout puissant qui nous avons donné le courage, la force et la volonté afin de pouvoir accomplir ce travail♥.

Je dédie ce modeste travail en signe de respect, de reconnaissance et de gratitude :

♥À mes très chers parents « **Fadila et Azzeddine** », que j'admire beaucoup, qui m'ont toujours aidés dans ma vie et qui n'ont cessés de m'encourager et de me soutenir tout au long de mes études, que dieu les garde en bonne santé♥.

♥À mes adorable frères « **Nedjib** et à sa femme **Djenat** et son fils **Mohemd yanis**♥, mon petit frère ♥**Sabar**♥», et mes sœurs «**Nedjat, Siham et Karima** » ♥.

♥À mon fiancé: **Hamza**, Merci vivement de vos encouragements♥.

♥À ma famille: **SOUAYEB et BENNIA**♥.

♥À ma belle-famille **HAMLA** ♥35♥.

♥À mes cousins **Nadia**♥**Abdelrazak** et leur femme **Nawal**♥, Merci vivement de vos encouragements♥.

♥À ma tante **Habiba** et mon oncle **Eliid**, que dieu lui fasse miséricorde♥.

♥À tous toutes mes amies surtout **BOUCHEKOUT Chaima** qui n'a pas laissé ma main une seconde durant ces années d'études, merci ♥♥ et mon trinôme **Hadjira et Ahlem** qui sont partagées avec moi les moments difficiles pour réaliser ce travail♥.

♥À tous mes collègues de la promotion Biotechnologie végétal, 2017 – 2022, Merci pour tous les bons moments que nous avons partagés♥.

Merci 

Ilham ♥

Dédicace

*Je rends grâce à mon dieu de m'avoir donné le courage, la volonté et la sagesse d'être
patiente dans mes études*

*♥ Je dédie ce travail de recherche en premier lieu à ma bien aimée, mon amour, ma vie à
celle qui donne de l'amour, du don et du sacrifice, à celle qui est partie et tout beau avec elle.*

*♥ À ma défunte mère ♥ qui n'a pas pu aujourd'hui assistée à ma soutenance mais qui a été
toujours présente par son âme.*

*Je dédie mon cher père ♥ **Abde lkarim** ♥ qui m'a encouragé par son patience et ses prières.*

*À mes chers frères et sœurs ma force et ma fierté pour leurs soutiens tout long de mon
parcours universitaire*

*♥**Hafida**♥**Abdelhakim**♥ **Kamel** ♥ **Wassila** ♥ **Houria** ♥ **Mourad** ♥ **Ilyas** ♥*

***Souhaib** ♥ **Sofiane**.*

À mon espoir

*♥**Abir** ♥**chouaibe** ♥**Alaa**♥**Ritadj** ♥ **Raouf** ♥**Israa**♥**Loudjaïne**♥ **Mohamed** ♥**Yahya** ♥**chame**♥*

Khalil** ♥**Yamen** ♥**Youcef

*À toute ma famille surtout ma tante ♥ **Halima** ♥**Karima**♥**Asma**.*

*À tous mes amies surtout **Khadidja** ♥*

Merci 

***Ahlem**♥*

Liste des figures

Figure 01 : Graines (A) et feuilles (B) de <i>Trigonella foenum-graecum</i> L.	5
Figure 02 : Cycle végétatif du fenugrec	7
Figure 03 : Différentes classes des composés phénoliques.....	12
Figure 04 : Acides hydroxybenzoïque (A) et hydroxycinnamique (B).....	13
Figure 05 : Les principales familles des flavonoïdes	14
Figure 06 : Structure de tannins hydrolysables (A) et de tannins condensés (B)	15
Figure 07 : Structure chimique des acides coumariques	16
Figure 08 : Structure de base des alcaloïdes	17
Figure 09 : Structure chimique de Cholestérol.....	18
Figure 10 : Structure d'une bactérie	23
Figure 11 : Séchage et broyage du <i>Trigonella foenum-graecum</i> L.....	28
Figure 12 : Protocole d'extraction par macération des extraits méthanoliques	30
Figure 13 : Protocole d'extraction par macération des extraits méthanoliques et extrait aqueux	32
Figure 14 : Préparation de milieu Mueller Hinton (MH).	36
Figure 15 : Préparation de milieu Bouillon Nutritif (BN).....	37
Figure 16 : Préparation de l'eau physiologique.	37
Figure 17 : Préparation des disques d'aromatogramme.....	38
Figure 18 : Stérilisation du matériel à l'autoclave.	38
Figure 19 : Réactivation des souches bactériennes.	39
Figure 20 : Repiquage des souches bactériennes.	39
Figure 21 : La dilution d'extraits.	40
Figure 22 : Préparation de l'inoculum bactérien.	41
Figure 23 : Coulage de milieux de culture MH.....	41

Figure 24 : Ensemencement bactérienne.....	42
Figure 25 : Dépôts des disques (A) et l'injection des extraits (B).	43
Figure 26 : Zones d'inhibition des différentes souches bactériennes traitées par différentes concentrations d'extrait méthanolique.	54



Liste des tableaux

Tableau 01 : La composition chimique de graine de fenugrec	6
Tableau 02 : L'activité biologiques des quelques métabolites secondaires.....	20
Tableau 03 : Résultats des tests phytochimiques des graines de <i>Trigonella foenum-graecum</i> L.	45
Tableau 04 : Récapitulatif regroupant les rendements des extraits de <i>Trigonella foenum-graecum</i> L.	49
Tableau 05 : Diamètresdes zones d'inhibition des différents extraits méthanoliques (<i>B.cereus</i>).	51
Tableau 06 : Diamètres des zones d'inhibition des différents extraits méthanoliques (<i>S.aureus</i>).	52
Tableau 07 : Diamètres des zones d'inhibition des différents extraits méthanoliques (<i>P.aeruginosa</i>).	53
Tableau 08 : Diamètres des zones d'inhibition des différents extraits méthanolique (<i>E. coli</i>).	53



Liste des abréviations

- ° : Degré.
- C: Celsius.
- Secs : seconde
- min : Minute
- h : Heure.
- G : Gramme.
- mg : Milli gramme.
- L : lettre.
- ml : Millilitre.
- mm : Millimètre.
- Cm : Centimètre.
- W : Watt.
- HZ : Hertz.
- V : Volume.
- UV : Ultra-Violet.
- µl : Microlitre.
- % : Pourcentage.
- T0 : Dilution 100%.
- ½ : Dilution 50%.
- ¼ : Dilution 25%.
- ⅛ : Dilution 12.5%.
- C : Concentration
- ICM : Concentration minimal inhibitrice.
- C : Carbone.
- Gr : Graines.
- T° : Température.
- N° : Numéro.
- T : Témoin.
- BN : Bouillon Nutritif.

- **MH** : Mueller Hinton.
- **SM** : Solution mère.
- **R** : Masse de l'extrait sec.
- **M₀** : Masse en gramme du matériel.
- **M** : Masse en gramme de l'extrait sec résultant.
- **Extr** : extrait.
- ***E.coli*** : *Escherichia coli*.
- ***S.aureus*** : *Staphylocoques aureus*.
- ***P.aeruginosa*** : *Pseudomonas aeruginosa*.
- ***B.cereus*** : *Bacillus cereus*.
- **HCl** : Acide chlorhydrique.
- **MeOH** : Méthanol.
- **NaOH** : Hydroxyde de sodium.
- **NH₄OH** : Ammoniaque.
- **FeCl₃** : Chlorure ferrique.
- **KOH** : Hydroxyde de potassium.
- **H₂O** : L'eau.
- **Ca** : Calcium.
- **Mg** : Magnésium.
- **ATP** : AntibioGramme.
- **LPS** : Lipo polysaccharides.
- **ATCC** : American Type Culture C.

Résumé

Le fenugrec (*Trigonella foenum-graecum* L.) est une herbacée annuelle appartenant à la famille des fabacées. Il se trouve partout dans le monde, mais il est d'origine méditerranéen. C'est une espèce très abondante en Algérie. Cette plante est connue par ses propriétés médicinales, thérapeutiques et nutritionnelles.

Notre travail porte sur l'étude phytochimique, l'évaluation du rendement d'extraction et de l'activité antibactérienne des extraits bruts méthanoliques et aqueux de *Trigonella foenum-graecum* L., qui sont obtenus par une méthode de macération.

Les tests de screening phytochimiques ont permis de détecter la présence des acides phénoliques, tanins, glucosides, saponines, flavonoïdes, alcaloïdes, quinones libres et les huiles essentielles. Par contre on note l'absence des coumarines.

Les résultats de rendement le plus élevé des extraits bruts de l'helba sont obtenue dans l'extrait méthanolique avec 29.60%.

L'évaluation de l'activité antibactérienne montre que le fenugrec possède une activité antibactérienne très importante, la sensibilité des souches bactériennes testées varie selon les dilutions des extraits bruts et la nature bactérienne. Le résultat a montré une forte activité chez la souche *B.cereus*.

Mots clés: *Trigonella foenum-graecum* L., extrait bruts, phytochimie, rendement, activité antibactérienne.

الملخص

الحلبة هي نبات عشبي حولي ينتمي إلى الفصيلة البقولية ، ينتشر في جميع أنحاء العالم لكن أصله حوض البحر الأبيض المتوسط ، هذه الأخيرة تنمو بوفرة في الجزائر كما تعرف الحلبة بخصائصها وفوائده الطبية والعلاجية والغذائية.

تقوم هذه الدراسة على الفحص الكيميائي النباتي ، تقييم مردود الاستخلاص والنشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصات الخام الميثانولية والمائية لبذور *Trigonella foenum-graecum* L. المتحصل عليها باستخدام طريقة النقع.

سمح الفحص الكيميائي النباتي بالكشف على الأحماض الفينولية، العفص، الغلوكوسيدات، الصابونين، مركبات الفلافانويد، القلويدات، الكينونات الحرة والزيوت الأساسية، مع غياب الكومارين.

تشير النتائج إلى أن أعلى مردود استخلاص بلغت قيمته 29.60%.

كما أظهرت نتائج النشاط المضاد للبكتيريا أن الحلبة لها نشاط ضد بكتيري مهم جداً، تختلف حساسية السلالات البكتيرية المدروسة حسب تركيز المستخلص الخام بالإضافة إلى نوع البكتيريا، حيث تبين النتائج نشاط قوي ضد السلالة *B.cereus*.

الكلمات المفتاحية : مستخلص خام، كيمياء نباتية، نشاط مضاد للجراثيم، *Trigonella foenum-graecum* L.

Abstract

Fenugreek is an annual herbaceous plant belonging to the legume family, spread all over the world, but its origin is the Mediterranean basin, the latter grows in abundance in Algeria. Fenugreek is known for its medicinal, therapeutic and nutritional properties and benefits.

This study is based on the phytochemical examination, evaluation extractive yield and of the antibacterial activity of the crude, methanolic and aqueous extracts of *Trigonella foenum-graecum* L. obtained using the soaking method.

Phytochemical examination allowed detection of phenolic acids, tannins, glucosides, saponins, flavonoids, alkaloids, free quinines of and essential oils, with the absence of coumarin.

The results indicate that the highest extraction yield was 29.60% in the methanolic extract.

The results of the anti-bacterial activity also showed that fenugreek has a very important anti-bacterial activity. The sensitivity of the studied bacterial strains varies according to the concentration of the crude extract in addition to the type of bacteria. The results show a strong activity against the strain *B. cereus*.

Key words: *Trigonella foenum-graecum* L. crude extract, phytochemistry, antibacterial activity,



Table des matières

Remerciement

Dédicace

Résumé

Abstract

الملخص

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale

Partie I : Synthèse bibliographique.

*Chapitre I : Généralité sur *Trigonella foenum-graecum* L.*

I. Généralité sur les fabacées	3
I.1. Différentes espèces de trigonella en Algérie	3
I.2. Généralité sur <i>Trigonella foenum-graecum</i> L.	3
I.2.1. Historique	3
I.2.2. Description botanique	4
I.2.3. Classification botanique	5
I.2.4. Composition chimique	6
I.2.5. Habitat	7
I.2.6. Les conditions de culture.....	7
I.2.7. Les contre indications.....	8
I.2.8. Utilisation thérapeutiques traditionnelle	8

Chapitre II : Les métabolites secondaires.

II.1. Généralités	10
II.2. Relation entre les métabolismes primaires et secondaires.....	11
II.3. Classification des métabolites secondaires	11
II.3.1. Les composés phénoliques.....	11
II.3.1.1. Classification des polyphénols	12
II.3.1.1.1. Les acides phénoliques	13
II.3.1.1.2. Les flavonoïdes.....	13
II.3.1.1.3. Les tanins	15
II.3.1.1.4. La lignine.....	16
II.3.1.1.5. Les coumarines	16
II.3.1.1.6. Les anthocyanes.....	16
II.3.1.1.7. Les saponines.....	17
II.3.2. Les alcaloïdes.....	17
II.3.3. Terpènes et stéroïdes	18
II.3.4. Les huiles essentielles	18
II.4. Rôle des métabolites secondaires	19

Chapitre III : Activités antibactérienne.

III.1. Activité antibactérienne	22
III.1.1. Bactéries	22
III.1.1.1. Morphologie et structure des bactéries	22
III.1.1.2. Culture des bactéries	23
III.1.1.3. Classification des bactéries	24
III.1.2. Principales substances antimicrobiennes	24
III.1.3. Données générales sur les bactéries testées	25
III.1.4. Méthodes d'étude de l'activité antibactérienne	26

Partie II : Etude expérimentale.

Chapitre I : Matériel et méthodes.

I.1. Matériel	27
I.1.1. Matériel végétal.....	27
I.1.2. Matériel de laboratoire	Erreur ! Signet non défini.
I.1.3. Réactifs utilisés	27
I.1.4. Les souches bactériennes utilisées	27
I.2. Méthodes	28
I.2.1. Préparation des échantillons.....	28
I.2.2. Préparation des extraits	29
I.2.3. Rendement d'extraction	35
I.2.4. Screening phytochimique	33
I.2.5. Évaluation de l'activité antibactérienne	35
I.2.5.1. Préparation des milieux	35

Chapitre II : Résultats et discussions.

II. Résultats et Discussions	45
II.1. Screening phytochimique	45
II.1.1. Résultat.....	45
II.1.2. Discussion	48
II.2. Rendement d'extraction :	49
II.2.1. Résultat.....	49
II.2.2. Discussion	49
II.3. Activité antibactérienne des extraits bruts de <i>Trigonella foenum-graecum</i> L.:.....	50
II.3.1. Résultats	54
II.3.2. Discussion	54

Conclusion générale

Références bibliographiques

Annexes

An orange ribbon banner with a 3D effect, featuring a central rectangular panel and two flared ends that overlap to create a sense of depth.

Introduction générale

Introduction générale

La nature est une source d'agents médicinaux depuis des milliers d'années. Les médicaments populaires de presque toutes les civilisations du monde regorgent de plantes médicinales ont occupé une place prépondérante dans la vie de l'homme **(Benhouda et al., 2014)**. Elles sont importantes pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments, non seulement lorsque les constituants des plantes sont utilisés directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matières premières pour la synthèse de médicaments ou comme modèles pour les composés pharmacologiquement actifs **(Bencharif, 2014)**. En effet, les plantes médicinales sont utilisées de différentes manières, décoction, macération et infusion **(Schauenberg et Paris., 2006)**, une ou plusieurs de leurs parties peuvent être utilisées, racine, feuille, fleur **(Dutertre, 2011)**.

Les plantes sont capables de produire une grande diversité de produits ne participant pas à leur métabolisme de base, mais représentant plutôt des produits du métabolisme secondaire parmi lesquels on distingue les terpénoïdes, les alcaloïdes et les composés phénoliques. Les polyphénols comprennent de nombreuses classes de composés allant des acides phénoliques simples aux tannins complexes, comme ils sont caractérisés par une faible toxicité et de nombreuses activités biologiques, notamment l'activité antimicrobienne **(Queen et Tollefsbol., 2010)**.

L'Algérie de par son climat (méditerranéen, aride) et la nature de ses sols, possède une flore particulièrement riche en plantes médicinales et aromatiques dont la plupart existe à l'état spontané. La valorisation des plantes médicinales et aromatiques est un domaine particulièrement intéressant à développer car c'est une source de produits à haute valeur ajoutée **(Felidj et al., 2010)**.

Les botanistes algériens ont réussi à cataloguer un grand nombre d'espèces médicinales aussi qu'un livre sur les plantes médicinales et aromatiques d'Algérie a été publié en 1942 par Fourment et Roques où ils ont mentionné, décrit et étudié 200 espèces végétales d'intérêt médicinales. La majorité des plantes étaient du nord d'Algérie et seulement 6 espèces étaient du Sahara. L'Algérie comprenait plus de 600 espèces de plantes médicinales et aromatiques **(Moukaddem, 1999)**.

Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal se trouve la *Trigonella foenum-graecum* L., c'est une herbacée annuelle appartenant à la famille des Fabacées. Elle se trouve partout dans le monde, mais elle est d'origine méditerranéenne. Cette plante est connue par ses propriétés médicinales, thérapeutiques et nutritionnelles très importantes vu les activités antibactérienne et pharmacologiques des composés phytochimiques présentes dans les extraits des graines de cette plante (**Rahmani et al., 2015**).

L'objectif de notre travail porte principalement sur l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits des graines de *Trigonella foenum-graecum* L.

Le mémoire est organisé en deux parties :

- La première partie concerne la synthèse bibliographique, elle contient trois chapitres :
 - Généralité sur *Trigonella foenum-graecum* L.
 - Généralité sur les métabolites secondaires.
 - Activité antibactérienne.
- La deuxième partie concerne l'étude expérimentale, contient deux chapitres :
 - Matériel et méthodes : on a réalisé les tests phytochimiques, L'évaluation du rendement d'extraction et de l'activité antibactérienne.
 - Résultats et discussion.

On termine notre travail par une conclusion générale.

An orange ribbon banner with a 3D effect, featuring a central rectangular panel and two flared ends. The text is centered on the central panel.

*Partie I : Synthèse
bibliographique*

*Chapitre I : Généralité sur
Trigonella foenum-graecum L.*



I. Généralité sur les fabacées

Les Fabacées sont considérées la plus importante famille dans le monde végétale et dans les dicotylédones spécifiquement (**Ozenda, 1991**). Ils sont classés parmi les plus grands groupes de Spermaphytes avec les Orchidacées et les Astéracées, comprenant plus de 20000 espèces cosmopolites des régions froides à tropicales (**Quezel et Santa., 1962 ; Gepts et al., 2005 ; Cronk et al., 2006**). Parmi les plantes de cette famille on se trouve *Trigonella*.

I.1. Différentes espèces de *trigonella* en Algérie

Sous le genre de *trigonella* il existe plusieurs espèces dans le monde, mais en Algérie on trouve neuf espèces connues qui sont :

- 1- *T. foenum-graecum* L.
- 2- *T.anguina* Del.
- 3- *T.gladiata* Stev.
- 4- *T. maritima* Del.
- 5- *T. poluserata* L.
- 6- *T. ovalis* Boiss.
- 7- *T. Balachouvsnyi* Lededole.
- 8- *T. monspéliaca* L.
- 9- *T. stellata* Forsk (**Quezel et Santa., 1962**).

I.2. Généralité sur *Trigonella foenum-graecum* L. :

I.2.1. Historique

Le fenugrec, Trigonelle ou *Trigonella* (du latin *trigonus*, triangulaire, allusion) est une plante d'origine méditerranéenne, aromatique et médicinale très ancienne (**Shirani et Ganesharanee., 2009**). Elle est originaire du moyen orient et cultivée en Afrique du Nord, en France, en Egypte et aux Indes (**Alarcon et al., 1998**). Elle porte le nom latin de *foenum-graecum* « foin grec » puisqu'elle a été utilisée comme fourrage à l'époque des romains. En 1550 avant Jésus-Christ, cette plante apparut en Egypte pour soigner les brûlures, 10 siècle

plus tard, Hippocrate le mentionna comme remède apaisant, qui en plus de ses propriétés digestive, soulageait les inflammations et les douleurs rhumatismales (**Sauvaire et al., 1996**).

I.2.2. Description botanique

Le fenugrec est une plante annuelle, herbacée, de la famille des Fabaceae du nom arabe l'helba. Son nom botanique est *Trigonella foenum-graecum* L., elle est aussi appelée : trigonelle, sénégrain, trigonelle fenugrec...etc. Le nom du genre *Trigonella* vient du latin *trigonus* signifiant triangle, par allusion à la forme prismatique des graines du fenugrec. Le mot fenugrec vient du latin *foenum graecum* qui signifie « foin grec » (**Rahmani et al., 2015**).

Son pied peut atteindre une hauteur entre 30 à 60 cm. Il existe aussi des nombreuses ramifications sur la tige et elle possède des feuilles de forme ovale séparées en trois parties (trifoliolées) (**Moradikor et al., 2013**).

Les fleurs sont axillaires, solitaires ou groupées par deux, de type papilionacé, jaune pâle à violet clair de forme triangulaire (d'où le nom de trigonelle) (**Ghedira et al., 2010**). L'épanouissement des fleurs de fenugrec, selon la variété, le climat et la saison des semences commence environ 35-40 jours à partir de l'ensemencement. Elles sont assises dans l'aisselle des feuilles le plus souvent lié (deux à deux), plus rarement solitaires. Il existe deux types de fleurs : des fleurs cléistogames (fermés) et des fleurs anéictogames (ouverts) (**Petropoulos, 2002**).

Le fruit est une gousse allongée, arquée, qui renferme de 10 à 20 graines, très dures, aplaties, mesurant 3 à 5 mm de long et 2 à 3 mm de large, de couleur brun clair à brun rougeâtre, marquées par un sillon qui délimite les deux parties inégales (**Ghedira et al., 2010**).

Les graines de Fenugrec sont en forme d'un disque, constituées d'un embryon jaune central entouré d'une couche cornée et relativement importante de blanc, d'endosperme semi-transparent contenant de la gomme de galactomannane. Une enveloppe tenace et brune foncée entoure l'endosperme. La couleur de la fraction de la gomme dépend de la quantité de l'enveloppe (couleur marron) et cotylédons (couleur jaune) présents (**Madhava et al., 2011**). La plante toute entière dégage une odeur épicée caractéristique (**Figure 01**).



Figure 01 : Graines (A) et feuilles (B) de *Trigonella foenum-graecum* L. (Ghédira et al., 2010).

I.2.3. Classification botanique

Le nom Fabacées, au sens limité, est adopté en classification classique de **Cronquist (1981)**. Ce groupe est nommé Fabaceae (stricto sensu) ou Papilionaceae.

Cette famille comprend 20 000 espèces réparties dans trois sous-familles :

- ✓ sous-famille Caesalpinioideae avec une fleur pseudo-papilionacée ;
- ✓ sous-famille Mimosoideae avec une fleur régulière ;
- ✓ sous-famille Faboideae ou Papilionoideae avec une fleur typique en papillon (**Lejoly, 2005**).

Position systématique :

Le fenugrec est une plante médicinale de famille fabaceae, il est appelé aussi : semen trigonella, sénégrain, fenugreek seed, bockshorsamen, grichisch hensamen.

- **Règne :** Plantae
- **Sous règne :** Tracheobionta
- **Embranchement :** Magnoliophyta
- **Sous-embranchement :** Magnoliophytina
- **Classe :** Magnoliopsida
- **Sous-classe :** Rosidea

- **Ordre :** Fabale
- **Famille :** Fabaceae
- **Genre :** *Trigonella*
- **Espèce :** *Trigonella foenum-graecum*.

Nom vernaculaire : En Arabe : helba / En français : fenugrec (**Sinskaya, 1961**).

I.2.4. Composition chimique

C'est une plante d'intérêt pharmaceutique parce qu'elle contient divers composés polyphénoliques (stéroïdes, substance polyphénoliques, acide aminées, vitamines (A, B1, C), huile essentielle, flavonoïdes, protéines et alcaloïdes) (**Marzougui et al., 2010**), il est riche aussi en fer, calcium, magnésium et phosphore (**Site web 1**). La composition chimique de la graine de fenugrec mentionné dans le tableau 01.

Tableau 01 : La composition chimique de graine de fenugrec (**Ghedira et al., 2010**).

Classe de constituants chimiques	Constituants chimiques
Protéine (28-30%)	Nucléoprotéines
Glucides (20-45%)	Fibres : cellulose, hémicellulose, mucilages, galactomannane, phytine, inositol hexaphosphat de Ca et de Mg
Sapogénines et saponosides stéroïdiques (4,5%)	Foenugracine, trigofoenoside A et autres hétérosides de la diosgénine ; nombreuses sapogénines stéroïdiques
Coumarine	Scopolétine
Flavonoides	Vitexine , vicénines , dérivés de l'orientine
Acides aminés	4-hydroxyisoleucine
Autres	Amide de l'acide nicotinique, trigonelline (méthylbétaine, 0,37%), gamma schizandrine, phosphore, calcium, fer
Lipides, huile grasse (dans l'embryon: 6-10%)	Acide linoléique et linolénique, lécithine

I.2.5. Habitat

Le genre *Trigonella* ayant comme habitat naturel la région méditerranéenne (**Rahmani et al., 2015**). Il est originaire d'Afrique du Nord, du Moyen-Orient et d'Inde, puis il est largement répandu autour de bassin méditerranéen. Les producteurs de fenugrec sont l'Inde, l'Iran, le Népal, le Bangladesh, le Pakistan, l'Argentine, l'Égypte, la France, l'Espagne, la Turquie, le Maroc et la Chine. Cependant, aujourd'hui il pousse partout dans le monde (**Sheicklar, 2013**). Fréquemment cultivée, elle est souvent sub-spontanée en Algérie (**Quezel et Santa., 1962**).

I.2.6. Les conditions de culture

Souvent consommés en graines germées pouvant se cultiver toute l'année à l'intérieur, ces plantes sont en pleines air, des annuelles à production estivale. Avant le semis trempez les graines de fenugrec dans de l'eau pendant 12h, le semis s'effectue directement en pleine terre après les derniers risques de gelées, du milieu à la fin printemps. Votre terre doit être légère et l'exposition doit être ensoleillée. Le cycle végétatif du fenugrec présente dans la (**Figure 2**) (**Geoff, 2005**).

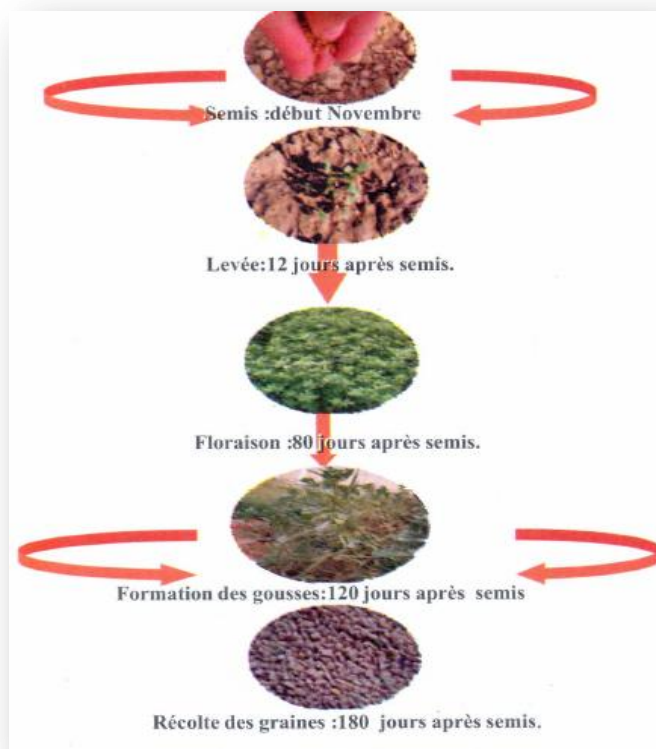


Figure 02 : Cycle végétatif du fenugrec (Geoff, 2005).

I.2.7. Les contre indications

Malgré sa grande efficacité dans le traitement de nombreuses maladies. Le fenugrec possède également des effets secondaires tels que :

- Les malformations associées à la prise de fenugrec :

Les graines de fenugrec sont déconseillées au cours de la grossesse. Ceci en raison de leur action à induire des contractions utérines et à provoquer par conséquent des avortements.

- L'emploi prolongé des graines de fenugrec en application externe provoque parfois des réactions allergiques (**Patil, 1997**). Une étude rapporte des problèmes de sensibilisation respiratoire (oppression à la poitrine, toux, asthme).
- On doit toute fois noter une interaction potentielle entre le fenugrec et un certain nombre de médicaments dont les anticoagulants oraux (**Izzo, 2005**).

I.2.8. Utilisation thérapeutiques traditionnelle

Le Fenugrec compte parmi les plus anciennes plantes médicinales et culinaires. Ses graines, grâce à leurs composés chimiques, se révèlent être d'une grande valeur alimentaire et présentent de multiples vertus phytothérapeutiques (**Harchane et al., 2012**). Leur poudre utilisé pour stimuler la production du lait maternel chez les nourrices, c'est une source riche en fer, phosphore, soufre et de acide nicotinique (**Site web 1**).

Il est utilisé pour:

- Stimuler l'appétit, soulager les troubles digestifs et respiratoires et redonner de l'énergie aux convalescents et aux personnes déprimées. Il est également utilisé pour favoriser la production du lait maternel.
- Lutter contre la chute des cheveux.
- Traiter les ulcères de jambe, la goutte, les douleurs musculaires et l'eczéma.
- Prévenir l'apparition de certains types de cancers, en particulier du colon, du sein et de la vésicule biliaire.
- Arrêter la constipation.
- Eliminer les infections et les inflammations des voies respiratoires.

- Soigner les blessures cutanées et les douleurs rhumatismales **(Yadav et al., 2014)**.
- Protéger l'organisme de l'action de radicales libres grâce a sa teneur en antioxydants, et protégerait donc contre les maladies liées au vieillissement.
- Diminuer la glycémie à jeun et postprandiale chez des patients diabétiques et combattant l'anémie grâce a sa richesse en fer **(Gupta, 2001)**.

Chapitre II : Les métabolites secondaires.



II.1. Généralités

Les plantes ont une importance capitale pour la survie de l'homme et des différents écosystèmes. Elles renferment des composés qui interviennent dans l'ensemble des réactions enzymatiques ou biochimiques ayant lieu dans l'organisme (**Hartmann, 2007**).

On distingue ainsi deux groupes de métabolites: les métabolites primaires et les métabolites secondaires:

Les métabolites primaires sont des molécules organiques qui sont directement impliqués dans la croissance, le développement et la reproduction normale d'un organisme ou d'une cellule. Ils sont divisés en quatre grandes familles :

- Les glucides,
- Les lipides,
- Les acides aminés,
- Les acides nucléiques (**Cuendet, 1999 ; Vermeris, 2006**).

Les métabolites secondaires ce sont des molécules organiques complexes synthétiques, accumulés par les plantes en petite quantité. Elles sont caractérisées généralement par de faible concentration dans les tissus végétaux (généralement quelques pourcents du carbone total, si on exclue la lignine de cette catégorie). Ces molécules jouent un rôle dans l'adaptation des plantes à leur environnement et représentent également une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (**Macheix et al., 2005**).

Ils participent ainsi, d'une manière très efficace dans:

- ✓ La tolérance des végétaux à des stress variés : action anti-herbivore (menthe par exemple).
- ✓ Inhibition des attaques pathogènes des bactéries et des champignons, prédation d'insectes.
- ✓ Défense contre la sécheresse et lumière UV. (elles peuvent être anti-nutritives).

- ✓ Beaucoup de métabolites secondaires sont toxiques, ils sont alors stockés dans des vésicules spécifiques ou dans la vacuole (**Sandrin, 2004**).

II.2. Relation entre les métabolismes primaires et secondaires

Le métabolisme primaire représente tous les processus de bases, comme la croissance ou la respiration, qui sont vitaux pour la plante. Les métabolites primaires proviennent de ces réactions et sont les composés essentiels de la machinerie moléculaire de la cellule. Le métabolisme secondaire a été défini par rapport à cette définition, et constitue donc tous les autres processus. Initialement la notion de métabolites secondaires résidait dans trois principales observations : une difficulté à attribuer une fonction précise à ces composés dans la physiologie de la plante, leur répartition très inégale selon les végétaux et au sein même des plantes, et enfin leur inertie biochimique (**Macheix et al., 2005**).

II.3. Classification des métabolites secondaires :

Les métabolites secondaires sont produits en très faible quantité, On estime à plusieurs centaines de milliers les métabolites secondaires (200.000), de structure et de fonction très diverses. Il existe donc un grand nombre de classification selon les sources et leur appartenance chimique en l'occurrence, les terpènes, les alcaloïdes, les composés acétyléniques, les cires, et les composés phénoliques (**Cuendet, 1999**).

Ils sont divisés principalement en trois grandes familles:

- Polyphénoles
- Terpènes
- Alcaloïdes

Chaque de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large d'activités en biologie humaine (**Vermeris, 2006**).

II.3.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des substances naturelles, d'origine végétale majoritairement. Ils peuvent se trouver chez certains animaux et microorganismes comme les bactéries et les champignons tels que l'œstradiol qui est l'hormone la plus importante de type œstrogène chez les mammifères. Ils sont constitués d'une unité principale « phénol » donc se sont de mono, bi ou polyphénol (**Macheix et al., 2005**).

Les polyphénols constituent une grande classe de produits chimiques qui se trouve principalement dans les tissus superficiels des plantes. Ils sont des composés photochimiques polyhydroxylés et comprenant au moins un noyau aromatique à 6 carbones.

Ils sont largement utilisés en thérapeutique comme anti-inflammatoires, vasoconstricteurs, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et anti-radicalaires et antimicrobiens (Bouzabata, 2016 ; Eureka, 2016).

II.3.1.1. Classification des polyphénols:

La classification des polyphénols est basée essentiellement sur la structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux (D'Archivio et al., 2007).

On peut distinguer deux catégories : les composés phénoliques simples et les composés phénoliques complexes (Long et al., 2010).

Ils subdivisent en sous classe principales; les acides phénols, les flavonoïdes, les lignines, les tanins, les saponines, les polystéroles ou bien phytostanols. Les plus importants sont : les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanines (Figure 03) (Salunkhe et al., 1990).

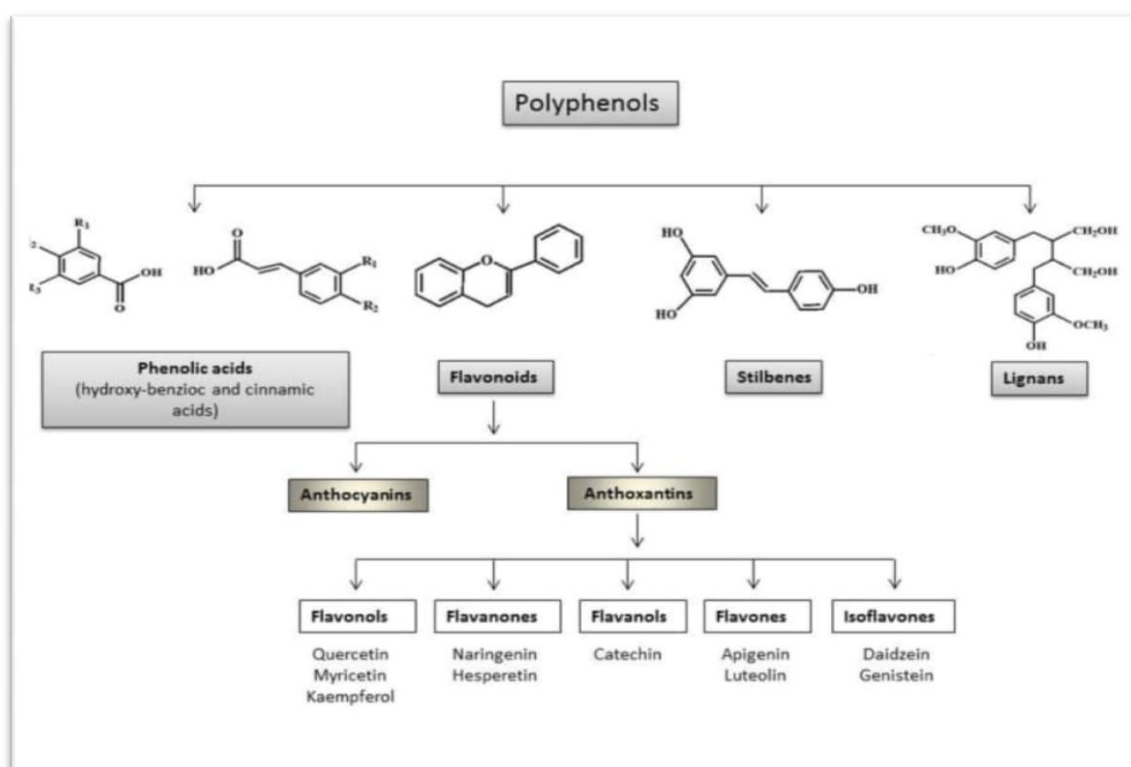


Figure 03 : Différentes classes des composés phénoliques (Salunkhe et al., 1990).

II.3.1.1.1. Les acides phénoliques

Les phénols sont des composés chimiques aromatiques utilisés par les plantes comme moyen de défense chimique contre les microbes et champignons (**Igor, 2002**). Ils présentent des propriétés biologiques intéressantes : anti-inflammatoires, antiseptiques urinaire, anti radicalaires, cholagogues, hépatoprotecteurs, cholérétiques, immunostimulants (**Bruneton, 1999**).

Ils existent sous deux formes : dérivés de l'acide benzoïque et dérivés de l'acide cinnamique (**Figure 04**).

A. Les acides hydroxycinnamiques représentent une classe très importante dont la structure de base (C6 – C3) dérive de celle de l'acide cinnamique grâce à des substitutions au niveau du cycle aromatique.

B. Acides hydroxybenzoïques ce sont des dérivés de l'acide benzoïque et ont une formule de base de type C6 -C1. Ils sont particulièrement représentés chez les gymnospermes et les angiospermes), les acides hydroxybenzoïques existent fréquemment sous forme d'esters ou de glucosides (**Bruneton, 1993**).

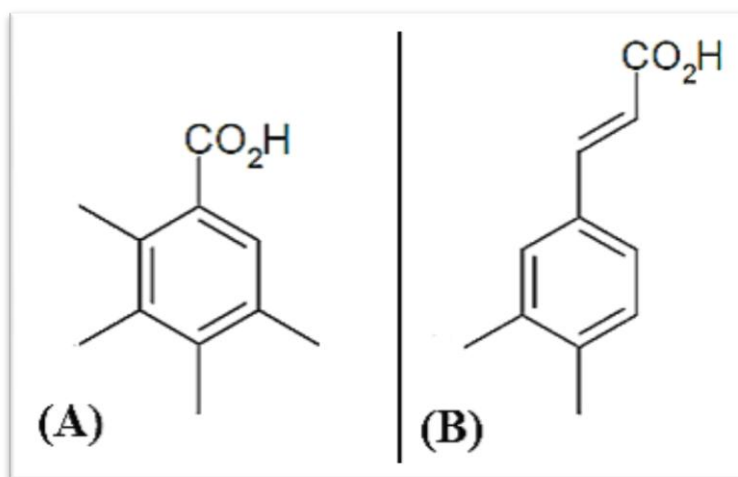


Figure 04 : Acides hydroxybenzoïque (A) et hydroxycinnamique (B) (**Chandrasekara, 2019**).

II.3.1.1.2. Les flavonoïdes

Considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, fruits et parfois des feuilles (**Bruneton, 1999**). Le ginkgo, la coriandre, le café, le thé vert, la tomate, la fraise, le cacao, sont des exemples de plantes

médicinales comprenant des flavonoïdes (**Causse, 2004**). Ils peuvent être regroupés en différentes classes selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central, le noyau B relié à l'hétérocycle C dans les positions 2, 3 (**Figure 05**).

- ✓ Dans la position 2: le flavonoïde est appelé Flavane.
- ✓ Si la position 4 de la flavane Porte un groupement carbonyle la flavane est appelé Flavanone.
- ✓ Si la liaison C2-C3 dans le squelette de la flavanone est insaturée le composé est nommé Flavone.
- ✓ Si le squelette est substitué en position 3 par un groupement hydroxyle il est désigné par le nom de Flavonol.
- ✓ Dans la position 3: le flavonoïde est désigné par le terme Isoflavane (**Fraga et Oteiza., 2011**).

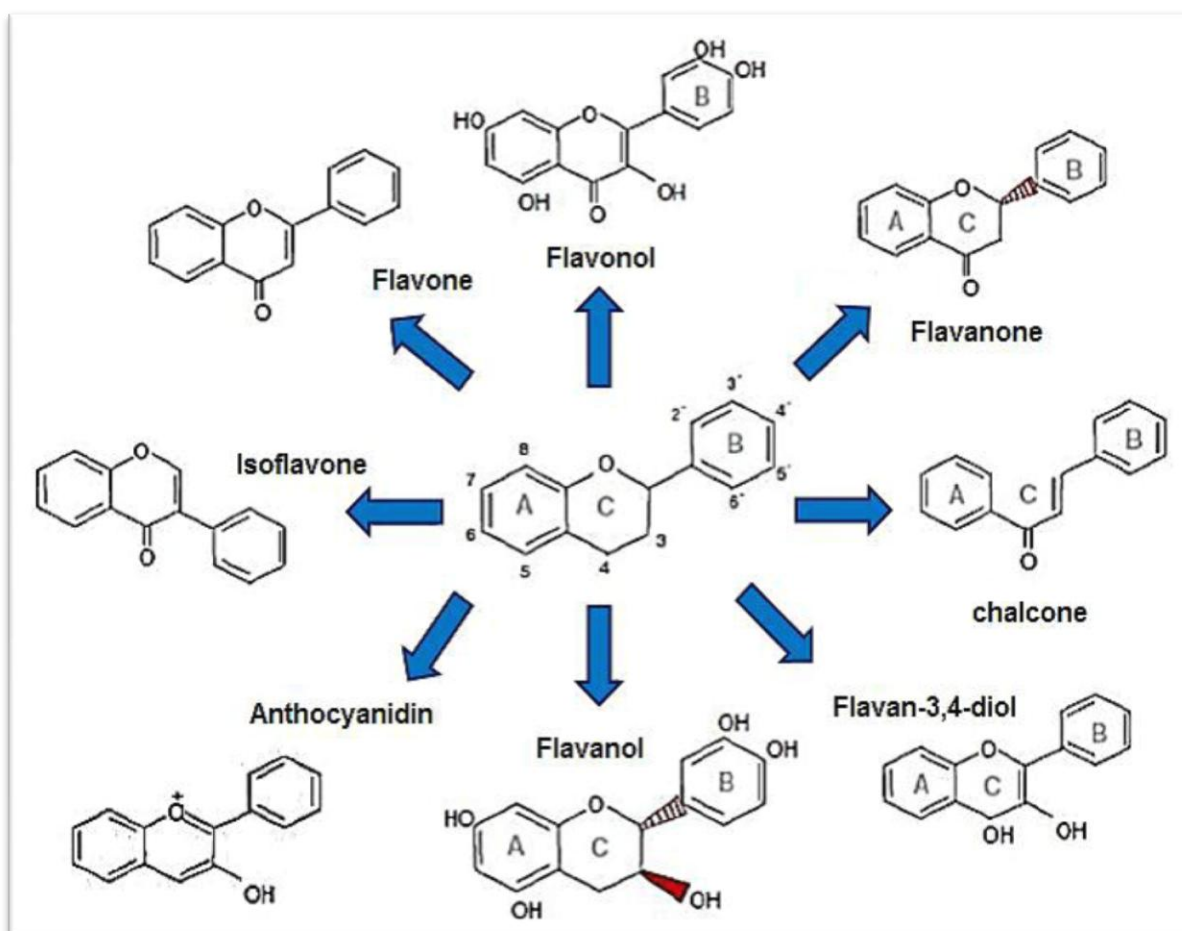


Figure 05 : Les principales familles des flavonoïdes (**Fraga et Oteiza., 2011**).

II.3.1.1.3. Les tanins

C'est une substance amorphe contenue dans de nombreux végétaux, elles présentent des propriétés antiseptiques mais également antibiotiques, anti-inflammatoires, anti-diarrhéiques, hémostatiques et vasoconstrictrices (diminution du calibre des vaisseaux sanguins) (**Ali-Delille, 2013**). Elles donnent un goût amer à l'écorce ou aux feuilles et les rendent impropres à la consommation pour les insectes ou le bétail (**Eberhard et al., 2005**).

Sur le plan structural, les tannins sont divisés en tannins hydrolysables et tannins condensés (**Figure 06**) :

A. Tannins hydrolysables

Les tannins hydrolysables sont des polyesters de glucides et d'acides phénoliques. Ils peuvent être dégradés par hydrolyse chimique ou enzymatique en oses et en acides phénoliques.

B. Tannins condensés

Les tannins condensés sont des polymères flavanoliques complexes, résultent de la polymérisation des unités de flavan-3-ols et/ou les flavan-3,4-diols. Ils ne renferment pas de sucres dans leurs molécules et ne sont hydrolysés seulement qu'en présence d'acide fort ou d'agents d'oxydation (**Amarowicz et Janiak., 2019**).

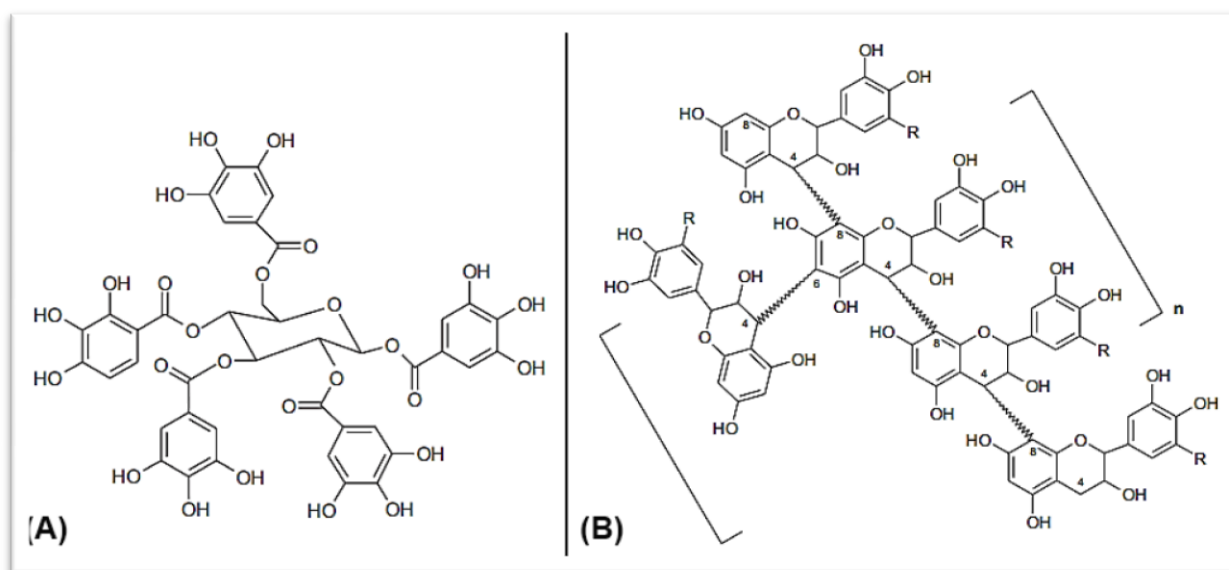


Figure 06 : Structure de tannins hydrolysables (A) et de tannins condensés (B) (**Amarowicz et Janiak., 2019**).

II.3.1.1.4. La lignine

Composés qui s'accumulent au niveau des parois cellulaires (Tissus sclérenchymes ou le noyau des fruits), au niveau de sève brute qu'ils permettent la rigidité des fibres, ils sont le résultat d'association de trois unités phénoliques de base dénommées monolignols de caractère hydrophobe (**Guelmine, 2018**).

II.3.1.1.5. Les coumarines

Les coumarines, de différents types, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses. Elles sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes (**Igor, 2002**). Certaines coumarines contribuent à fluidifier le sang (*Melilotus officinalis*) alors que d'autre, soignent les affections cutanées (*Apium graveolens*). Rapidement métabolisées au niveau du foie en 7 hydroxy- coumarine (**Figure 07**), elles peuvent rarement induire une hépato nécrose sévère (**Habibatni, 2009**).

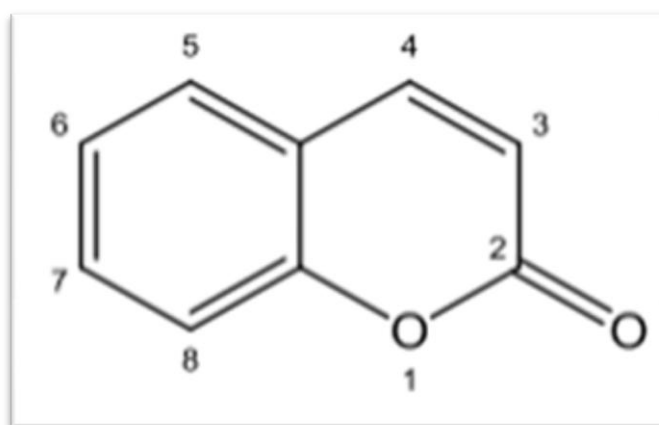


Figure 07 : Structure chimique des acides coumariques (**Macheix et al., 2005**).

II.3.1.1.6. Les anthocyanes

Sont issus de l'hydrolyse des anthocyanides (flavonoïdes proches des flavones), qui donnent aux fleurs et aux fruits leurs teintes bleue, rouge ou pourpre. Ces puissants antioxydants nettoient l'organisme des radicaux libres. Ils maintiennent une bonne circulation, notamment dans les régions du cœur, des mains, des pieds et des yeux. La mure sauvage (*Rubus fruticosus*) et la vigne rouge (*Vitis vinifera*) en contiennent beaucoup (**Messioughi, 2010**).

II.3.1.1.7. Les saponines

Le terme saponosides est dérivé de mot savon, sont des terpènes glycosylés comme ils peuvent aussi se trouve sous forme aglycones, ils ont un goût amer et acre (**Hopkins, 2003**).

II.3.2. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes figurent parmi les principes actifs les plus importants en pharmacologie et en médecine (**Dellile, 2007**). Ce sont des substances organiques azotées (**Figure 08**), de caractère alcalin et de structure complexe (noyau hétérocyclique), on les trouve dans plusieurs familles des plantes, la plupart des alcaloïdes sont solubles dans l'eau et l'alcool et ont un gout amer. Certaines d'entre elles sont toxiques (**Lehmann, 2015**).

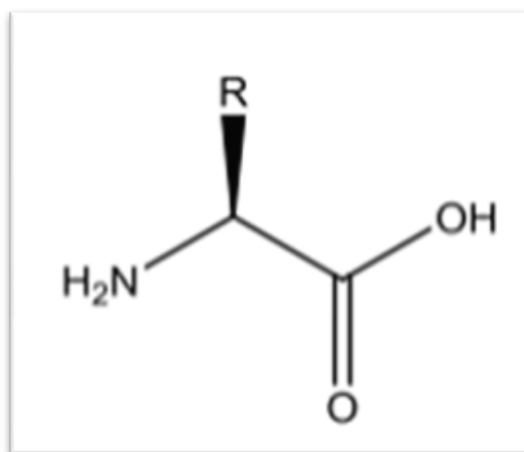


Figure 08 : Structure de base des alcaloïdes (**Marouf et Reynaud., 2007**).

Selon leur structure chimique et surtout leur structure moléculaires, on peut diviser les alcaloïdes en plusieurs groupes :

- **Phénylalanines:** capsaïcine du piment, colchicine du colchique.
- **Alcaloïdes isoquinoléiques:** morphine, éthylmorphine, codéine et papavérine contenus dans l'opium du pavot.
- **Alcaloïdes quinoléiques:** tige feuillée de la rue commune.
- **Alcaloïdes pyridiques et pipéridiques:** ricine du ricin, trigonelline du fenugrec.
- **Alcaloïdes dérivés du tropane:** scopolamine et atropine de la belladone.

- **Alcaloïdes stéroïdes:** racine de véatré, douce-amère ou aconite (aconitine) par exemple (Volack et Stodola., 1983).

II.3.3. Terpènes et stéroïdes :

- **Les terpénoïdes** sont une large famille de composés naturels de caractère souvent lipophiles, leurs grandes diversités est due au nombre de bases qui constituent la chaîne principale de formule $(C_5H_8)_n$, selon la variation de nombre on distingue les monoterpènes, les diterpènes, les triterpènes, ...etc.
- **Les stéroïdes** sont des graisses végétales. Elles pourraient jouer un rôle important dans l'état de fonctionnement du système immunitaire et possèdent moins de 30 atomes de carbone, synthétisés à partir d'un triterpène acyclique (Xavier, 2015), le plus représentatif est le cholestérol (Figure 09) (Eberhard et al., 2005).

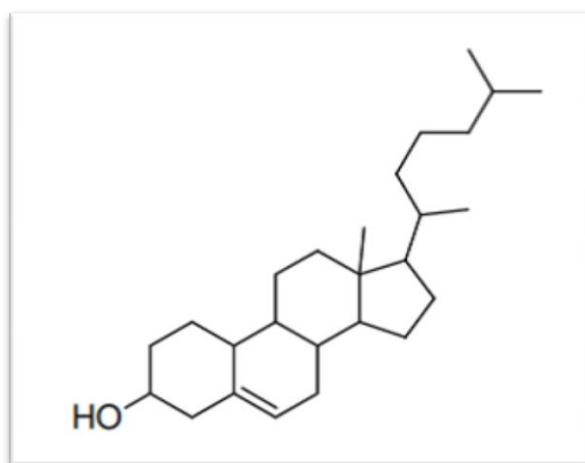


Figure 09 : Structure chimique de Cholestérol (Eberhard et al., 2005).

II.3.4. Les huiles essentielles

Sont des substances huileuses, volatiles et odorantes qui sont sécrétées par les plantes aromatiques que l'on extrait par divers procédés dont l'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydro distillation (Iserin et al., 2007), par pressage ou incision des végétaux qui les contiennent (Guy, 1997).

Elles sont solubles dans les lipides et les solvants organiques et possèdent une densité inférieure à celle de l'eau.

Grâce à leurs activités antimicrobiennes, antifongiques, antiparasitaires et à leurs fragrances, les HES sont utilisées dans les domaines pharmaceutique, alimentaire,

cosmétique... Néanmoins, une seule huile peut avoir plusieurs utilisations à la fois (**Bakkali et al ., 2008**).

II.4. Rôle des métabolites secondaires :

➤ Chez les plantes

Des travaux plus anciens ont montré que les phénols sont associés à de nombreux processus physiologiques: croissance cellulaires, différenciation, organogenèse, floraison et tubérisation (**Albert, 1998**).

Une des fonctions majeures des flavonoïdes est de contribuer à la couleur des plantes notamment à celle des fleurs. On peut également noter que les flavonoïdes :

- ✓ Ils assurent la pigmentation des fleurs, des fruits et des graines pour attirer les pollinisateurs et les disperseurs de graine, Ils sont universellement présents dans la cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques de feuilles, ils sont susceptibles d'assurer la protection des tissus contre les effets nocifs des rayonnements UV en absorbant à la fois ces radiations et les espèces réactives de l'oxygène formées (**Hadi, 2004**).
- ✓ Jouer un rôle dans la protection des plantes (Repoussant certains insectes par leur goût désagréable)
- ✓ Le contrôle de la croissance et du développement des plantes en interagissant d'une manière complexe avec les diverses hormones végétales de croissance.
- ✓ Jouent un rôle de phytoalexines, c'est-à-dire de métabolites que la plante synthétise en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries (**Maillard, 1996**).

➤ Chez l'homme :

Les métabolites secondaires végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : En alimentation, en cosmétologie et en pharmacie. Ces composés sont en grande mesure illustrés en thérapeutique (**Bahorun, 1997**).

- ✓ **En médecine** : Les métabolites secondaires qui font la base des remèdes pour l'homme sont utilisés en :

- Urologie, dermatologie, gastrites aiguës, toux, ulcères d'estomac, laxatifs, sommeil.
 - Systèmes cardiovasculaires, par exemple : Flavoce est un médicament constitué par la flavone non substitué en combinaison avec la rutine et isoquercétine est utile dans le traitement de l'athérosclérose.
- ✓ **En alimentation** : Les épices et les herbes aromatiques contenant des divers métabolites sont considérées comme condiments et aromates.
- ✓ **En cosmétique** : Des produits de beauté, parfums et articles de toilette, produits d'hygiène (Mohammedi, 2006).

➤ **Rôle biologique :**

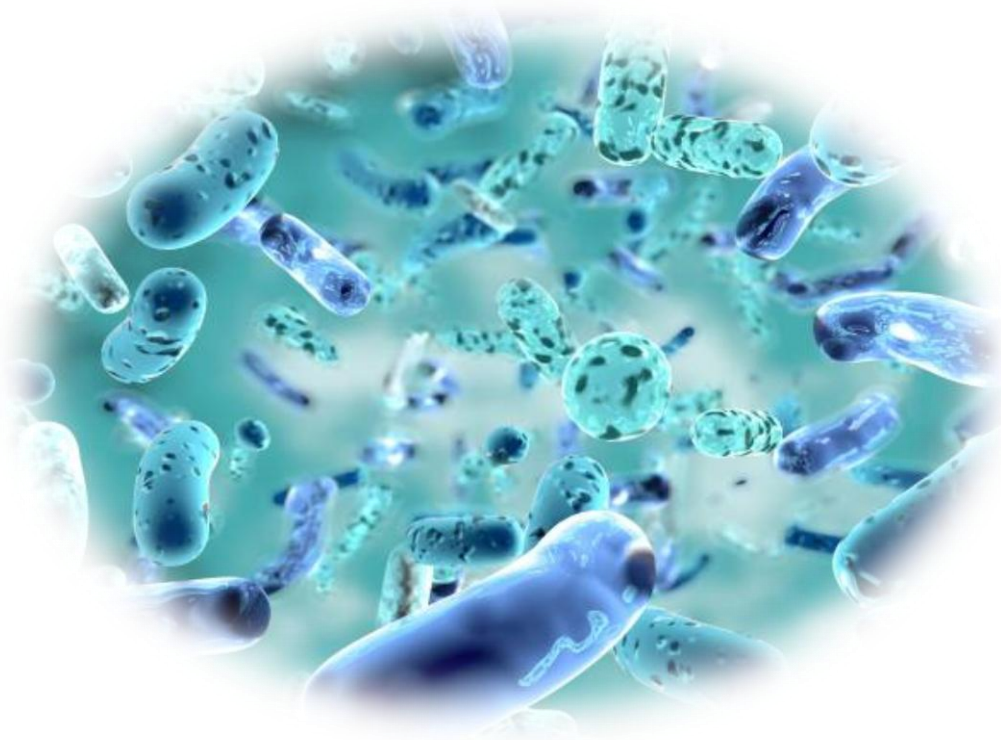
Les métabolites secondaires sont une multitude d'activités biologiques dépendant de leur structure chimique (Tableau 02).

Tableau 02 : L'activité biologiques des quelques métabolites secondaires.

Métabolites secondaires	Activités biologiques	Auteurs
Acides Phénoliques	-Antibactériens -Antifongiques -Antioxydants	(Bruneton, 1999 ; Hennebelle, 2006).
Coumarines	-Protectrices vasculaires -Antioedémateuses -Anticoagulant -Antioxydant	(Mabry et Ulubelen, 1980 ; Bruneton 1999; Hennebelle, 2006).
Flavonoïdes	-Antitumorales -Anticarcinogènes -Anti-inflammatoires -Hypotenseurs et diurétiques -Antimicrobienne	(Stavric et Matula, 1992 ; Bruneton, 1993; Aruoma et al., 1995 ; Ohemeng, 1993)

	-Antivirale -Détoxyfiant -Antioxydant -Anti-thrombotique -Antiallergique -Antiulcéreuse -Hypotenseur diurétique	
Anthocyanes	-Protection des veines et capillaires -Anti oxydant	(Bruneton, 1993)
Tanins	- Anti-diarrhéique -Cicatrisante -Vasoconstricteur -Antimicrobienne -Antivirale -Anti-inflammatoire -Antimutagène -Antioxydant	(Hong et al., 2000; Kaur et al., 2000 ; Merghem., 2009)
Alcaloïdes	-Antitussifs -Anti-arythmiques -Antipaludiques	(McCalley, 2002 ; Stöckigt et al., 2002)
Saponosides	-Antitumoreux -Antimicrobiens -Antiappétants -Anti-inflammatoires -Hémolytique	(Bruneton, 1999).

Chapitre III :
Activités antibactérienne.



III.1. Activité antibactérienne :

L'activité antibactérienne correspond à l'activité d'une molécule ou composé présent au sein d'un végétal qui à très faible concentration, inhibe le développement d'une bactérie ou la tue (**Pibiri, 2006**).

La sensibilité d'une bactérie à un antibiotique varie selon la nature de l'antibiotique. Et peut être très différente selon la souche d'appartenance (**Mogode, 2005**).

III.1.1. Bactéries

Les bactéries sont des organismes procaryotes, c'est-à-dire qu'ils ne contiennent pas de noyau. Le matériel génétique est présent dans le cytoplasme sous forme d'un chromosome unique circulaire.

Malgré cette simplicité structurale, il existe une grande diversité dans la forme des cellules lorsqu'elles sont observées au microscope peut être sphérique (cocci), en bâtonnet (bacilles), incurvée (vibrions) ou spiralée (spirochètes), les détails de leur structure ne sont visibles qu'en microscopie électronique (**Nauciel et Vildé., 2005**).

Pour se développer, les bactéries doivent trouver dans le milieu extérieur des conditions physico-chimiques favorables nécessaires, ainsi que des aliments qui répondent à leurs besoins énergétiques fondamentaux et spécifiques. Sur le plan pratique, le milieu de culture conçu par l'homme pour l'étude des bactéries répond à ces besoins, on l'appelle donc milieu de culture (**Mogode, 2005**).

III.1.1.1. Morphologie et structure des bactéries

Une bactérie est un microbe formé d'une seule cellule, constituée d'un noyau, isolé ou diffus, un protoplasme contenant des granulations et des vacuoles, et une paroi parfois d'une capsule.

Les bactéries ont généralement un diamètre inférieur (de 0,5 μm à 1 μm de largeur et de 0,5 à 0,8 μm de longueur) et appartenant à une zone de transition entre le règne animal et le règne végétal, on peut les voir au microscope optique, à l'état frais ou après coloration (**Nicklin et al., 2000**).

- La cellule est enveloppée par une paroi rigide, qui lui donne sa forme et sa résistance. Epaisse chez les bactéries à gram positif et plus mince chez les bactéries à gram négatif.
- La paroi entoure une membrane cytoplasmique, plus fine et plus délicate. Les bactéries à gram négatif possèdent une seconde membrane, qui est la membrane externe pour la distinguer de la membrane cytoplasmique, dite interne.
- Le cytoplasme sous-jacent contient essentiellement des granulations d'acide ribonucléique, les ribosomes ainsi que des substances de réserve comme le glycogène.
- Mésosomes (intracytoplasmiques) qui sont le plus souvent étroitement associés à l'appareil nucléaire (rôle de fixation).
- D'autres composants peuvent être présents comme les flagelles, la capsule, les fimbriae, les pili sexuels (**Figure 10**) (**Leclerc et al., 1995**).

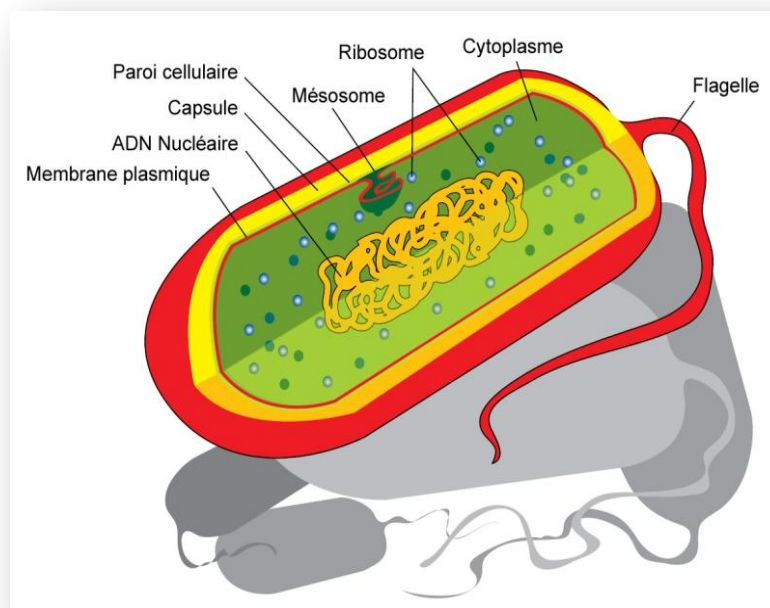


Figure 10 : Structure d'une bactérie (**Leclerc et al., 1995**).

III.1.1.2. Culture des bactéries

On utilise habituellement pour cultiver les bactéries des milieux complexes à base d'extraits ou d'hydrolysats enzymatiques de viandes. Ces milieux peuvent être liquides (bouillons) ou solides. La solidification des milieux est obtenue par l'addition de l'agar, un extrait d'algues qui a la propriété de fondre à l'ébullition et se solidifier à des températures inférieures à 40°C.

En milieu liquide, les bactéries se dispersent librement et leur multiplication se traduit par un trouble, le plus souvent homogène. Sur un milieu solide, lorsque la quantité de bactéries est faible, chaque bactérie va pouvoir se multiplier sur place jusqu'à former un amas de bactéries visible à l'œil nu, que l'on appelle colonie (Si la densité bactérienne est trop élevée dans l'échantillon ensemencé, les colonies sont confluentes et forment une nappe). L'emploi de milieux solides permet ainsi le dénombrement des bactéries viables dans un échantillon (Nauciel et Vildé., 2005).

III.1.1.3. Classification des bactéries

On peut distinguer deux grandes classes de bactéries, caractérisées par une architecture distincte de la paroi cellulaire qui les entoure. C'est à l'aide d'une coloration dite coloration de Gram (du nom du médecin qui l'a découverte) que l'on parvient à différencier ces bactéries, elles seront alors soit Gram positives ou Gram négatives. Structuellement c'est l'épaisseur du peptidoglycane qui permet ce classement.

- **Bactérie Gram positives** : Si le peptidoglycane est épais et riche, Se comportent comme des bactéries opportunistes et sont souvent à l'origine d'infections nosocomiales. Il s'agit souvent de bactéries résistantes à de nombreux antibiotiques .Ils apparaissent colorés en violet au microscope lorsqu'on emploie la technique de coloration de Gram.
- **Bactérie Gram négatives** : Si le peptidoglycane est fin et composé en majorité de lipide (Bianchi et al., 2013). Les bactéries à Gram négatif présentent une vaste catégorie de micro-organismes qui sont incapables de détenir une coloration de cristal violet en raison de la structure distincte de leur paroi cellulaire (Pierre et Marie., 2003).

III.1.2. Principales substances antimicrobiennes :

Les substances antimicrobiennes sont des substances capables de tuer les microbes et empêcher leur croissance, par :

- La nature du microorganisme
- De l'agent antimicrobien
- De l'environnement (Meyer et Deiana., 1988).

III.1.3. Données générales sur les bactéries testées :

➤ *Escherichia coli* ATCC 25922

C'est une bactérie à gram négatif commensal du tube digestif de l'homme et de l'animal (**Steven, 2004**), appartenant à la famille des *Entérobactérie* et au genre *Escherichia*, souvent mobiles, mais parfois immobiles, isolées pour la première fois par **Thomas Escherich en 1855**.

C'est l'espèce dominante de la flore aérobie du tube digestif. De forme non sporulée, de type aérobie facultative, généralement mobile grâce aux flagelles, sa longueur varie de 2 à 6 µm, alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5 µm, *E.coli* représente la bactérie la plus impliquée dans les infections aiguës d'appareil urinaire, elle provoque également les diarrhées d'été, diarrhée infantile et les intoxications alimentaires (**Percival, 2004**).

➤ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Un certain nombre de bacilles à Gram négatif de l'environnement se comportent comme des bactéries opportunistes et sont souvent à l'origine d'infections nosocomiales. Il s'agit souvent de bactéries résistantes à de nombreux antibiotiques. Une des plus redoutables est *Pseudomonas aeruginosa* (**Philippon, 1995**).

Ces bactéries fines sont de 1.5 à 3 µm de long et 0.5 à 0.8 µm de large. Elles sont mobiles grâce à une ciliature de type polaire monotriche, ce type de bactéries possède un aspect de « vol moucheron ». *P.aeruginosa* ne forme ni spores ni sphéropastes. Elle est responsable de 10% de l'ensemble des infections nosocomiales, occupant le 3ème rang après *E.coli* et *S.aureus*, mais le 1er rang pour les infections pulmonaires basses et le 3ème rang pour les infections urinaires (**Steven et al., 2004**).

➤ *Staphylocoques aureus* ATCC 25923

C'est une bactérie à gram positive sphérique ubiquitaire qui forme des amas réguliers ou irréguliers en grappe de raisin. Sont des bactéries impliquées dans des pathologies variées et de degrés de gravité divers. Elles sont un des premiers agents responsables d'infections nosocomiales (infections contractées en milieu hospitalier) mais elles peuvent aussi être contractées en dehors de l'hôpital (infections dites communautaires).

Leur habitat naturel est l'homme et l'animal. Elles font partie de la flore cutanée naturelle et colonisent particulièrement les muqueuses externes. Cependant, ces bactéries sont fréquemment retrouvées dans l'environnement (eaux non traitées, sols, objets souillés) (Leclerc et al., 1995).

➤ ***Bacillus subtilis* ATCC 10987**

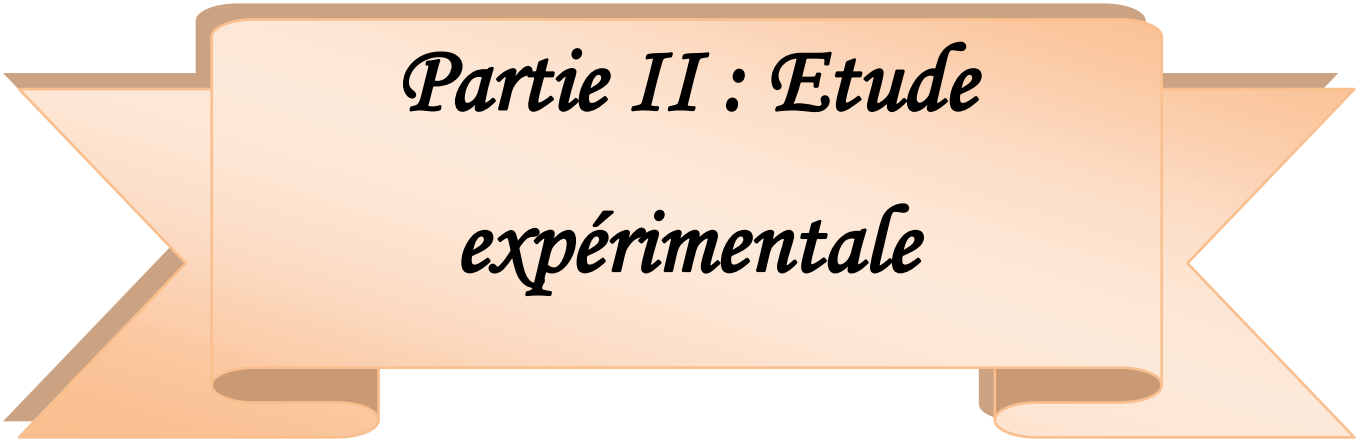
Les espèces du groupe *Bacillus subtilis* sont des bacilles de grande taille ($>1.0\ \mu\text{m}$) à Gram positif, généralement mobiles grâce à une ciliature péritriche. Ils se distinguent des autres *Bacillus* essentiellement par leur aptitude à croître en anaérobiose. Les espèces du groupe sporulé sont très répandues dans la nature et sont souvent isolées du sol, de la poussière ou de la surface de végétaux, ce qui favorise leur propagation dans les aliments. Certaines espèces sont aussi capables d'infecter des mammifères et/ou des insectes (Kunst et al., 1997).

III.1.4. Méthodes d'étude de l'activité antibactérienne

Une technique utilisée en bactériologie médicale, a été réalisée pour étudier l'activité antibactérienne *in vitro*, ils sont capables de donner des résultats différents selon les conditions adoptées par chaque manipulateur, appelé :

- Antibiogramme (ATB)
- Méthode par diffusion en milieu gélosé
- Méthode des disques.

Cette méthode a l'avantage de s'appliquer à un très grand nombre d'espèces bactériennes (Pibiri, 2006).

An orange ribbon banner with a 3D effect, featuring a central rectangular panel and two side flaps that fold over the top and bottom edges.

Partie II : Etude expérimentale

Chapitre I :

Matériel et méthodes.



Notre étude expérimentale a été réalisée au niveau des laboratoires pédagogiques du Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF-Mila, comporte quelques aspects d'ordre techniques concernant l'étude phytochimiques, l'évaluation du rendement d'extraction et l'activité antibactérienne des extraits bruts méthanolique et aqueux de *Trigonella foenum-graecum* L.

I.1. Matériel :

I.1.1. Matériel végétal

Les graines de *Trigonella foenum-graecum* L. ou « El'helba » qui ont fait l'objet de cette étude, sont achetées durant le mois de Mars 2022 auprès d'un herboriste dans la wilaya de Mila, selon ce dernier ces graines sont cultivées en Algérie. Elles sont conservées loin d'humidité jusqu'à utilisation.

I.1.2. Réactifs utilisés :

1. Réactif de Wagner

Ce réactif est composé d'un mélange de 1.27g d'Iode et 2.0g d'Iodure de potassium dissout dans 75ml d'eau distillée. Ce mélange est jaugé jusqu'à l'obtention de 100ml de la solution.

2. Réactif de Liqueur de Fehling.

I.1.3. Les souches bactériennes utilisées

Pour mettre en évidence la capacité antibactérienne des extraits de la plante, un total de 4 souches microbiennes a été utilisé :

- ✓ Deux Bactéries à Gram positif : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* ATCC 10987.
- ✓ Deux bactéries à Gram négatif : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Que nous avons reçu de **M^{me} AMMARI Salima** et **M^{me} BENSERADJ Wafa**.

Toutes les souches bactériennes utilisées dans l'étude ont été maintenues à 4°C sur un milieu agar nutritif.

I.2. Méthodes :

I.2.1. Préparation des échantillons

Pour faciliter l'extraction des extraits bruts à partir des graines de *Trigonella foenum-graecum* L., deux opérations de prétraitement de ces matériels ont été effectuées : séchage et broyage (**Figure 11**).

➤ Séchage

Aussitôt après l'obtention du matériel végétal, les graines préalablement débarrassées de toutes impuretés ont été lavées à l'eau du robinet puis ont été séchées à température ambiante dans un endroit aéré à l'abri de l'humidité et ombragé pendant plusieurs jours.

➤ Broyage

La réalisation de cette étape doit être minutieuse et non dénaturante pour permettre l'obtention d'une poudre végétale fine et homogène. Les graines séchées sont ensuite broyées à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre. La poudre obtenue a été tamisée et conservée à l'abri de la lumière et de la chaleur jusqu'à son utilisation.



Figure 11 : Séchage et Broyage du *Trigonella foenum-graecum* L.
(Photo personnelle, 2022).

I.2.2. Préparation des extraits :

Principe

L'étape d'extraction est considérée comme une étape primordiale d'analyse et d'identification des molécules bioactives. L'extraction de produits naturels est généralement de type solide-liquide. Une méthode dite traditionnelle, comme la macération, était jusqu'ici utilisée et considérée comme technique de choix pour extraire les composés naturels.

➤ Préparation de l'extrait éthanolique

L'extrait éthanolique a été préparé par l'ajoute de 100ml Ethanol/eau (70 / 30%) à 5g de poudre en obscurité, à une température ambiante, avec agitation modéré d'une vitesse de 100Hz continue pendant 24h, ce qu'on appelle macération prolongée. Après on fait une filtration sur un papier filtre pour obtenir un filtrat. La même opération est répétée trois fois (trois cycles). Le filtrat des trois cycles est évaporé à sec à l'aide d'un rota vapeur 60 °C.

Les extraits sont extraites par la méthode de macération prolongée à température ambiante par le méthanol selon la méthode décrit par **Abaza et al, (2007)** avec quelques modification l'extraction est représenté indique dans le schéma suivants (**Figure 12**):

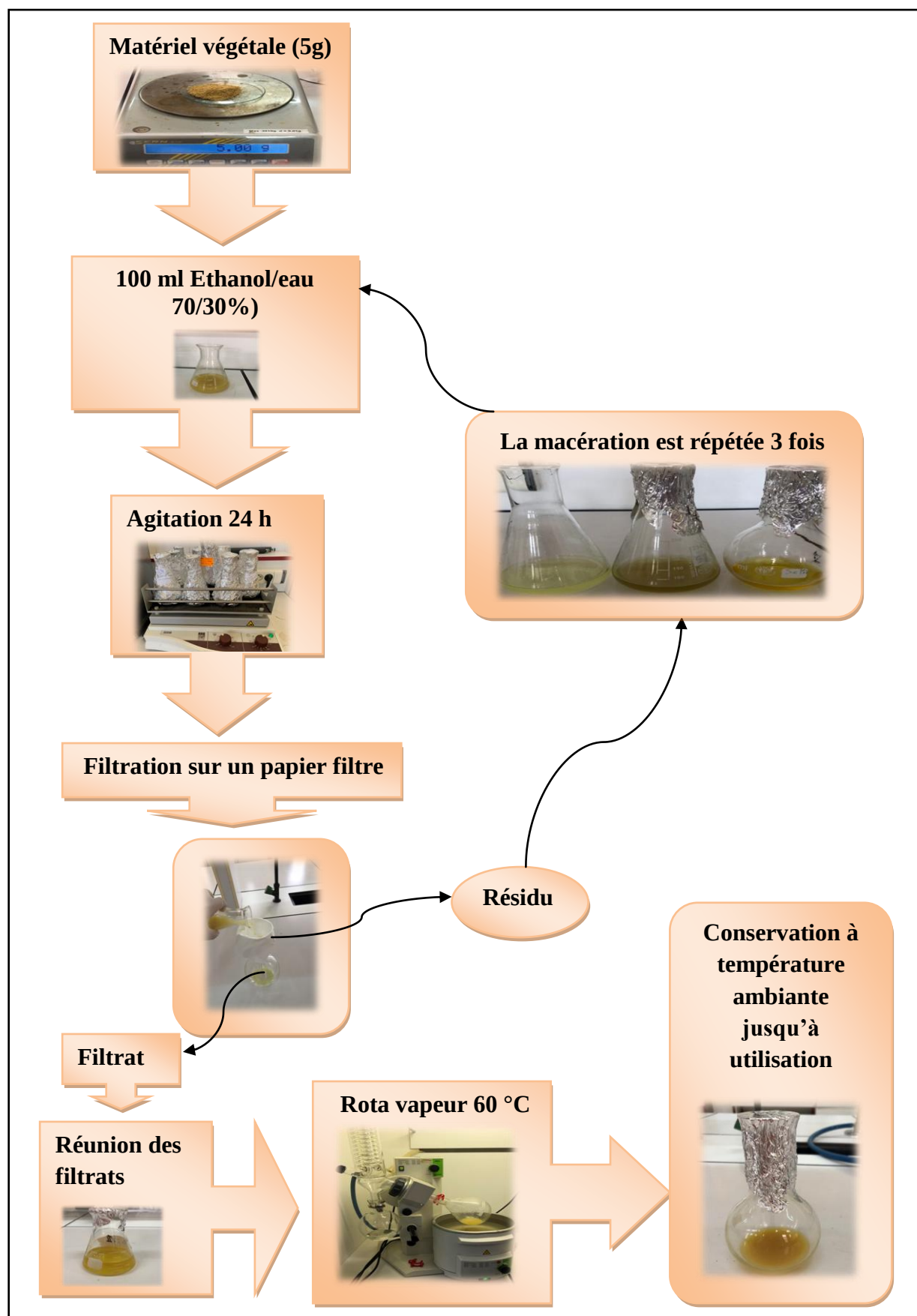


Figure 12 : Protocole d'extraction par macération des extraits éthanoliques (Abaza et al., 2007).

➤ **Préparation de l'extrait méthanolique**

 Principe

La macération est la méthode d'extraction solide/liquide la plus simple. Elle consiste en la mise en contact du matériel végétale avec le solvant, à température ambiante et à l'obscurité pour une durée déterminée.

Cette méthode d'extraction a été effectuée selon le protocole décrit par **Adil et al., (2012) (Figure 13)**.

- Dans un Erlenmeyer, 5g de la poudre est ajouté au 100ml du méthanol à 25% et met sous agitation mécanique pendant 24h.
- Après on fait une filtration sur un papier filtre pour obtenir un filtrat. La même opération est répétée cinq fois (cinq cycles).
- Le filtrat des cinq cycles est évaporé à sec à l'aide d'un rota vapeur.
- L'extrait obtenu est mis dans une boîte de pétre en verre dans l'étuve jusqu'à séchage pendant 24h, puis conservé à 4°C jusqu'à utilisation.

La même opération est répétée avec les autres concentrations du méthanol (50%, 75%, 100% méthanol et extrait aqueux).

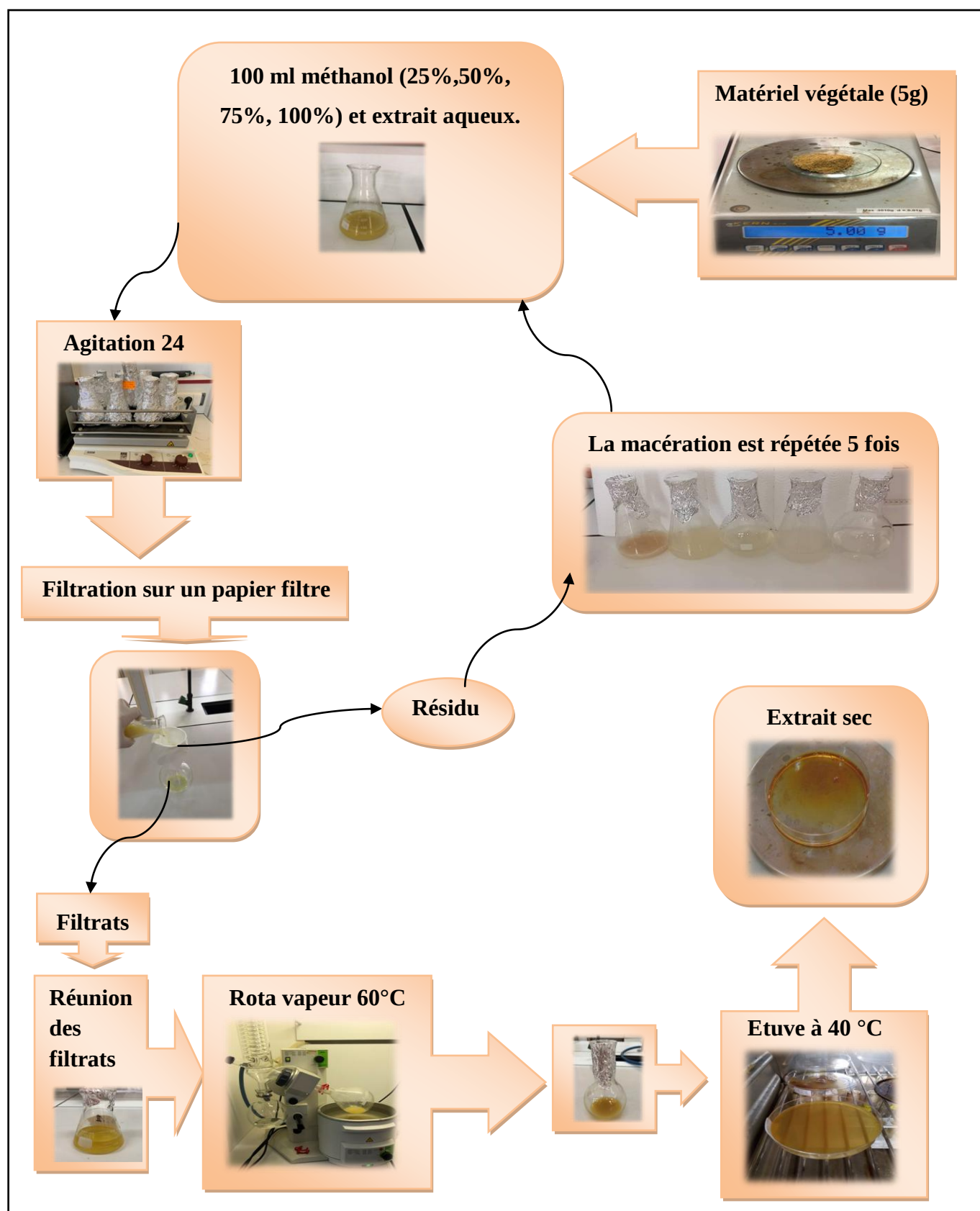


Figure 13 : Protocole d'extraction par macération des extraits méthanoliques et extrait aqueux (Adil et al., 2012).

I.2.3. Screening phytochimique :

Les tests phytochimiques sont des tests purement qualitatifs permettant de mettre en évidence et de caractériser les différents groupes chimiques contenus dans les extraits végétaux, basées sur des réactions de coloration et/ou de précipitation, des observations sous lampe UV peuvent être aussi utiles.

La mise en évidence des métabolites secondaires est faite par la méthode de réaction en tubes. Les résultats sont classés comme suit :

- ✓ Réaction (absence) : -
- ✓ Réaction (présence) : +

a) Recherche des substances poly phénoliques

La caractérisation des polyphénols est basée sur une réaction au chlorure ferrique (FeCl_3), à 2ml de l'extrait, une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2% est ajoutée. L'apparition d'une coloration bleu noirâtre ou verte plus ou moins foncée fut le signe de la présence des polyphénols (**Békro et al., 2007**).

b) Recherche des saponines

Test de mousse dans un tube à essai, introduire 2ml de l'extrait à analyser, ajouter 2ml d'eau distillée chaude, agiter pendant 15 secs et laisser le mélange au repos pendant 15min. Une hauteur supérieure à 1cm d'une mousse indique la présence des saponines (**Harborne, 1998**).

c) Recherche des tanins

La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant, 1ml de l'extrait, 1ml d'eau distillée et 1 à 2 gouttes de solution de FeCl_3 diluée. L'apparition d'une coloration vert foncé ou bleu-vert indique la présence des tanins (**Trease et Evans., 1987**).

d) Recherche des flavonoïdes

On trempe 10g de la poudre dans 150ml d'acide chlorhydrique à 2 % pendant 24h, on filtre et on procède aux tests suivants: On ajoute à 5ml du filtrat, des gouttes de KOH diluée. L'apparition d'une couleur jaune prouve la présence des flavonoïdes (**Benwqhi, 2001; Chaouch, 2001**).

e) Recherche des alcaloïdes

Nous avons procédé à une macération sous agitation pendant 2h de 2g de la poudre végétales dans 40ml de HCL dilué à 1%, ce mélange est ensuite filtré. Dans un tube à essai, introduire 5ml de filtrat et ajouter quelques gouttes de réactif Wagner. L'apparition d'une couleur marron indique la présence des alcaloïdes (**Chaouch, 2001**).

f) Recherche des composés réducteurs (glycosides)

Pour détecter ces molécules, un mélange constitué de 2ml d'extrait, 2ml d'eau distillée et 20 gouttes de liqueur de Fehling est chauffé à 90°C dans un bain marie, un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge brique (**Trease et Evans., 1987**).

g) Recherche des coumarines

Le résidu d'extrait est dissout dans 2ml d'eau distillée chaude. Le mélange est partagé dans deux tubes. On ajoute à un des tubes 0.5ml de NH_4OH 25%, ensuite, une goutte de chaque tube est prélevée puis déposée sur un papier filtre qui sera observé sous UV à 366 nm (**Bruneton, 1999**). Une fluorescence intense est observée pour le tube contenant le NH_4OH indique la présence des coumarines.

h) Recherche des quinones libres

Sur un volume de notre extrait, on ajoute quelques gouttes de NaOH 1%. L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libres (**Oloyede, 2005**).

i) Recherche des huiles

La présence des huiles est mise en évidence en ajoutant, 10g de la poudre dans la cartouche du soxhlet et 250ml éthanol dans la boule, après 30mn si on observe une couche mince huileuse transparente sur les parois de la verrerie, indique la présence d'huile, après le mélange est évaporé à sec à l'aide d'un rota vapeur pour éliminer le solvant et la récupération de l'huile (**Trease et Evans., 1987**).

I.2.4. Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction (%) est calculé par la formule suivante :

$$R(\%) = M / M_0 \times 100$$

R (%) = Masse de l'extrait sec.

M₀: Masse en gramme du matériel.

M : Masse en gramme de l'extrait sec résultant (**Harborne, 1998**).

I.2.5. Évaluation de l'activité antibactérienne :

Principe

Le principe de cette méthode consiste à réaliser une culture bactérienne sur milieu gélose nutritive, en présence de disques imbibés d'extrait de plante. Si ces derniers ont une activité antibactérienne, on observera une zone d'inhibition autour du disque due à la diffusion des échantillons dans le milieu (**Bauer et al., 1966**). Le diamètre de ces derniers est proportionnel à l'activité bactériostatique de l'extrait sur la souche testée. Plus il est grand, plus la souche est dite sensible. Cette activité peut s'exprimer directement en indiquant le diamètre de la zone d'inhibition en millimètre (**Ofeogbu et al., 2013**).

Le test a porté sur tous les extraits méthanoliques et aqueux du *Trigonella foenum-graceum* L. Préparés précédemment.

Souches bactériennes testées

Le support microbien est composé de souches ATCC :

- Deux Bactéries à Gram positif : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* ATCC 10987.
- Deux bactéries à Gram négatif : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

I.2.5.1. Préparation des milieux :

Selon **Bauer et al., (1966)**. La préparation des milieux effectués par les méthodes suivantes :

➤ **Préparation de milieu Mueller Hinton (MH)**

Le milieu MH a été préparé pour le but du repiquage des souches bactériennes et d'évaluation de l'activité antibactérienne.

Pour la préparation de la gélose Mueller Hinton dans un erlenmeyer on introduit 38g de MH avec 1000ml d'eau distillée, le mélange obtenu semait sous agitation continue à une température élevée sur une plaque chauffante jusqu'à le bouillage, le milieu sera divisée dans des flacons en verre (**Figure 14**).

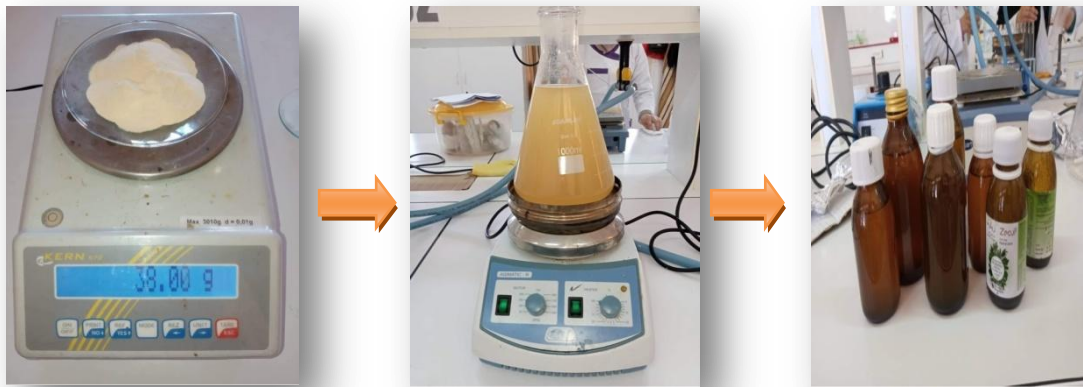


Figure 14 : Préparation de milieu Mueller Hinton (MH).

➤ **Préparation de milieu Bouillon Nutritif (BN)**

Le bouillon nutritif est utilisé pour la vérification de la vitalité des bactéries et la réactivation et l'entretien des souches bactériennes.

Par l'ajoute de 2g de BN à 1L d'eau distillé sous agitation pendant quelques minutes jusqu'à dissolution complète, la solution sera divisée dans des tubes en verre à vesse (**Figure 15**).



Figure 15 : Préparation de milieu Bouillon Nutritif (BN).

➤ **Préparation de l'eau physiologique**

L'eau physiologique est préparée pour l'ensemencement des souches. Elle est réalisée par solubilisation de 0.9g de NaCl dans 100ml d'eau distillée avec agitation pendant quelques minutes et divisée dans des tubes en verre à vesse (**Figure 16**) (**Bauer et al., 1966**).



Figure 16 : Préparation de l'eau physiologique.

➤ **Préparation des disques d'aromatogramme**

Une feuille de papier Wattman N°3 est coupée en disques de 6mm de diamètre. Ensuite ils sont mis dans un tube en verre à vesse, et stérilisés à l'autoclave et conservés jusqu'à l'utilisation (**Figure 17**).

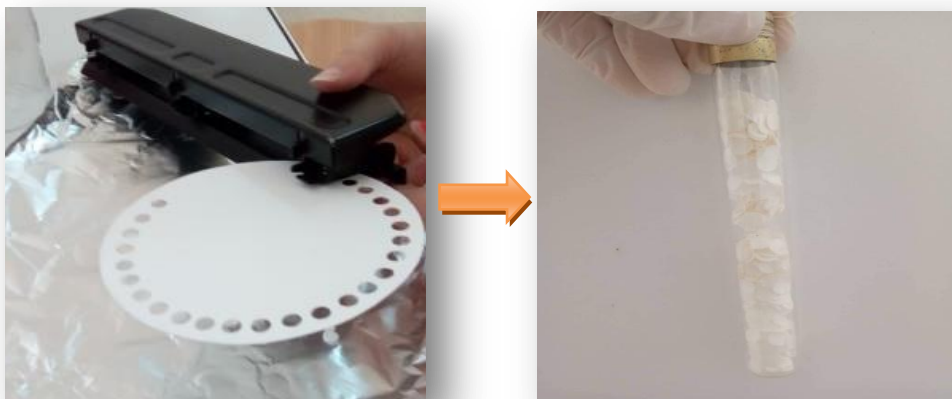


Figure 17 : Préparation des disques d'aromatogramme.

➤ **Stérilisation du matériel**

Le milieu de culture MH, l'eau physiologie, BN, les tubes à vis, les disques préparés, (les pinces et les embouts enrobées dans du papier aluminium), ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 20min (**Figure 18**).



Figure 18 : Stérilisation du matériel à l'autoclave.

➤ **Réactivation des souches bactériennes**

Les souches bactériennes ont été réactivées dans un Bouillon Nutritif et incubées à 37°C pendant 24h (**Figure 19**).

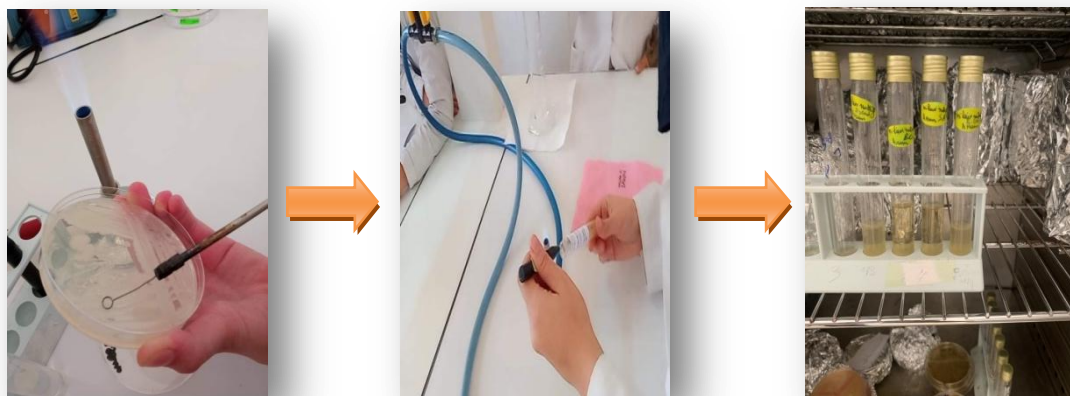


Figure 19 : Réactivation des souches bactériennes.

➤ Repiquage des souches bactériennes

Afin d'obtenir une culture jeune, et des colonies isolées les différentes souches bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries sur gélose nutritive en boîte de pétri. A l'aide d'une anse de platine stérile, puis incubées à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24h, qui ont servi à préparer l'inoculum bactérien (**Figure 20**).



Figure 20 : Repiquage des souches bactériennes.

➤ La dilution d'extraits

Les différents extraits de *Trigonella graceum-foenum* L. Ont été dilués par les mêmes solvants utilisés pendant la macération (les extraits aqueux par l'eau distillée, les extraits méthanoliques par méthanol) (**Figure 21**).

Les dilutions des extraits sont réalisées à analyses selon les méthodes suivantes :

- SM : 100mg d'extrait avec 1ml de MeOH [100%].
- T $\frac{1}{2}$: 0,5ml d'extrait de SM avec 0.5ml de MeOH [50%].
- T $\frac{1}{4}$: 0.5ml d'extrait de T $\frac{1}{2}$ avec 0.5ml de MeOH [25%].
- T $\frac{1}{8}$: 0.5ml d'extrait de T $\frac{1}{4}$ avec 0.5ml de MeOH [12.5%].

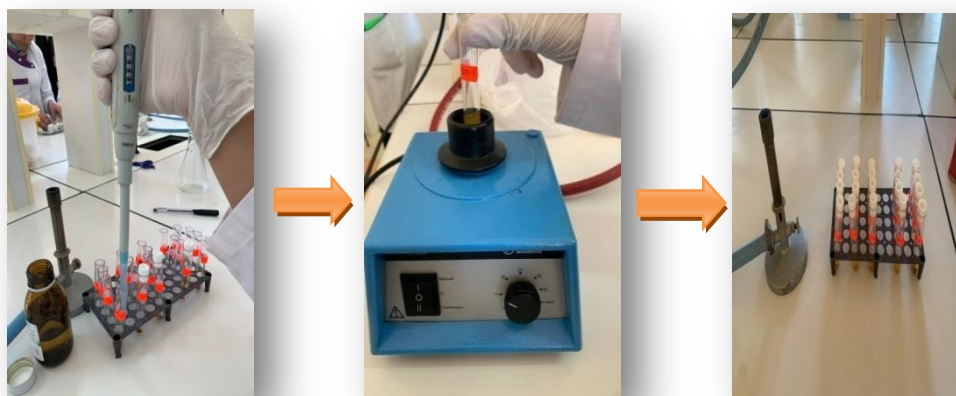


Figure 21 : La dilution d'extraits.

➤ **Préparation de l'inoculum bactérien**

- Après la stérilisation de zone de travail avec l'eau de javel.
- A l'aide d'un écouvillon, quelques colonies bien isolées et identiques de chaque souche bactérienne à tester sont alors raclées, déchargées dans un tube contenant 10ml de l'eau physiologique stérile à 0.9% puis homogénéisées à l'aide d'un vortex.
- Nous avons fait la lecture de la suspension bactérienne à une densité optique de (0.08 à 0.10), à la longueur d'onde 625nm.
- L'ensemencement doit se faire au moins en quelques minutes qui suivent la préparation de l'inoculum (**Figure 22**) (Younsi et al., 2010).

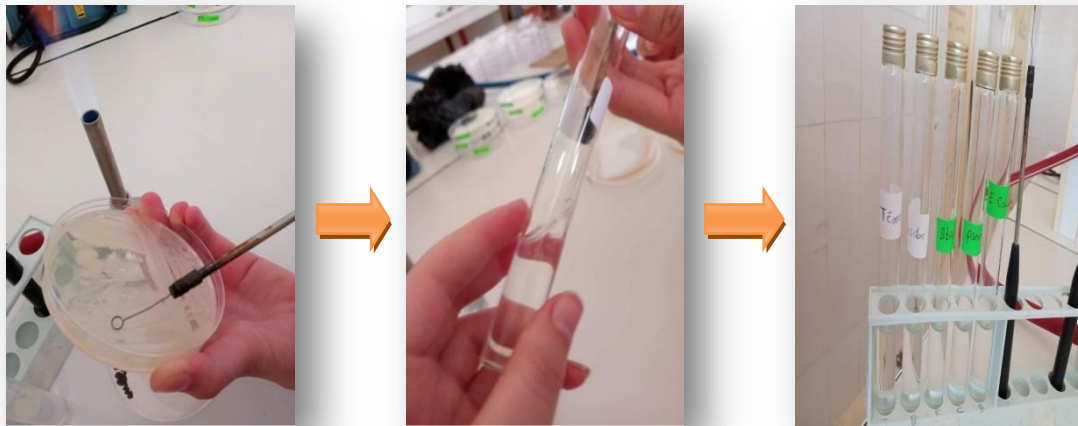


Figure 22 : Préparation de l'inoculum bactérien.

➤ **Coulage de milieux de culture MH**

On verse le milieu de culture (MH) stérilisé par l'autoclave dans des boîtes de pétrie à 4mm de hauteur près du bec benzène pour assurer une stérilisation parfaite jusqu'à la solidification (**Figure 23**).

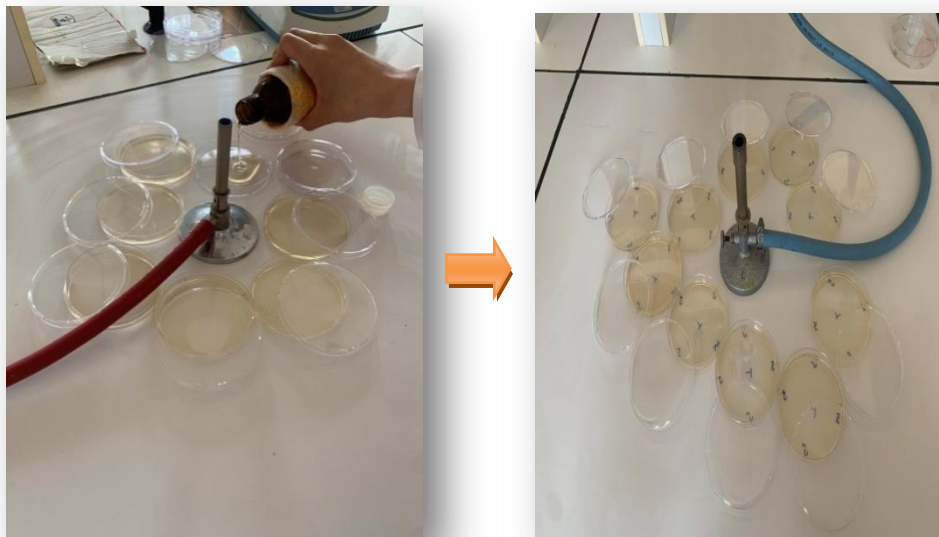


Figure 23 : Coulage de milieux de culture MH.

➤ **Ensemencement bactérienne**

Après la préparation et l'identification des boîtes de pétri nous avons fait l'ensemencement des bactéries dans un milieu stérile en présence de bec benzène. L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage sur boîtes de pétri.

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.
- L'essorer en le pressant fermement, sur la paroi interne du tube, en le tournant, afin de le décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération trois fois en tournant la boîte de Pétrie de 60° à chaque fois. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Recharger l'écouvillon à chaque fois dans le cas où on ensemence plusieurs boîtes de Pétri avec la même souche (**Figure 24**) (**Bendahou et al, 2007**).

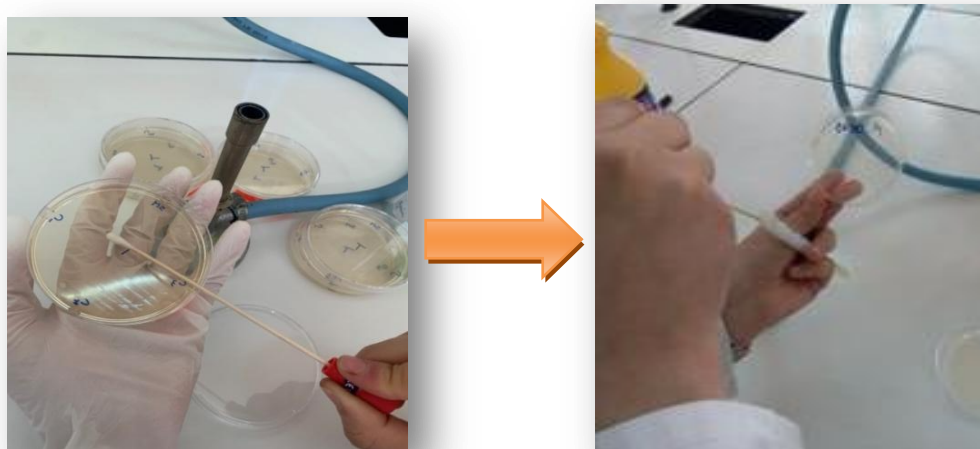


Figure 24 : Ensemencement bactérienne.

➤ **Dépôts des disques et l'injection des extraits**

- À l'aide d'une pince stérilisée au bec benzène les disques de papier Wattman de 6mm de diamètre sont placés délicatement sur la surface de la gélose MH ensemencées par les souches testées (**Figure 25A**).

- On a ajouté 10µl de chaque dilution des extraits méthanoliques (SM / T $\frac{1}{2}$ / T $\frac{1}{4}$ / T $\frac{1}{8}$ et extraits aqueux) sur les disques à l'aide d'une micro pipette (**Figure 25B**).
- Finalement, les boîtes de Pétri sont incubées pendant 24 heures à 37°C.

Il faut assurer la stérilisation de la zone et le matériel de travail avant, après et au cours du travail avec l'eau de javel concentré, et près du bec benzène ; la stérilisation est une étape vraiment nécessaire pour réaliser un bon résultat sans contamination.

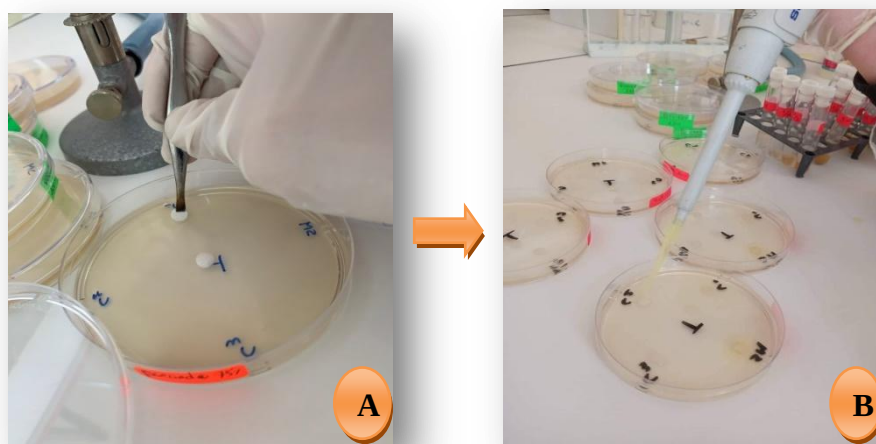


Figure 25 : Dépôts des disques (A) et l'injection des extraits (B).

➤ Lecture

L'effet des extraits se traduit par l'apparition d'une zone transparente autour de disque correspondant à l'absence de la croissance bactérienne.

La lecture se fait par la mesure du diamètre en (mm) de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'une règle. Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition, le diamètre d'inhibition rapportée est inclus en diamètre du disque de papier (6mm). Plus le diamètre de cette zone est grand plus la souche est sensible (**Boudjouref, 2011**).

Chapitre II :

Résultats et discussions.



II. Résultats et Discussions :

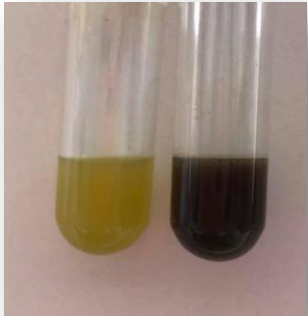
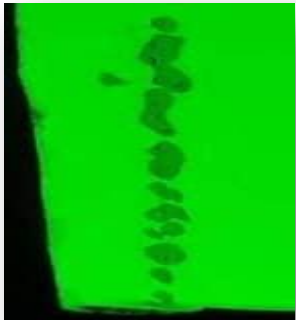
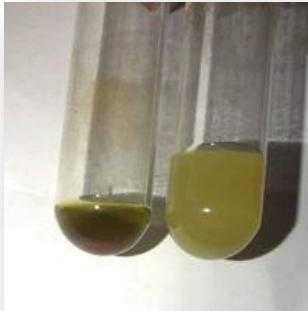
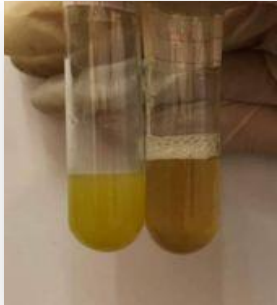
II.1. Screening phytochimique :

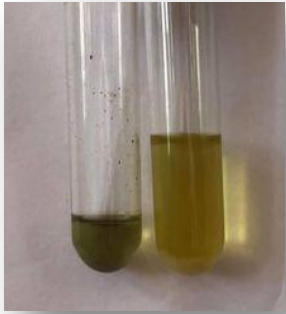
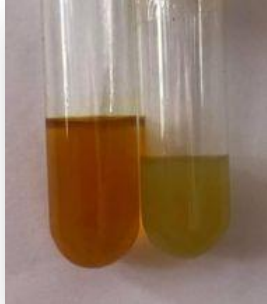
II.1.1. Résultat

L'évaluation préliminaire de la composition phytochimique de *Trigonella foenum-graecum* L. a permis de mettre en évidence la présence et l'absence de différents constituants chimiques. Ces dernières reposent sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque catégorie de composés et des observations sous lampe UV peuvent être aussi utiles (Tableau 03).

Tableau 03 : Résultats des tests phytochimique des graines de *Trigonella foenum-graecum* L.

Test	Résultat	Description des résultats	Photo
Test des flavonoïdes	+++	Les résultats de test des flavonoïdes ont donné une couleur jaune dans l'extrait de <i>Trigonella foenum-graecum</i> L. ce qui signifie que le test est positif.	
Test des alcaloïdes	+++	Le test des alcaloïdes, nous a donné un résultat très positif, indiqué par l'apparition d'une coloration marron.	

Test des acides phénoliques	+++	Nous avons remarqué la présence de la couleur verte foncé qui indique la présence des substances phénolique dans l'extrait de <i>Trigonella foenum-graecum</i> L.	
Test des coumarines	-	On a remarqué l'absence des fluorescences dans l'extrait de <i>Trigonella foenum-graecum</i> L. qui signifie que le teste de coumarines est négative.	
Test des glycosides	++	La formation d'un précipité rouge brique, indique la présence des glycosides dans l'extrait du <i>Trigonella foenum-graecum</i> L. avec une quantité importante.	
Test des Saponosides	+	Présence de la mousse dans l'extrait de <i>Trigonella foenum-graecum</i> L. indique la présence des saponines.	

Test des tanins	+++	Le test des tanins, nous a donné un résultat positif, indiqué par l'apparition d'une coloration verte.	
Test des huiles essentielles	+++	On observe une couche mince huileuse transparente sur les parois de la verrerie et l'émersion d'une odeur très forte, on l'a récupérée avec évaporation à sec.	 
Test des quinones	+	L'apparition de La coloration qui vire au jaune confirme la présence des quinones dans l'extrait de <i>Trigonella foenum-graecum</i> L.	

(+++): Test fortement positif.

(+) : Test faiblement positif.

(++) : Test positif.

(-) : Test négatif.

II.1.2. Discussion

Dans cette étude, nous avons réalisé un screening phytochimique sur les grains du *Trigonella foenum-graecum* L. Afin de détecter la richesse de cette plante en métabolites secondaires. Les résultats obtenus montrent que cette plante est riche en molécules bioactives, ce qui lui permet d'être utilisée comme phyto-médicament contre diverses maladies.

L'étude phytochimique des extraits bruts hydroéthanolique de notre plante a révélé la présence d'un nombre important des groupements chimiques de nature variée : Acides phénoliques, tanins, glucosides, saponines, flavonoïdes, alcaloïdes, quinones libres et les huiles essentielles. Par contre les coumarines sont absentes.

La richesse du trigonella en métabolite secondaire a été également confirmée par certains auteurs : **Kumari et al., (2016)** ; **Sumayya et al., (2012)** ; **Yadav et al., (2011)** et **Mishra et al., (2016)** qui ont démontré la présence des tanins, des flavonoïdes, des alcaloïdes, en plus, ils ont détecté la présence des anthraquinones, les terpénoïdes et les stéroïdes.

Par contre, Les résultats obtenus par **Verma et al., (2014)** ne sont pas en accord avec nos résultats, qui ont constaté une absence de tanins .

Aussi l'étude menée par **Benslimane et Belattar., (2017)** a démontré la présence des flavonoïdes, de tanins, des alcaloïdes, des glucosides, des anthraquinones et contrairement à nous elles ont détecté la présence des coumarines.

La diversité de résultats entre les différentes études peut être expliquée par l'origine de la plante, sa maturation, la période et l'origine de la récolte et aussi la méthode d'extraction utilisée.

II.2. Rendement d'extraction :

II.2.1. Résultat

La préparation des extraits bruts à partir des graines de *Trigonella foenum-graecum* L. été effectuée par macération dans le méthanol (extraits méthanoliques) et dans l'eau (extraits aqueux).

Dans cette étude, les rendements d'extraction de nos extraits obtenus après évaporation ont été déterminés par rapport au matériel végétal sec. Ces résultats sont représentés dans le tableau 04.

Tableau 04 : Récapitulatif regroupant les rendements des extraits de

Trigonella foenum-graecum L.

Matériel végétal	Les extraits	Rendement g	Pourcentage %
<i>Trigonella foenum-graecum</i> L.	Méthanolique100%	1.48	29.6
	Méthanol /eau 75%25%	0.82	16.4
	Méthanol /eau 50%50%	0.81	16.2
	Méthanol /eau 25%75%	0.62	12 .4
	Aqueux	0.6	12

II.2.2. Discussion

Il y a beaucoup de démarches afin d'obtenir les composés phytochimiques des plantes telles que le broyage, l'homogénéisation et l'extraction.

La technique d'extraction est une étape très importante dans l'isolement et la récupération des composés phytochimiques existants dans le matériel végétal. L'utilisation de la poudre à la place de la plante entière a pour but d'améliorer l'extraction, de rendre l'échantillon plus homogène, augmenter la surface du contact avec le solvant et faciliter sa pénétration à l'intérieur des cellules qui ne sont pas détruites après le broyage (**Do et al ., 2014**).

Dans notre travail, nous avons utilisé le méthanol et l'eau distillé comme deux solvants d'extraction, puisque leurs sélectivités sont élevées pour les polyphénols et ils

permettent de donner un meilleur rendement d'extraction en ces composés (**Spigno et al., 2007**).

Les extraits préparés à partir de notre échantillon ont donné des rendements compris entre 12 et 29,60%. On remarque que le rendement le plus élevé est obtenue avec l'extrait méthanolique (100% MeOH), le rendement est directement diminué proportionnelle avec la concentration du MeOH. Enfin on a obtenu le résultat le plus faible avec l'extrait aqueux.

Les résultats de **Valliappan et al., (2015)** dans un extrait hydroalcoolique préparé par macération, et **Bukhari et al., (2008)** dans un extrait méthanolique sont proches que nos résultats qui ont noté successivement un rendement de 29.19% et 25.89%.

Plusieurs études ont démontré un pourcentage de rendement plus élevé, on utilisant autre mode d'extraction et autres solvants. Dans une étude menée par **Ben Aissi, (2019)**, l'extrait aqueux des graines de *Trigonella foenum-graecum* L. a présenté un aspect marron foncé riche en molécules polaires et le rendement de l'extrait aqueux est plus élevé 55.24%, ce qui permet de dire que les molécules existantes sont fortement polaires. On peut justifier cette différence des résultats par l'utilisation d'une autre méthode d'extraction (infusion).

Cependant, l'étude menée par **Mishra et al., (2016)** sont relativement inférieure que celui de notre extrait (9.2%) pour un extrait méthanolique préparé par Soxhlet.

Dans une étude rapporté par **Desai et al., (2014)**, une extraction assistée par micro-ondes a été effectuée à plusieurs intensités et durées. L'utilisation d'une intensité de 320 W et d'une durée de 20 min pour le chauffage a donné une augmentation de 61,53% du rendement en mucilage, tandis qu'à 30 min, une augmentation de 76,92% du rendement en mucilage par rapport à une méthode de chauffage conventionnelle d'une heure.

Cette différence est due probablement à par la technique d'extraction, la nature des solvants utilisés, la partie extraite de la plante et la variété de la matière première.

II.3. Activité antibactérienne des extraits bruts de *Trigonella foenum-graecum* L.:

II.3.1. Résultats

Nous avons évalué l'activité antibactérienne des extraits de *Trigonella foenum-graecum* L. sur les souches bactériennes par la méthode de diffusion des disques, cette méthode est employée pour étudier l'activité antibactérienne des substances naturelles et des

extraits des plante (Gülçin et al., 2004). La méthode de disque a permis de déterminer l'action des différents extraits vis-à-vis des différentes souches microbiennes, celle-ci se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier préalablement imprégné de l'extrait. Le diamètre de la zone d'inhibition se diffère d'un microorganisme à un autre. la variation de l'activité antibactérienne des extraits s'explique par les variation de leurs compositions chimiques, il a été rapporté, qu'un extrait est considéré comme actif lorsqu'il induit une zone d'inhibition supérieure à 10mm (Tekwu et al., 2012). Les valeurs obtenues sont donnés dans les tableaux 05, 06, 07, 08 et (Figure 26).

A partir de tableau 05 on observe une activité antibactérienne très forte de l'extrait méthanolique de grains de *Trigonella foenum-greacum* L. contre la souche *B.cereus*. Le diamètre de la zone d'inhibition résulte de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique est entre (14-28,50 mm).

la zone d'inhibition la plus importante est signalée toujours avec la solution mère de l'extrait de concentration méthanolique 100% avec une zone de (28,50mm) suivi par l'extrait de la concentration 75% avec une zone de (26,50mm), puis l'extrait de 50% avec une zone de (24,50mm). L'extrait de concentration 25% a une activité antibactérienne moins importante (19,50mm). Pour l'effet des restes des dilutions $C_{1/2}$, $C_{1/4}$, $C_{1/8}$ nous avons remarqué une l'activité antibactérienne fort avec des zones d'inhibitions différentes entre (17,50-27,45mm) a l'exception de les dilutions de l'extrait 25% sont faibles (14,00-18,00mm).

Tableau 05 : Diamètres des zones d'inhibition des différents extraits méthanoliques (*B.cereus*).

Souche Bactérienne	D	Zone d'inhibition mm				
		25%	50%	75%	100%	H ₂ O
<i>B.cereus</i>	T	08,00	08,00	08,00	08,00	00,00
	SM	19,50	24,50	26,50	28,50	12,50
	$C_{1/2}$	18,00	23,00	25,50	27,45	12,00
	$C_{1/4}$	16,00	22,50	23,00	24,50	11,00
	$C_{1/8}$	14,00	17,50	19,00	21,50	10,00

D : dilution **T :** témoin **SM :** solution mère **C :** concentration

Selon le tableau 06 on remarque un pouvoir antibactérien très élevé de l'extrait méthanolique de grains de *Trigonella foenum-graecum* L. contre la souche *S.aureus*. La sensibilité de la souche bactérienne *S.aureus* résulte d'une zone d'inhibition de (27,00mm) de la solution mère avec la concentration 100% suivie par l'extrait de la concentration 75% avec une zone de (25,50mm) puis l'extrait de 50% avec une zone de (23,45mm) et le moins sensible est l'extrait de la concentration 25% (20,00mm). Pour l'effet des restes des dilutions $C_{1/2}$, $C_{1/4}$, $C_{1/8}$ nous avons remarqué un bon pouvoir antibactérien avec des zones d'inhibitions différentes entre (16,00-26,00mm).

Tableau 06 : Diamètres des zones d'inhibition des différents extraits méthanoliques (*S.aureus*).

Souche Bactérienne	D	Zone d'inhibition mm				
		25%	50%	75%	100%	H ₂ O
<i>S.aureus</i>	T	07,00	07,00	07,00	07,00	00,00
	SM	20,00	23,45	25,50	27,00	12,50
	$C_{1/2}$	19,00	22,00	24,00	26,00	11,45
	$C_{1/4}$	17,50	21,50	22,50	23,50	10,50
	$C_{1/8}$	16,00	17,00	18,00	20,00	10,50

A partir de tableau 07 on observe une activité antibactérienne moyenne de l'extrait méthanolique de grains de *Trigonella foenum-graecum* L. contre la souche *P.aeruginosa*. Le diamètre de la zone d'inhibition résulte de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique est entre (13,00-20,00mm). Le bon pouvoir antibactérien obtenu est (20,00mm) avec la solution mère de la concentration 100% suivie par l'extrait de la concentration 75% avec une zone d'inhibition de (18,50mm), puis l'extrait de 50% avec une zone de (17,00mm). L'extrait de concentration 25% a une activité antibactérienne moins importante (16,00mm). Pour l'effet des restes des dilutions $C_{1/2}$, $C_{1/4}$, $C_{1/8}$ nous avons remarqué une l'activité antibactérienne faible avec des zones d'inhibitions différentes entre (13,00-19,00mm).

Tableau 07 : Diamètres des zones d'inhibition des différents extraits méthanoliques (*P.aeruginosa*).

Souche Bactérienne	D	Zone d'inhibition mm				
		25%	50%	75%	100%	H ₂ O
<i>P. aeruginosa</i>	T	06,00	06,00	06,00	06,00	00,00
	SM	16,00	17,00	18,50	20,00	12,00
	C _{1/2}	15,00	16,45	17,00	19,00	11,45
	C _{1/4}	14,50	15,00	15,50	16,50	10,50
	C _{1/8}	13,00	14,50	14,00	15,00	09,50

A partir de tableau 08 on observe une activité antibactérienne faible de l'extrait méthanolique de grains de *Trigonella foenum-graecum* L., contre la souche *E.coli*. Le diamètre de la zone d'inhibition résulte de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique est entre (10,00-17,00mm). La zone d'inhibition de la solution mère SM de l'extrait avec la concentration méthanolique 100% est (17,00mm) suivi par l'extrait de la concentration 75% avec une zone de (15,50 mm), puis l'extrait de 50% avec une zone de (14,00mm). L'extrait de concentration 25% a une activité antibactérienne faible (13,45mm). Pour l'effet des restes des dilutions C_{1/2}, C_{1/4}, C_{1/8} nous avons remarqué une très faible activité antibactérienne avec des zones d'inhibitions différentes entre (10,00-16,00mm).

Tableau 08 : Diamètres des zones d'inhibition des différents extraits méthanolique (*E.coli*).

Souche Bactérienne	D	Zone d'inhibition mm				
		25%	50%	75%	100%	H ₂ O
<i>E.coli</i>	T	05,00	05,00	05,00	05,00	00,00
	SM	13,45	14,00	15,50	17,00	11,00
	C _{1/2}	12,00	13,00	14,00	16,00	10,50
	C _{1/4}	11,00	12,00	12,50	13,50	09,50
	C _{1/8}	10,00	11,50	12,00	12,45	09,00

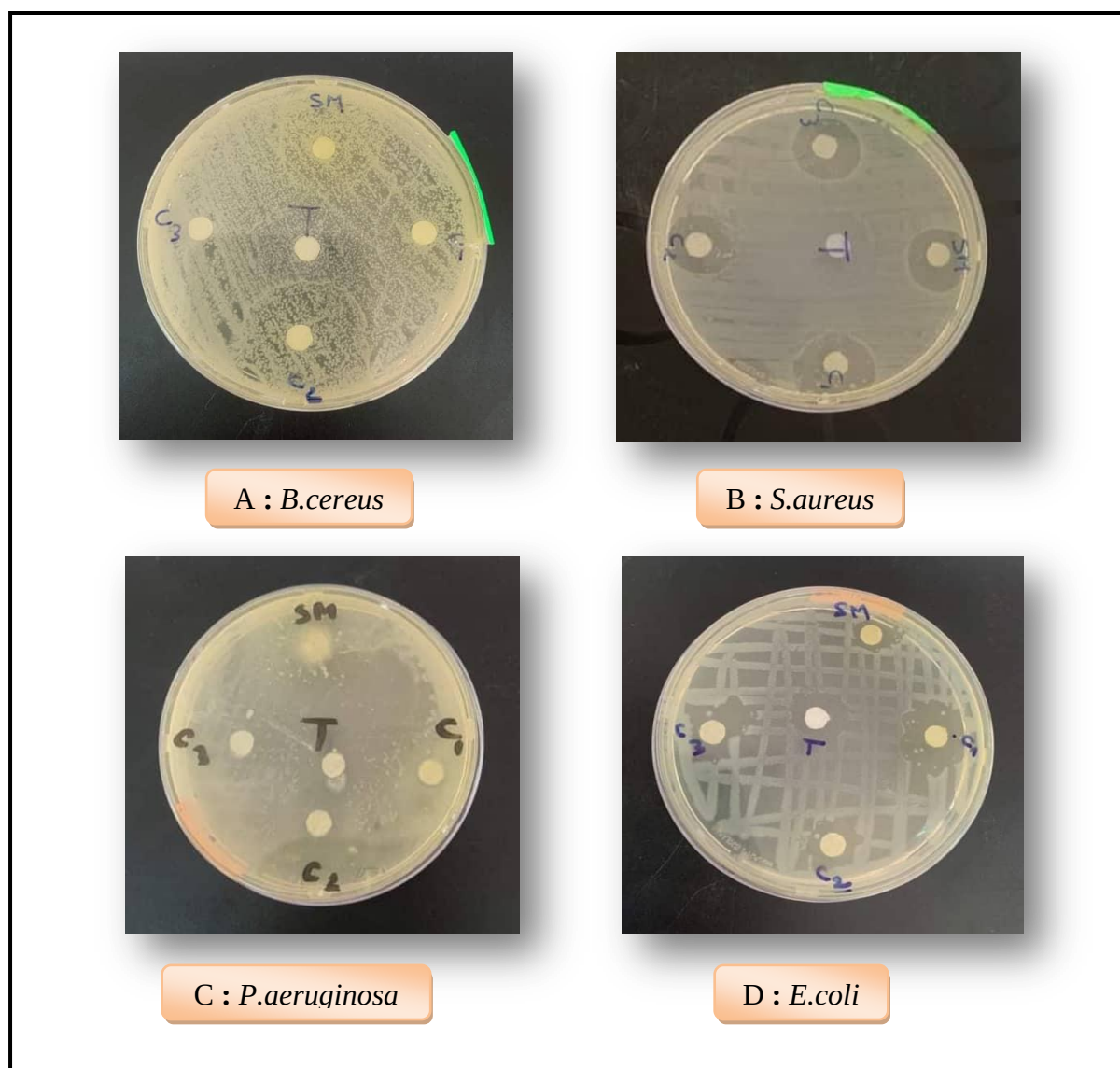


Figure 26 : Zones d'inhibition des différents souches bactériennes traitées par différentes concentrations d'extrait méthanolique.

II.3.2. Discussion

Les résultats obtenus de l'activité antibactérienne de l'extrait de *Trigonella foenum-greacum* L. montrent une variation des diamètres des zones d'inhibition selon les souches et en fonction de différentes concentrations.

B.cereus est une bactérie à Gram⁺, elle est très sensible à l'extrait de *Trigonella foenum-greacum* L. Avec diamètre des zones d'inhibition entre (14-28,50mm).

S.aureus est une bactérie à Gram⁺, elle est sensible à l'extrait de *Trigonella foenum-greacum* L. Avec diamètre des zones d'inhibition entre (16,00-27,00mm).

P.aeruginosa est une bactérie à Gram⁻, elle est moins sensible à l'extrait de *Trigonella foenum-greacum* L. Avec de diamètre des zones d'inhibition entre (13,00-20,00mm).

E.coli est une bactérie à Gram⁻, elle est à une très faible sensibilité à l'extrait de *Trigonella foenum-greacum* L. Avec de diamètre des zones d'inhibition entre (10,00-17,00mm).

Dans l'étude de **Mawahib et al., (2015)**, ont montré que les souches bactériennes *B.cereus*, *S.aureus*, et *E.coli* sont des souches sensibles à la gentamicine (17mm, 25mm, 17 mm) et à l'ampicilline (20mm, 20mm, 11mm), respectivement. En vue des résultats obtenus le pouvoir inhibiteur de *Trigonella foenum-greacum* L. sur *B.cereus*, *S.aureus*, *E.coli* est très satisfaisant en comparaison à la gentamicine.

Pour la souche *P.aeruginosa*, on a remarqué un pouvoir antibactérienne sur l'extrait méthanolique de *Trigonella foenum-greacum* L. notre résultats sont accord avec **Falleh et ses collaborateur,(2008)** qui ont montré que l'extrait méthanolique des feuilles de *C. cardunculus* (astéracée) était actif contre la souche bactérienne *P.aeruginosa*.

Pour les extraits aqueux ont été testé, les résultats montrent que l'eau présente un effet très faible sur la croissance normale des souches bactériennes.

Le diamètre de la zone d'inhibition résultant de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique contre *B.cereus* est supérieur que *S.aureus*, le diamètre de la zone d'inhibition résultant de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de *P.aeruginosa* est supérieur qu'*E.coli*.

Il est noté que les bactéries à Gram⁺ sont plus sensibles que les souches à Gram⁻, ceci est en accordance avec la majorité des travaux antérieurs. En effet, les Gram⁻ possèdent une résistance intrinsèque aux agents biocides, qui est en relation avec la nature de leur paroi bactérienne (**Labioud, 2016**).

La différence dans la structure de la paroi bactérienne joue un rôle important dans la susceptibilité des bactéries (**Chan et al., 2007 ; Tian et al., 2009**). Selon plusieurs auteurs, les bactéries Gram⁻ ont une membrane externe constituée de lipo polysaccharides (LPS) qui limite la diffusion des composés hydrophobes (**Yoda et al., 2004 ; Tian et al., 2009 ; Lacombe et al., 2010**). De plus, le périplasme contient des enzymes capables de détruire les molécules étrangères introduites de l'extérieur (**Klančnik et al., 2010**), ce qui rend ces

bactéries généralement moins sensibles aux extraits de plantes que les bactéries Gram⁺ (Estevinho et al., 2008 ; Šamec et al., 2010).

Cette activité antibactérienne de l'extrait méthanolique des graines *Trigonella foenum-greacum* L. pourrait être expliquée par la présence dans celles-ci de substances dotées d'une action inhibitrice sur la croissance bactérienne. En effet, il a été rapporté que les graines contiennent divers composés chimiques : des polyphénols, flavonoïdes, alcaloïdes, terpénoïdes, saponines et tanins (Djellouli et al., 2013).

Les polyphénols, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les huiles essentielles voire même les tanins pourraient induire une fuite d'ions potassium au niveau de la membrane et par voie des conséquences des lésions irréversibles au niveau de la membrane. Cette perméabilité au potassium est un effet précurseur de leur mort (Rhayour, 2002), ces substances actives sont présentées dans notre résultat des tests phytochimiques précédant dont l'apparition des couleurs explique que les extraits de *Trigonella foenum-greacum* L. est contient en polyphénols, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les huiles essentielles.

En outre, l'activité antibactérienne de l'extrait de la plante dépend d'un certain nombre de facteurs tels que, la période de récolte, les conditions édaphoclimatiques, la méthode d'extraction, la composition chimique, la solubilité dans d'autres solvants organiques, ainsi que les types de microorganismes testés et les conditions de réalisation des tests (Al-Reza et al., 2010 ; Obeidat et al., 2012).

An orange ribbon banner with a 3D effect, featuring a central rectangular panel and two flared ends. The text is centered on the central panel.

Conclusion générale

Conclusion générale

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques.

Les résultats de nos recherches bibliographiques et de nos études expérimentales nous ont permis de mieux connaître *Trigonella foenum-greacum* L. Ce dernier est une plante médicinale aromatique appartient à la famille de fabaceae qui utilisées par les thérapeutes traditionnels pour leur différentes propriétés.

Le présent travail avait pour but, Pour connaître la présence des substances bioactives l'évaluation du rendement d'extraction et de l'activité antibactérienne.

A la lumière des résultats obtenus des tests phytochimique nous avons révélé la présence des substances bioactives dans les grains de *Trigonella foenum-greacum* L. tel que les polyphénols, des flavonoïdes, saponines, alcaloïdes tanins, et quinones, glycosides et l'absence des coumarines.

Les résultats de l'extraction, à partir des grains de *Trigonella foenum-greacum* L. ont clairement montré que des grains un rendement (29.60%) des extraits méthanolique.

L'évaluation du pouvoir antibactérien des extraits a été réalisée sur quatre souches bactériennes: *B.cereus*, *S.aureus*, *P.aeruginosa* et *E.coli*. Les résultats de l'activité antibactérienne enregistrés de cette étude révèlent la sensibilité variable des agents pathogènes aux extraits testés.

L'effet le plus prononcé est observé avec l'extrait méthanolique vis-à-vis de souche *B.cereus* avec un diamètre de zone d'inhibition varie entre (14-28,50mm) suivie par *S.aureus* avec un diamètre varie entre (16,00-26,00mm) puis *P.aeruginosa* avec un diamètre de (13,00-20,00mm) et en fin *E.coli* avec (10,00-17,00mm). Les résultats obtenus sont encourageants pour l'utilisation de *Trigonella foenum-greacum* L. comme une source potentielle des molécules bioactives en thérapeutique.

*Références
Bibliographiques*

Références bibliographiques

A

- Abaza L., Taamalli A., Nsir H., et Zarrouk M., (2015). Olive tree (*Olea europaea* L) leaves: Importance and advances in the analysis of phenolic compounds. *Antioxidants*, 4(4), 682-698.
- Adil M., Sultana B., Babar T., Bashir A., Amjad M., et Hassan Q., (2012). Investigation on the antioxidant activity of leaves, fruit and stem bark of Dhraik (*Melia azedarach*). *European J ApplSci*, 4, 47-51.
- Albert L., (1998). La santé par les fruits. Ed. Veechi, Paris. p 44-74.
- Ali-dellile L., (2013). Les plantes médicinales d'Algérie. Berti Edition Alger 6-11.
- Al-Reza S.M., Rahman A., Ahmed Y. and Kang S.C., (2010). Inhibition of plant pathogens *in vitro* and *in vivo* with essential oil and organic extracts of *Cestrum nocturnum* L. *PesticBiochemPhysiol*, 96, 86–92.
- Amarowicz R., Janiak M. (2019). Hydrolysable Tannins. *Encyclopedia of Food Chemistry*, 337-343.
- Aruoma OI, Spencer JPE, Butler J et Halliwell B., (1995). Commutative reaction of plant derived and synthetic antioxidants with trichloromethylperoxyl radicals. *Free rad. Res.* p22, 187-190.

B

- Bahorun T., (1997). Substances Naturelles actives. La flore Mauricienne .une source d'approvisionnement potentielle. Food and Agricultural Research council Mauritias. P83-94.
- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D. et Idaomar M., (2008). Biological effects of essential oils. *Food Chemical Toxicology*. 46 : 446–475.
- Bauer A. W, Kirby W. M, Sherris J. C. and Turck M., (1966) .Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method.”*AM. J. Clin. Pathol* Vol 45.P493-496.

- Békro Y.A, Békroj A.M, Bouab.B, Trab F.H and Ehilé E.E., (2007). Etude ethnobotanique et Screening phytochimique de *Caesalpinia benthiana*. (Bai) Herend et Zarucchi (caesalpinaceae). Rev. Sci. Nat, 4 (2): P 217-225.
- Bencharif S. (2014). Isolement et caractérisation de saponosides extraits de deux plants de deux plantes médicinales *cyclamen africanum*, *Zygophyllum cornutum* et évaluation de leur activité anti-inflammatoire.thèse de doctora d'état, université de Costantine1, Alger. p.219.
- Bendahau M., Nenyouchef M., benkhada D., Elissacosta J., (2007). Influence of the processes extraction on essentialoli of *origanum gl and ulosum* .J. of applied sciences. 8: P 1152-1157.
- Benhouda A., Yahia M., Benhouda D., Bousnane N. E., Benbia S., Hannachi N. E.,GhechamA. (2014). Antimicrobial and Antioxidant activities of various extracts of *Hyoscyamus albus L.* and *Umbilicus rupestris L.* leaves. Algerian J. Nat. Products, 2, 14-17.
- Benwqhi K., (2001). Contribution à l'étude des flavonoïdes dans la plante *cynodon Dactylon L* chiendent, mémoire de magister. Université d'Ouargla. P15 – 17.
- Bianchi V., Duployez N ., El Anbassi S. (2013). Bactériologie - virologie. De Boeck. (Prepa pharma).
- Boudjouref M., (2011). Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisiacampestris L.* Thèse de Magister en Biochimie. Université Ferhat Abbes, Sétif. Algérie. 99 p.
- Bouzabata A., (2016). Phytothérapie. Les médicaments à base de plantes en Algérie réglementation et enregistrement [en ligne]. Disponible sur <https://link.springer.com>.
- Bruneton J., (1999) .Pharmacognosie « Phytochimie Plantes » Médicinales 3^{ème} Ed, Tec et doc, Paris-P484-540.
- Bruneton J., (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Techniques et Documentation. 3^{ème} Edition. Lavoisier, Paris, p : 199- 915-388.
- Bruneton J., (1999). « Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales », Ed. Tec & Doc, Paris, p.483-560.

C

- Carle S., (2009). La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important. *Pharmactuel*, Vol. 42 Supplément 2, 1-16 P.
- Causse C., (2004). Les secrets de santé des antioxydants: plus jeune, plus longtemps avec les antioxydants. Paris: Alpen Editions sam. 2004,95 p.
- Chan E. W. C. ; Lim Y. Y. et Mohammed O., (2007). Antioxidant and antibacterial activity of leaves of *Etlingera* species (Zingiberaceae) in Peninsular Malaysia. *Food Chemistry*, 104: 1586–1593.
- Chandrasekara A., (2019). Phenolic Acids. *Encyclopedia of Food Chemistry*, 535-545.
- Chaouch N., (2001). Etude des Alcaloïdes dans la coloquinte *colocynthisvulgaris* (L) Schrad (cucurbitacées) Région de Oued N'sa (wilaya de Ouargla), mémoire de magister; Université de Ouargla. P 44
- Chetley, A., (2000). Médicaments à problèmes. Paris: edition Re Med, p 405.
- Cohen Y et Jacquot C., (2001). Pharmacologie. 5ème Ed. Masson. Paris. p350. Conséquences Pathologie Biologie : article in press.
- Cronk Q., Ojeda I., Pennington R., (2006). Legume comparative genomics: progress in phylogenetics and phylogenomics. *Curr Opin Plant Biol* (9) :99-103..
- Cuendet, M., (1999). Recherche de nouveaux composés capteurs de radicaux libres et antioxydants à partir d'une plante d'Indonésie : *Fagraea blumei* » (Loganiaceae) et de trois plantes d'altitude : *Bartsia alpina* (Scrophulariaceae), *Loiseleuria procumbens* (Ericaceae) *Campanula barbata* (Campanulaceae). Université de Lausanne. Thèse de doctorat, p 24.

D

- Delille L., (2007). Les plantes médicinales d'Algérie. Édition BERTI. Alger, 122 p.
- Djellouli M., Moussaoui A., Benmehdi H., Ziane L., Belabbes A., Badraoui M., Slimani N. and Hamidi N., (2013). Ethnopharmacological study and phytochemical screening of three plants (Asteraceae family) from the region of South West Algeria. *Asian journal of natural & applied sciences*, 2, 59-65.

- Dutertre J.M., (2011). Enquête prospective au sein de la population consultant dans les cabinets de médecine générale sur l'île de la Réunion : à propos des plantes médicinales, utilisation, effets, innocuité et lien avec le médecin généraliste. Thèse doctorat d'état, Univ. Bordeaux 2-Victor Segalen U.F.R des sciences médicales, France, 33 p.

E

- Eberhard T, Robert A, Annelise L., (2005). Plantes aromatique, épice aromates, condiments et huiles essentielles. Tec et Doc. Lavoisier. Paris France extraction and analysis. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 41: 1523-1542.
- Elghozi J L et Duval D., (1992). Pharmacologie 2ème éd : Médecine Flammarion. Paris. p. 289
- Estevinho L., Pereira A., Moreira L., Dias, L et Pereira E., (2008). Antioxidant and antimicrobial effects of phenolic compounds extracts of Northeast Portugal honey. Food and Chemical Toxicology, 46: 3774–3779.
- Eureka Santé., (2016). Flavonoïdes (polyphénols). Vidal. Février, <http://eurekasante.vidal.fr/parapharmacie/complementsalimentaires/flavonoidespolyphenols.html>.

F

- Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M. and Abdelly C., (2008). Phenolic composition of *Cynaracardunculus* L. organs, and their biological activities. Comptes Rendus Biologies, 331, 372-379.
- Farnsworth N.R., Akerele O, Bingel A., S., Soejarto D., et Guo Z. (1986) .Plantes des plantes médicinales dans la thérapeutique. Bulletin de l'organisation mondiale de santé ,64 (2) : pp. 159-164 - Filliat P. (2012). Les plantes de la famille des Apiaceae dans les troubles digestifs. Faculté de Pharmacie de Grenoble, 129p.
- Felidj M., Bouazza M., Ferouani T., (2010). Short paper about the floristic community and the interest of *Ammoides pusilla* (verticillata), a medicinal plant from Mounts of Tlemcen National Park (Western Algeria). Geo-Eco-Trop, 34, 147 – 154.
- Fraga C.J., Oteiza P.I., (2011). Dietary flavonoids: role of epicatechin and related procyanidins in cell signaling. *Free Radical Biology and Medicine*, 51 (4): 813-823.

G

- Garcia-Ruiz A., Bartolomé B., Martinez-Rodriguez A.J., Pueyo E., Martin-Alvarez P.J., and Moreno-Arribas M.V., (2008). Potential of phenolic compounds for controlling lactic acid bacteria growth in wine. *Food Control*. 19: 835–841.
- Geoff B., (2005). *Encyclopédie de botanique et d'horticulture plus de 10 000 plantes du monde entier*. Edition française Tandem Verlage GmbH: 896.
- Gepts P, Beavis W.D., Charles B., Nevin D., Norman F.W., (2005). Legumes as a Model Plant Family. *Genomics for Food and Feed Report of the Cross-Legume Advances through Genomics Conference*. *Plant Physiology* 137 (4): 1228-1235.
- Ghedira, K., Goetz1, P., Le Jeune, R., (2010). Fenugrec: *Trigonella foenum-græcum* L. (Fabaceae ex. Leguminosae). 8, 180-4.
- Guelmine, M., (2018). Etude de l'activité antibactérienne des extraits de deux plantes médicinales (*Artemisia herba alba*) et (*Nerium oleander*) dans la région de Biskra. Mémoire de master. Université Mohamed Khider-Biskra. 30p.
- Gülçin I., Kufrevioglu O.I., Oktay M., Buyukokuroglu M.E., (2004). Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). *J. Ethnopharmacology*. 90: P 205–215.
- Gupta A., (2001). Effect of *Trigonella foenum-graecum* L. (fenugreek) seeds on glycaemic control and insulin resistance in type II diabetes mellitus: a double blind, placebo-controlled study. *J Assoc Phys India* 49:1057–61.
- Guy G., (1997). *Les plantes à parfum et huiles essentielles à Grasse*. Édition L'Harmattan paris.

H

- Habibatni, Z., (2009). Effet toxicologique de quelques plantes algériennes. Mémoire pour l'obtention du diplôme de magister. Université Mentouri de Constantine. 77p.
- Hadi M., (2004). La quercétine et ses dérivés: molécules à caractères pro-oxydants ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Mémoire doctorat, Université Louis Pasteur Strasbourg, p 155.

- Harborne J B., Williams C A., (1998). Anthocyanins and other flavonoids. Natural Product Reports18: 310-333.
- Harborne J.B., (1998). Phytochemical Methods: A guide to modern technics of plant Analysis 3e Ed: Chapman and hill. P 303.
- Harchane H., El Addas H., Amsaguine S., El Amrani N., Radallah D., (2012). Effets de l'extrait aqueux des graines du fenugrec (*Trigonella foenum-graecum* L.) sur l'amélioration du profil lipidique et la prise de poids chez le rat. Phytothérapie, 10 (6),357-362.
- Hartmann T., (2007). From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant secondary metabolism. Phytochemistry. p68, 2831–2846.
- Hennebelle T., (2006). Investigation chimique et chimiotaxonomique et pharmacologique de Lamiales productrices d'antioxydants. Marrubium peregrinum, Ballota larendana, Ballota Pseudodictamnus (Lamiacées) et Lippia alba (Verbenacées), Thèse de Doctorat, Université des Sciences et Technologique de Lille, Lille 1. France.
- Hong X.Y, Wan M, Dong H, But P.P.H and Foo L.Ycap., (2000). Inhibitory activity of flavonoids and tannins against HIV-1 protease. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 23(9) .p 1072 - 1076.
- Hopkins W. G., (2003). Physiologie végétale. 2ème édition américaine, de Boeck et Lancier SA, Paris. 514p.

I

- Igor Passi L. B., (2002). Etude des activités biologiques de FagarazanthoxylodesLam. (Rutaceae). Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Pharmacie. Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'odontostomatologie du Bamako. Mali.
- Iserin P., Masson M et Restellini J P., (2007). Larousse des plantes médicinales. Identification, préparation, Soins .Ed Larousse. ; p14.
- Izzo A., (2005). Cardiovasculaire pharmacotherapy and herbai medicine: the risk interaction! nt. J. cardial. 98 (1): 1-14.

J

- Jean-Luc Aboya Moroh., (2013). Résistance bactérienne et phytomolécules antimicrobiennes issues de *Morinda morindoides*. Sciences agricoles. Université de Bretagne occidentale – Brest. Français. p : 19-30.

K

- Kaur S.J, Grover I.S and Kumar S., (2000). Modulatory effects of tannin fraction isolated from *Terminalia arjuna* on the genotoxicity of mutagens in *Salmonella typhimurium*. *Food and Chemical Toxicology*, 38(12). p1113 -1119.
- Kempf S., Zeitouni., (2009). Coût biologique de la résistance aux antibiotiques: analyse et
- Khiati M., (1998). Guide des maladies infectieuses et parasitaires. OPU, Alger.
- Klančnik, A., Guzej, B., Hadolin Kolar, M., Abramovič, H., Smole Možina, S., (2009). *In vitro* antimicrobial and antioxidant activity of commercial rosemary extract formulations. *J. Food Prot.* 72, 1744–1752.
- Kumari O. S., Rao N. B., & Gajula R. G., (2016). Phytochemical analysis and antimicrobial activity of *Trigonella foenum-gracum* L. (Methiseeds). *Journal of Medicinal Plants*, 4(4), 278-281.
- Kunst, F.N., Ogasawara et al., (1997). "The complete genome sequence of the gram positive bacterium *Bacillus subtilis*. " *Nature*, 390(6657), 249-56.

L

- Labiod R., (2016). Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide. Thèse de Doctorat en Biochimie appliquée, Université Badji Mokhtar-Annaba.
- Lacombe A., Wu, V. C. H., Tyler, S. et Edwards K., (2010). Antimicrobial action of the American cranberry constituents; phenolics, anthocyanins, and organic acids, against *Escherichia coli* O157:H7. *International Journal of Food Microbiology*, 139: 102–107.

- Lagha, N., (2015). Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées de l'hôpital de Laghouat. Thèse de doctorat. Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen. 105P.
- Leclerc H, Gaillard J-L, Simonet M., (1995). Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien. Doin Editeurs, Paris.
- Lehmann H., (2015). Les plantes médicinales en France, entre pharmacie et herboristerie : aspects historiques et législatifs, Annales Pharmaceutiques Françaises, 73.
- Lejoly J., (2005). Biologie végétale, BIOL-J-1-02 VOLUME II, Systématique des plantes à fleurs en relation avec les principales plantes médicinales, Université Libre de Bruxelles, Institut de pharmacie.
- Long H.S, Tilney, P.M, Van Wyk B. E., (2010). The ethnobotany and pharmacognosy of *Olea europaea* subsp. *africana* (Oleaceae). South African Journal of Botany. 76 (02): 167-420.

M

- Mabry T et Ulubelen A., (1980). Chemistry and utilization of phenylpropanoids including flavonoids, coumarins and lignans. J. Agric. Food Chem. 28, p 188-196.
- Macheix J J, Fleuriet A, et Jay-Allemand C.H., (2005). Les composés phénoliques des végétaux. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, Lausanne, 190 p. ISBN: 2-88074-625-6.
- Macheix, J.J., Fleuriet, A., Jay-Allemand, C., (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. 192 p
- Madhava-Naidu M., B. Shyamala, J. Pura, Naik, G. Sulochanamma et P. Srinivas., (2011). Chemical composition and antioxidant activity of the husk and endosperm of fenugreek seeds. LWT-Food Science and technology, 44, 451-456.
- Maillard M. N., (1996). Thèse Doct., E.N.S.IA., Paris. 148p.
- Majidi F, Kamalinejad M, Ghaderi N, Vahidipour HR., (2003). Phytochemical screening of some species of Iranian plants. Iranian J Pharma Res. ; 77 – 82.
- Marouf A., Reynaud J., (2007). La botanique de A à Z .DUNOD, Paris, p : 9-20-176- 177.
- Marzougui N., Elfalleh W., Boubaya A., Guasmi, F., Ferchichi A., Lachieheb B .and Beji M., (2010). Répercussion de la polyploidie sur le profil moléculaire ISSR et sur les

- contenus en vitamines et en protéines chez *Trigonella foenum-graecum* L. Acta Bot. Gallica, 157(1), 89- 99.
- Mawahib E.M. E., Ammar M.A .A. and BadrEldin A.E.S., (2015). Antimicrobial Activities and Phytochemical Screening of Callus and Seeds Extracts of Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.). Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci, 4(2), 147-157.
 - McCalley D.V., (2002). Analysis of the Cinchona alkaloids by high-performance liquid chromatography and other separation techniques, Review. *Journal of Chromatography A*, 967:p:1–19.
 - Merghem R., (2009). Elément de biochimie végétale à l'usage des étudiants en pharmacie, en sciences alimentaires et en sciences de la nature et de la vie. Bahaeddine Edition, Algérie, p107-132.
 - Messioughi, A., (2010). Analyse des substances actives "les flavonoïdes" et action antibactérienne d'une fabacée à intérêt médicinal "*Medicagosativa*.L." cultivée sur des sols du Nord-Est algérien. Mémoire de magistère. Université Badji Mokhtar Annaba.107p.
 - Meyer A, Deiana J., (1988). Cours de microbiologie générale. Doin éditeurs, paris. p 201.
 - Mogode D., (2005). « Etude phytochimique et pharmacologique de *Cassia nigricans*vahl (*Caesalpinaceae*) utilisé dans le traitement des dermatoses au Tchad » .Université de Bamako.
 - Mohammedi Z., (2006). Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire de magister. Université Abou Bakr Belkaïd. Tlemcen. Algérie. Page: 155.
 - Mokaddem A., (1999). Cause de dégradation des plantes médicinales et aromatiques d'Algérie.Revue vie et nature, volume 7, pages 24-26.
 - Monsieur B., (2005). Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *combretum glutionsumperr*. Ex : (*combretaceae*). Mémoire Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie (Diplôme d'Etat).Université de Bamako. Mali. P: 141.
 - MoradiKor N., Diadarshetaban M.B., Saeid H.R., (2013). Fenugreek (*Trigonella foenum graecum* L) as a valuable medicinal plant. International Jornal of Advanced Biological Research. 1(8): pp 922-931.

N

- Nauciel, Vildé., (2005). Bactériologie medicinal
- Nicklin J., Graeme-cook K., Paget T., Killington R., (2000). L'essentiel en Microbiologie, Paris, Berti édition.

O

- Obeidat M., Shatnawi M., Al-alawi M., Al-Zu'bi E., Al- Dmoor, H., Al-Qudah M., El-Qudah J. and Otri, I., (2012). Antimicrobial activity of crude extracts of some plantleaves. Res JMicrobiol, 7, 59–67.
- Ofegolbn, O., Anytam, J. and Onuwa, O.P., (2013). The effect of extraction protocol on the phytochemical and antimicrobial activities of Lantana camaralea fextract found within a local environment. Journal of Basic and Applied Chemistry, 3(1), 5-10P.
- Ohemeng K.A, Schwender C.F, Fu K.P et Barrett J.F., (1993). DNA gyraseinhibitory and antibacterial activity of some flavones. Bioorg. Med. Chem. Lett, 3 (2).
- Oloyede OI., (2005). Chemical profile of Unripe Pulp of Caricapapaya. Pak J Nutr; 4. P379 -381.
- Ozenda P., (1991). Flore et végétation du Sahara. 3eme édition .CNRS. Paris .P225- 30.

P

- Patil S.P. et al., (1997). Allergy to fenugreek an allergy asthma immunol. 78 (3) : 297-300.
- Percival SL., (2004). Microbiology of waterborne diseases. Ed. Elsevier Academic Press, Amsterdam; Boston, p. 480.
- Petropoulos G-A., (2002). Fenugreek. The genus Trigonella. Edition Taylor & Francis New York. Severe Conditions and in an Arid Climate. Microbiol Mol Biol Rev 63:968–89.
- Philippon A., (1995) .Quelques bacilles à Gram négatif aérobies stricts non fermentaires et sensibilité aux antibiotiques. Lett. Infectiol. 10: 619-630.

- Pibiri M., (2006). Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de doctorat, école polytechnique fédérale de Lausanne, p: 161.
- Pierre C et Marie C., (2003). Bactériologie. Université Paris. Paris. 122P.

Q

- Queen B.L., Tollefsbol T.O., (2010). Polyphenols and Aging. Current Aging Science, 3 (1): 34-42.
- Quezel P., Santa S., (1963). La nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II, Ed: CNRS. Paris. 360-361 p.

R

- Rahmani M., Toumi-Benali F., Hamel L. et al., (2015). Aperçu ethnobotanique et phytopharmacologique sur *Trigonella foenum-graecum* L. Phytothérapie. <https://doi.org/10.1007/s10298-015-0964-9>.
- Rhayour K., (2002). Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*, Thèse de doctorat. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fès. Maroc. P 158.

S

- Salunkhe D.K., Chavan J.K, Kadam S.S., (1990). Nutritional consequences of dietary tannins: consequences and remedies. Boca Raton. Florida: CRC press. Pp 113-146.
- Šamec D., Gruz J., Strnad M., Kremer D., Kosalec I., Jurišić Grubešić R., Karlović K. ; Lucic,A., et Piljac-Zegarac J., (2010). Antioxidant and antimicrobial properties of *Teucrium arduini* L. (Lamiaceae) flower and leaf infusions (*Teucrium arduini* L. antioxidant capacity). Food and Chemical Toxicology, 48: 113–119.
- Sanago R., (2006). Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université e plante utilisée. Mais le phytothérapeute veillera à soigner un tout et non pas un symptôme. Bamako (Mali): 53.

- Sandrine L., (2004). Lyon ; Diversité structurale et d'activité biologique des Albumines entomo toxiques de type 1b des graines de Légumineuses. Thèse de doctorat.
- Sauvaire Y., Baissac O., Petit P. et Ribes G., (1996). Steroidsaponins from Fenugreek and some of their biological properties. Pages .37-46 in G.R. Waller et Yamasaki K, eds. Saponins used in food and agriculture; Advances in experiment a medecine and biology.Vol.405. Plenum press, New york.
- Schauenberg P. et Paris F., (2006). Guide des plantes medicinales : analyse, description et utilisation de 400 plantes. Ed delachaux et niestle, Paris. PP: 13-330.
- Sheicklar A., (2013). *Trigonella foenum-graecum* L. (Fenugrec) as a Medicinal Herb in Animals Growth and Health. Science international, (1) 6,194-198.
- Shirani G., Ganesharanee R., (2009). Extruded products with Fenugreek (*Trigonella foenum-graecium* L.) chickpea and rice: Physical properties, sensorya \$ceptability and glycaemic index. Journal of Food engineering, 90(1), 44-52.
- Sinskaya E., (1961): Flora of cultivated plants of U.S.S.R. XIII. Perennial leguminous plants.
- Skalli A et Soulaymani N., (2008). Pharmacovigilance des plantes médicinales .Thèse de doctorat, Université de Maroc.
- Stavric B et Matula T., (1992). Flavonoids in food. Their significance for nutrition and health. p:274-294.
- Steven P., Rachel C., Martha E., Paul H., Jane S., and Peter W.J., (2004). Microbiology of Waterborne Diseases. Ed Elsevier Academic Press. pp: 71-132.
- Stöckigt J, Sheludko Y, Unger M, Gerasimenko I, Warzecha H et Stöckigt D., (2002). High-performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoretic–electrospray ionisation mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups. Review Journal of Chromatography A, 967.p85–113.
- Sumayya A. R., Srinivasan S., et Amatullah N., (2012). Screening and biochemical quantification of phytochemicals in fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.). Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences, 3(1), 165-169.

T

- Tekwu EM, Pieme AC, Beng VP., (2012). Investigations Of Antimicrobial Activity Of Some Cameroonian Medicinal Plant Extracts Against Bacteria And Yeast With Gastrointestinal Relevance. *Journal of Ethno pharmacology*, 142: P 265-273.
- Tenover F-C., (2006). Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *American Journal of Infections control*, 34, 3-10.
- Tian F., Li B., Ji B., Yang J., Zhang G., Chen Y., et Luo Y., (2009). Antioxidant and antimicrobial activities of consecutive extracts from *Galla chinensis*: The polarity affects the bioactivities. *Food Chemistry*, 113: 173-179.
- Trease E et Evans W.C., (1987). *Pharmacognosy Billiaire*. Ed. Tindall London. 13: P 6162.

V

- Verma S., Malviya R., Kumar Sharma P., (2014). Extraction, Characterization and Evaluation of Film Forming Capacity of Natural Polymer. *Drug Delivery Lettres*, 4(3), 244-253.
- Vermerris W., (2006). *Phenolic compound biochemistry*. Springer. Dordrecht. ISBN-1001- 4020-5163-8 (HB).
- Volack J et Stodola J., (1983). *Les plantes médicinales* .Ed GRUND, paris.

X

- Xavier G., 2015. *Phytothérapie : Plantes médicinales*, Creapharma,

Y

- Yadav R., Tiwari R., Chowdhary P., & Pradhan C. K., (2011). A pharmacognosticalmonograph of (*Trigonella foenum-graecum* L.). *Screening*, 1(6).

- Yadav U. C., Baquer N. Z., (2014). Pharmacological effects of *Trigonella foenum-graecum* L. in health and disease. *Pharmaceutical biology*, 52(2), 243254.
- Yoda Y., Hu Z.-Q., Zhao W.-H et Shimamura T., (2004). Different susceptibilities of *Staphylococcus* and Gram-negative rods to epigallocatechin gallate. *J Infect Chemother*, 10: 55-58.
- Younsi Y., Meledjem S., Naidja K., (2010). Extraction et évaluation expérimentale in vitro de l'activité antibactérienne des extraits de quelques plantes médicinales. Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme des Etudes supérieures en Biologie. Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Université de Jijel, P29.

Z

- Zekkour M., (2008). Les risques de la phytothérapie, Monographies des plantes toxiques les plus usuelles au Maroc. Thèse de doctorat, Université Mohamed V Soussi.

Sites internet :

- Site web 01 : <https://floranet.pagesperso-orange.fr>



Annexe 01 : Matériel de laboratoire

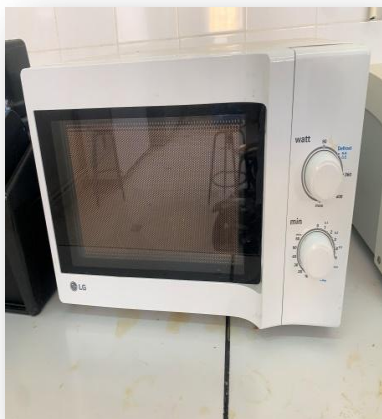
➤ Appareillage



Rota Vapeur



Soxhlet



Micro-ondes



Broyeur électrique



Autoclave



Agitateur mécanique



Vortex



Etuve



Chambre UV



Bain marie



Etuve



Bec benzène



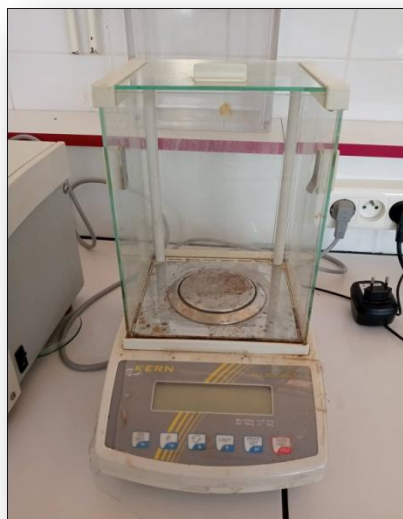
Plaque chauffante



Balance



Agitateur magnétique



Balance de précision

➤ **Verreries, matériel en plastique et produits chimiques :**

Verreries et matériel en plastique	Produits chimiques
- Anse de platine - Béchers - Biotes de pétri en verre - Burette graduée - Compte-gouttes - Écouvillon - Embouts - Entonnoir - Eprouvette - Erlenmeyer - Fioles - Flacons (250ml) - Flacons en verre ambré - Micro pipette (1000 µl, 200 µl) - Papier aluminium - Papier filtre (0.45µm) - Parafilm - Pince - Pipettes - Pipettes graduée - Porte tube à essai - Portoirs - Spatule - Tube en plastiques citrates - Tubes à essai - Tubes secs à bouchons - Verres de montre	- Acide chlorhydrique (HCl) - Chloroforme - Chlorure de ferrique (FeCl₃) - Ethanol C₂H₆O - Hydroxyde de potassium (KOH) - Hydroxyde de sodium (NaOH) - Hydroxyde l'ammonium (NH₄OH) - L'eau distillée - L'eau physiologie - Liqueur de Fehling - Méthanol

Annexe 02 : Réactifs utilisés pour le screening phytochimique.**➤ Réactif de Wagner**

Iode1.27 g.

Iodure de potassium.....2 g.

Eau distillée.....75 ml.

➤ Réactif de Liqueur de Fehling**Annexe 03 : Préparation des solutions pour les extraits bruts.****➤ Ethanol 70%**

Ethanol70 ml.

Eau distillé.....30 ml.

➤ Méthanol 25%

Méthanol25 ml.

Eau distillé.....75 ml.

➤ Méthanol 50%

Méthanol50 ml.

Eau distillé.....50 ml.

➤ Méthanol 75%

Méthanol75 ml.

Eau distillé.....25 ml.

➤ Méthanol 100%

Méthanol100 ml.

Annexe 04 : Préparation des milieux d'isolements pour la réalisation d'activité antibactérienne.**➤ La gélose Mueller Hinton (MH)**

MH.....38g.

Eau distillée.....1000ml.

➤ La gélose Bouillon Nutritif (BN)

BN.....2g.

Eau distillé.....1L.

➤ L'eau physiologique

NaCl0.9g.

Eau distillée100ml.

Annexe 05 : Diamètres des zones d'inhibition des différents extraits méthanoliques.

Tableau 01 : Diamètres des zones d'inhibition des différents extraits méthanoliques de *B.cereus*.

Souche Bactérienne	D	Zone d'inhibition mm														
		25%			50%			75%			100%			H ₂ O		
<i>B.cereus</i>	T	08	08	08	07	09	08	08	08	08	9,5	7,5	08	0,00	0,00	0,00
	SM	26	29	27,5	31,5	33,5	32,5	34,5	34,5	34,5	37,5	35,5	36,5	20,5	20,5	20,5
	C_{1/2}	26	26	26	29	33	31	32,5	34,5	33,5	36	34,45	35,45	19	21	20
	C_{1/4}	23,5	25,5	24	29	31,5	30,5	33	29	31	32	33	32,5	17	21	19
	C_{1/8}	20	24	22	24	27	25,5	26	28	27	28,5	30,5	29,5	18	18	18

Tableau 02 : Diamètres des zones d'inhibition des différents extraits méthanoliques de *S.aureus*.

Souche Bactérienne	D	Zone d'inhibition mm														
		25%			50%			75%			100%			H ₂ O		
<i>S.aureus</i>	T	07	07	07	06	08	07	06	08	07	09	05	07	00	00	00
	SM	28	26	27	31,45	29,45	30,45	33	32	32,5	34	30	32	20	19	19,5
	C_{1/2}	24,5	27,5	26	28	30	29	30,55	31,45	31	34	31,5	33	18	21	19,5
	C_{1/4}	24	25	24,5	30	27	28,5	29	30	29,5	31	30	30,5	17	18	17,5
	C_{1/8}	22,5	23,5	23	23	25	24	25,5	25,5	25	29	25	27	17	18	17,5

Tableau 03 : Diamètres des zones d'inhibition des différents extraits méthanoliques de *P.seudomonace*.

Souche Bactérienne	D	Zone d'inhibition mm														
		25%			50%			75%			100%			H ₂ O		
<i>P.seudomonace</i>	T	07	05	06	05	07	06	06	06	06	5,5	6,5	06	0,0	0,0	00,00
	SM	22,5	21,5	22	24	22	23	26,5	22,5	24,5	24,5	27,5	26	17	19	18
	C_{1/2}	22,5	19,5	21	23,9	21	22,45	22	24	23	23,5	26,5	25	18,5	16,4	17,45
	C_{1/4}	19,5	21,5	20,5	21	21	21	22	21	21,5	21	24	22,5	17	16	16,5
	C_{1/8}	17,5	20,5	19	21	20	20,5	20	20	20	20,5	21,5	21	15	16	15,5

Tableau 04 : Diamètres des zones d'inhibition des différents extraits méthanoliques d'*E.coli*.

Souche Bactérienne	D	Zone d'inhibition mm														
		25%			50%			75%			100%			H ₂ O		
<i>E.coli</i>	T	05	05	05	05	06	05	05	05	05	4,5	5,5	05	0,0	0,0	0,00
	SM	18,9	18	18,45	18	20	19	21,5	19,5	20,5	23	21	22	16	16	16
	C_{1/2}	16	18	17	17,5	18,5	18	19	19	19	19,5	22,5	21	15	16	15,5
	C_{1/4}	16	16	16	16	18	17	18	17	17,5	20	17	18,5	14	15	14,5
	C_{1/8}	14	16	15	17	16	16,5	17	17	17	16,9	18	17,45	15	13	14

Année Universitaire : 2021/2022	Présenté par : SABOUNI Hadjira SOUAYEB Ilham BRAHMA Ahlem
Thème : L'activité biologique des extraits aqueux et méthanoliques chez <i>Trigonella foenum-graecum</i> L.	
Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biotechnologie végétale	
Résumé Le fenugrec (<i>Trigonella foenum-graecum</i> L.) est une herbacée annuelle appartenant à la famille des fabacées. Il se trouve partout dans le monde, mais il est d'origine méditerranéen. C'est une espèce très abondante en Algérie. Cette plante est connue par ses propriétés médicinales, thérapeutiques et nutritionnelles. Notre travail porte sur l'étude phytochimique, l'évaluation du rendement d'extraction et de l'activité antibactérienne des extraits bruts méthanolique et aqueux de <i>Trigonella foenum-graecum</i> L., qui sont obtenus par une méthode de macération. Les tests de screening phytochimiques ont permis de détecter la présence des Acides phénoliques, tanins, glucosides, saponines, flavonoïdes, alcaloïdes, quinones libres et les huiles essentielles. Par contre on note l'absence des coumarines. Les résultats de rendement le plus élevé des extraits bruts de l'helba est obtenue dans l'extrait méthanolique avec 29.60%. L'évaluation de l'activité antibactérienne montre que le fenugrec possède une activité antibactérienne très importante, la sensibilité des souches bactériennes testées varie selon les dilutions des extraits bruts et la nature bactérienne. Le résultat a montré une forte activité chez la souche <i>B.cereus</i>.	
Mots clés : <i>Trigonella foenum-graecum</i> L., extrait bruts, phytochimie, rendement, activité antibactérienne.	
Laboratoire de recherche : Laboratoire du Centre Universitaire Abdehadafid BOUSSOUF-Mila	
Devant le jury : Présidente : BERRABAH Hicham Examineur : BOUKEZZOULA Fatima Promoteur : YAHIA Abdelouhab	
Date de soutenance : 07/07/2022	

