

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Blida 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département Agro-alimentaire



Mémoire de fin d'étude

En vue d'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Alimentaires

Spécialité : Nutrition et Diététique Humaine

Thème

**Etude nutraceutique du fenugrec (*Trigonella foenum-graecum* L.) d'origine
Algérienne et Indienne**

Réalisé par :

M^{lle} Rania BENALI

M^{lle} Hadjer AMIMOUSSI

Soutenu le 18/09/2022

MEMBRES DE JURY

Dr. TLEMSANI A.	MCB	Président	Université de Blida 1
Dr. KHALDOUNE H.	MCB	Examineur	Université de Blida 1
Pr. BOUTOUMI H.	Pr	Promoteur	Université de Blida 1

Année universitaire 2021 – 2022

REMERCIEMENTS

Nous tenons tout d'abord à exprimer notre gratitude à Dieu le tout Puissant, le Miséricordieux, qui nous a donné la force et le courage, afin de réaliser ce modeste travail, c'est ainsi qu'avec un grand plaisir, que nous adressons nos sincères remerciements, à l'égard de notre cher promoteur **Pr. BOUTOUMI H**, à qui nous exprimons toutes nos reconnaissances, et nos profondes gratitude.

Tout d'abord d'avoir accepté de nous encadrées, en donnant ainsi de la chance, afin de concrétiser cet exploit, avec le soutien et l'assistance d'un professeur doté de talent et d'une grande compétence en la matière, nous le remercions d'avantage pour son amabilité, sa modestie, ses orientations, et ses précieux conseils.

Nous tenons également, à remercier les membres de jury qui ont bien voulu accepter d'arbitrer et mesurer ce modeste effort en l'occurrence ;

Le président : **Dr TLEMSANI A**, maître de conférences à l'université de Blida 1.

L'examineur : **Dr.KHALDOUNE H**, maitre-assistante à l'université de Blida 1.

Nous remercions aussi, **Mr TEFAHI D**, le responsable du laboratoire d'hygiène de Blida, et la doctorante **Mme NEKKAB S**, qui ont mis à notre disposition tout le matériel nécessaire.

Notre chaleureux remerciement s'adresse à l'occasion, aux ingénieurs de laboratoire de génie chimique, au sein de L'Université de Blida pour leur conseils et soutien.

En fin nous remercions, de grand cœur, toute personne ayant participé de près ou bien de loin à la réalisation de ce projet.

DÉDICACE

Avant tout je remercie Allah le tout puissant de m'avoir donné la sante et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire, Je tiens à dédier ce modeste travail

À mes très chers parents pour leur soutien, leur amour, leur sagesse, leurs sacrifices, leurs conseils et leurs encouragements durant toutes mes études et qu'Allah les bénissent.

À mes très chers frères
Riyad et Rafik.

À mes très chères sœurs
Nesrine et Mouna Rizk.

À mon binôme
Hadjer.

À toute ma famille maternelle et paternelle.

À toutes les personnes que je n'ai pas citées mais que je porte dans mon cœur.

RANIA B.

DÉDICACE

Avec l'expression de ma reconnaissance, ce modeste travail est dédié

En premier lieu à **Mahmouch Zakia**, ma chère grand-mère et **Dahmani Souad**, ma précieuses Tante. C'est deux femmes extraordinaires, qui ont quitté ce monde pour un autre meilleur.

Que Dieu le tout-puissant les accueille dans son vaste paradis.

À l'homme de ma vie **Amimoussi Fayçal**, mon cher père, merci de savoir exactement quand arrêter de me tenir la main et commencer à prendre soin de mon dos.

À mon ange gardien, ma très chère mère **Mekkati Hafidha**, la femme qui n'a jamais cessé de croire en moi.

À la plus sage des grands-mères **Dahmani Meriem**, que Dieu vous bénisse, et t'accorde une longue vie.

À mon cher frère Hichem et ma belle Sœur Hannadi que je souhaite une heureuse vie.

À ma chère sœur Hind, pour son soutien dans les nuits blanches.

À vous mon très cher oncle **Mekkati Djamel**, la source de mon éclat.

À mes cher Oncles **Abderrahmane** et **Ahmed Mekkati** que j'admire beaucoup.

À mes très chers tante **Saliha** et **Fatima Zohra Mekkati** que dieu les protèges.

À mes cousines Nesrine, Zola et Yasmine.

À mes amis sans exceptions.

Un remerciement pour mon collègue de laboratoire Abderrahmane, qui n'a jamais hésité de me soutenir et partager ses connaissances et son matériel avec moi.

À ceux qui m'ont tout donné sans rien en retour.

Sans oublier à la fin mon Binôme Rania pour sa patience et son soutien moral et sa compréhension tout au long du projet.

HADJER A.

Résumé

La recherche de sources alimentaires riche en concentré de produits capable d'être utilisés en thérapie prophylaxie est en vogue du point de vue phytothérapeutique. C'est ainsi que l'utilisation des grains du fenugrec (*Trigonella foenum-graecum* L.) constitue une alternative avérée quant à sa réputation culinaire et alimentaire.

Les grains du fenugrec d'origine algérienne et de l'inde pris comme échantillons modèle ont montré leurs richesses en métabolites secondaires responsables d'activités thérapeutiques et de préventions contre les carences et les altérations du corps humain.

L'analyse phytochimique qualitative des extraits aqueux et la poudre des graines d'origine algérienne et d'origine indienne a permis de mettre en évidence la présence des mucilages, polyphénols, tanins, glucosides, saponosides, coumarines, alcaloïdes et anthocyanes.

Cependant les analyses quantitatives montre une prédominance des composés phénoliques dès les graines de fenugrec d'Algérie (123,13 mg eq./g) par rapport à celle de l'inde (77,80 mg eq./g) par contre une tendance totalement inverse pour les flavonoïdes et les tanins condensées ainsi que l'activité antioxydante

Il faut souligner la bonne qualité microbiologique des 2 échantillons des graines de fenugrec à grâce aux analyses microbiologiques négatives effectuées confirmé lors des tests antimicrobiens.

Mots clés : Fenugrec, Valeur nutritive, Activité antimicrobienne, Activité antioxydant, Flavonoïdes.

Abstract

The search for food sources rich in concentrate of products capable of being used in prophylaxis therapy is in vogue from the phytotherapeutic point of view. Thus, the use of fenugreek grains (*Trigonella foenum-graecum* L.) is a proven alternative to its culinary and food reputation.

The grains of fenugreek of Algerian and Indian origin taken as model samples increased their wealth in secondary metabolites responsible for therapeutic activities and prevention against deficiencies and alterations of the human body.

The qualitative phytochemical analysis of aqueous extracts and the powder of seeds of Algerian and Indian origin has made it possible to highlight the presence of mucilages, polyphenols, tannins, glucosides, saponosides, coumarines, alkaloids and anthocyanins.

However, quantitative analyses show a predominance of phenolic compounds from Algerian fenugreek seeds (123.13 mg eq./g) compared to that of india (77.80 mg eq./g) on the other hand, a totally opposite trend for flavonoids and condensed tannins as well as antioxidant activity.

The good microbiological quality of the 2 samples of fenugreek seeds should be emphasized thanks to the confirmed negative microbiological tests carried out in the antimicrobial tests.

Keywords: Fenugreek, Nutritional value, antimicrobial activity, Antioxidant activity, Flavonoids.

ملخص

البحث عن مصادر غذائية غنية بتركيز المنتجات القابلة للاستخدام في العلاج الوقائي رائج من وجهة نظر العلاج النباتي وبالتالي، فإن استخدام حبوب الحلبة (*Trigonella foenum-graecum L.*) هو بديل مثبت لسمعة الطهي والغذاء.

حبوب الحلبة من أصل جزائري وهندي المأخوذة كعينات نموذجية زادت من ثروتها في المستقبلات الثانوية المسؤولة عن الأنشطة العلاجية والوقاية من أوجه القصور والتغيرات في جسم الإنسان.

كشفت التحليل الكيميائي النباتي النوعي للمستخلصات المائية ومسحوق البذور من أصل جزائري وهندي عن وجود

des mucilages, polyphénols, tanins, glucosides, saponosides, coumarines, alcaloides et anthocyanes.

ومع ذلك، تظهر التحليلات الكمية هيمنة المركبات الفينولية من بذور الحلبة الجزائرية (123.13 mg eq./g) مقارنة بالهند (77.80 mg eq./g) من ناحية أخرى اتجاه معاكس تمامًا ل (les flavonoïdes et les tanins condensées) وكذلك النشاط المضاد للأكسدة.

يجب التأكيد على الجودة الميكروبيولوجية الجيدة لعينتين من بذور الحلبة بفضل الاختبارات الميكروبيولوجية السلبية المؤكدة التي أجريت في الاختبارات المضادة للميكروبات.

الكلمات المفتاحية: الحلبة, القيمة الغذائية, النشاط المضاد للميكروبات, النشاط المضاد للأكسدة. flavonoides,

Sommaire

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

<u>Introduction</u>	1
----------------------------------	---

Partie bibliographique

Chapitre 01 : Généralités sur le fenugrec.

1. Introduction	1
2. Classification botanique	3
3. Origine et répartition géographique	4
4. Composition chimique	5
5. Usages	6
6. Contre-indications	7
7. Travaux antérieurs déjà réalisés sur le fenugrec	7

Chapitre 02 : Valeur nutritive et composition de fenugrec.

Les métabolites primaires	9
1.1 Mucilages	9
1.2 Les protéines	10
1.3 Les lipides	10
1.4 Les glucides	10
1.5 Les vitamines	10
1.6 Les acides aminés libres	11
2. Les métabolites secondaires	11
2.1 Les saponines	11
2.2 Les alcaloïdes	12
2.3 Les Composée phénoliques	12

2.3.1 Flavonoïdes	12
2.3.2 Coumarines	13
2.3.3 Tanins	14
2.3.4 Quinones	14
2.4 Les huiles essentielles	14

Chapitre 03 : Fonctionnalité alimentaire du fenugrec.

1. Activité antioxydant	16
2. Activité antibactérienne	17
3. Activité anti-inflammatoire	17
4. Activité antiallergique	17
5. Activité antiulcéreuse	18
6. Activité anticancéreuse	18
7. Activité antidiabétique	18
8. Activité hypocholestérolémiante	19
9. Activité antihelminthique	19
10. Activité anti nociceptifs	20

Chapitre 04 : Troubles nutritionnels du sujet âgé.

1. Les besoins nutritionnels des sujets âgés.....	21
2. L'évaluation du statut nutritionnel	24
3. Les conséquences de malnutrition	25
4. La prévention de la dénutrition	25
5. La prise en charge	26

Partie expérimentale

Chapitre 01 : Matériels et méthodes

1. Matériels	27
1.1 Matériel biologique	27
1.1.1 Matériel végétal	27
1.1.2 Les microorganismes	27
1.2 Matériel non biologique	28
2. Méthodes	28
2.1 Préparation du matériel végétal	28

2.1.1 Préparation de la poudre	28
2.1.2 Préparation des extraits.....	30
2.2 Détermination du rendement d'extraction.....	32
2.3 Étude phytochimique des extraits.....	33
2.3.1 Analyses qualitatives	33
2.3.2 Analyses quantitatives	35
2.4 Analyse microbiologiques.....	41
2.4.1 Préparation des dilutions	41
2.4.2 Recherche des <i>Staphylococcus aureus</i>	43
2.4.3 Recherche des <i>Bacillus cereus</i>	43
2.4.4 Recherche des coliformes thermo tolérants : <i>Escherichia coli</i>	44
2.4.5 Recherche des <i>Salmonella</i>	45
2.4.6 Recherche des clostridium sulfite réducteur.....	46
2.4.7 Recherche des levures et moisissures	48
2.5 Étude des activités biologiques.....	49
2.5.1 Étude de l'activité antioxydant	49
2.5.2 Étude de l'activité antimicrobienne	51

Chapitre 02 : Résultats et discussion

1. Résultats	55
1.1 Extraction et détermination du rendement d'extraction	55
1.2 Résultats de l'étude phytochimique	55
1.2.1 Résultats de l'analyse qualitative	55
1.2.2 Résultats de l'analyse quantitative	57
1.3 Résultats des analyses microbiologiques.....	59
1.4 Résultats des études des activités biologiques	60
1.4.1 Résultat du l'étude de l'activité antioxydant	60
1.4.2 Résultat du l'étude de l'activité antimicrobienne	62
2. Discussions	64
Conclusion	68
Références bibliographiques	70

Annexes

Liste des figures

Figure 1 : Différentes parties de <i>Trigonella foenum-graecum</i> L.	4
Figure 2 : Structure chimique du mucilage.	9
Figure 3 : 4-hydroxyisolentine.	11
Figure 4 : Squelette de base des flavonoïdes.	13
Figure 5 : Structure chimique de la coumarine.	14
Figure 6 : Graines des deux variétés de fenugrec utilisées dans l'étude.	27
Figure 7 : Poudres des deux variétés de fenugrec utilisées dans l'étude.	29
Figure 8 : Conservation de la poudre.	29
Figure 9 : Préparation des extraits aqueux des graines de deux variétés de fenugrec.	30
Figure 10 : Protocole d'extraction aqueux du matériel végétal.	30
Figure 11 : Préparation des extraits méthanoliques bruts des graines de deux variétés de fenugrec.	31
Figure 12 : Protocole d'extraction méthanolique du matériel végétal.	32
Figure 13 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	36
Figure 14 : Protocole de dosage des polyphénols totaux.	37
Figure 15 : Courbe d'étalonnage de la catéchine.	38
Figure 16 : Protocole de dosage des flavonoïdes.	39
Figure 17 : Courbe d'étalonnage de la catéchine.	40
Figure 18 : Protocole de dosage des tanins condensés.	41
Figure 19 : Flacons des solutions mères.	42
Figure 20 : Flacon de solution mère et les tubes des dilutions décimales.	42
Figure 21 : Boîtes de pétri coulé et ensemencé.	44
Figure 22 : Boîte de pétri ensemencé.	45
Figure 23 : Un tube d'enrichissement pour chaque variété.	45
Figure 24 : Gélose Hektoen.	46
Figure 25 : Les tubes incubés dans l'étuve.	47
Figure 26 : Incubation dans l'étuve.	48
Figure 27 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.	49
Figure 28 : Protocole d'étude de l'activité antioxydant.	50
Figure 29 : Solution DMSO-Extrait brute.	53

Figure 30 : Préparation des extraits méthanolique prêt pour le dosage.	57
Figure 31 : Teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés des extrais méthanoliques des graines de deux variétés de <i>Trigonella foenum-graecum</i> L.	59
Figure 32 : Les différentes concentrations des extraits méthanoliques.	60
Figure 33 : L'activité de piégeage de DPPH par les extraits méthanoliques des graines de deux variétés de <i>Trigonella foenum-graecum</i> L.	61

Liste des tableaux

Tableau 1 : Caractéristiques physiques et nutritionnelles moyenne pour 100 g de graines de fenugrec.	5
Tableau 2 : Caractéristiques des souches microbiennes utilisées pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne.	28
Tableau 3 : Caractéristiques des extraits bruts méthanoliques des graines de deux variétés (Algérienne et Indienne) de fenugrec.	55
Tableau 4 : Résultats des tests préliminaires des composés sur l'extrait aqueux et la poudre des graines de deux variétés (Algérienne et Indienne) de fenugrec.	56
Tableau 5 : Teneur des phénols totaux des extraits méthanoliques des deux échantillons	58
Tableau 6 : Teneur des flavonoïdes des extraits méthanoliques des deux échantillons.	58
Tableau 7 : Teneur des tanins condensés extraits méthanoliques des deux échantillons.	58
Tableau 8 : Résultats des analyses microbiologique des graines de fenugrec.	59
Tableau 9 : Les résultats de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques des graines des deux variétés du <i>Trigonella foenum-graecum</i> L.	61
Tableau 10 : Diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne des deux extraits des graines de deux variétés (Algérienne et Indienne) de fenugrec.	62

Liste des abréviations

ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène.

TSE : Tryptone Sel Eau.

PAF : Platel et Activating Factor.

UFC : Unité Formant Colonie.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

R : Rendement.

ATCC: American Type Culture Collection.

SAB: Milieu Sabouraud.

MH : Milieu Muellet Hinton.

Na OH : Hydroxyde de sodium.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

Fe Cl₃ : Solution de trichlorure de fer.

HCL : acide chlorhydrique.

H₂ SO₄ : Acide sulfurique concentré.

DPPH : Diphenyl-Picrylhydrazyle.

INTRODUCTION

Introduction

Dans le présent travail, nous proposons, d'étudier, d'analyser et de relier les informations en matières chimiques et biologiques, d'une plante fourragère et médicinale. Il s'agit de (*Trigonella foenum-graecum* L), connue par son nom commun fenugrec. Suivie par une étude comparative entre deux variétés de cette espèce. Il s'agit des variétés : Algérienne et Indienne.

Cultivée depuis plusieurs millénaires, le fenugrec servait tout d'abord à l'embaumement des défunts dans l'Égypte ancienne et à l'embellissement de la peau. Dans l'Antiquité, Hippocrate le considérait comme un remède naturel apaisant.

Dès le Moyen Âge, on lui prête alors des propriétés antichute pour les cheveux, puis on découvre au fil des siècles de multiples bienfaits médicaux. Cela lui vaut une place de choix dans les officines traditionnelles en Algérie, et même une inscription au codex pharmaceutique dès le XVIIe siècle.

Aujourd'hui, on considère le fenugrec comme une épice très parfumée, mais aussi comme une plante médicinale aux multiples vertus pour la santé. On le retrouve sous différentes formes en cuisine, en phytothérapie et en cosmétique : huile de fenugrec, poudre de fenugrec moulu ou encore infusion au fenugrec.

Le fenugrec (*Trigonella foenum-graecum* L) est une herbacée annuelle appartenant de la famille des fabacées. Il se trouve partout dans le monde, mais il est d'origine méditerranéen. Cette plante est connue par ses propriétés médicinales, thérapeutiques et nutritionnelles très importantes vu les utilisations traditionnelles et les activités pharmacologiques des composés phyto-chimiques présent dans les extraits des graines de cette plante (huiles essentielles, saponines et flavonoïdes...). La plante du fenugrec entière peut être utilisée en phytothérapie, mais ce sont essentiellement les graines qui ont un intérêt thérapeutique. La variabilité des rendements, des valeurs nutritionnelles et de la variabilité chimique de la fraction volatile, en quantité et en qualité, pourrait être le reflet de différences biologiques entre variétés. La finalité de ce travail est de tenter de répondre à cette hypothèse qui représente l'objectif essentiel de ce travail.

Afin d'atteindre cet objectif, plusieurs étapes ont été entamées.

Dans la première étape, nous avons déterminé le rendement d'extraction des graines de deux variétés de fenugrec.

Dans la deuxième, nous avons mené une étude phytochimique basée principalement sur une qualification et une caractérisation des composées phyto-chimiques et aussi une quantification des phénols totaux, des flavonoïdes et des tanins, par la méthode de spectrophotométrie pour les deux variétés de fenugrec.

Dans le troisième, nous avons réalisé des analyses microbiologiques.

La quatrième étape de cette recherche est consacrée aux études biologiques permettant d'évaluer les activités biologiques de la plante telle que l'activité antimicrobienne et l'activité antioxydant des extraits méthanoliques des graines de l'espèce étudiée par la méthode de piégeage du radical libre DPPH.

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 01
GENERALITES SUR le
fenugrec.

1. Introduction

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 méditerranéenne. Cette plante est connue par ses propriétés médicinales, thérapeutiques et nutritionnelles (**Rahmani et al., 2015**).

2. Classification botanique

2.1 Systématique

Le fenugrec est classé selon (**Ghedira et al., 2010**) comme suit :

- **Règne** : *Plantae*.
- **Sous règne** : *Tracheobionta*.
- **Embranchement** : *Magnoliophyta*.
- **Sous embranchement** : *Magnoliophytina*.
- **Classe** : *Magnoliopsida*.
- **Sous classe** : *Rosidae*.
- **Ordre** : *fabales*.
- **Famille** : *Fabaceae*.
- **Genre** : *Trigonella*.
- **Espèce** : *Trigonella foenum-graecum* L.

2.2 Noms Vernaculaires

Il existe plusieurs noms pour le fenugrec à travers le monde :

- **En Anglais** : Fenugreek, Bird's Foot (**Schauenberg, 2005**).
- **En Allemand** : Bockshornklee, Griechisch-Heu (**Schauenberg, 2005**).
- **En Arabe** : Halba (**Moussai, 2011**).
- **En Espagnol** : Alholva, Fenugreco (**Ghedira et al., 2010**), Fenugreco (**Moussai, 2011**).
- **En Etalie** : Fienogreco. (**Ghedira et al., 2010 ; Moussai, 2011**).
- **En portugais** : Fenogreco, Fenacho, Alforba(**Ghedira et al., 2010**).
- **Autres noms** : Trigonelle, Sénégrain (**Grünwald et Jänicke, 2007**).

2.3 Description botanique

C'est une plante annuelle herbacée, appartient à la famille des fabacées, son pied peut atteindre une hauteur entre 30 à 60 cm. Sa culture ne nécessite qu'une terre calcaïque et un peu d'humidité. 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 de *Trigonella foenum-graecum* L. ont une couleur blanche jaunâtre donnant par la suite le fruit sous forme d'une gousse dont la longueur est variable environ 20 cm et qui renferme les graines (Moradikor et al., 2013).

Les graines de *Trigonella foenum-graecum* L, sont des graines solides avec une couleur brun clair à brune jaunâtre, d'une épaisseur de 2 mm et longueur de 5 mm, elles se rassemblent à des cailloux et présentent une odeur épicée spéciale (Yadav et al., 2011).



Figure 1 : Différentes parties de *Trigonella foenum-graecum* L

3. Origine et répartition géographique

Le fenugrec 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).

Selon (Teuscher et al., 2005) le fenugrec préfère les sols riches en nutriments, légèrement calcaires et pas trop légers ainsi que des endroits chauds et ensoleillés.

Les semis s'effectuent début avril, sur des rangées espacées de 25 cm. Les graines ne doivent pas être en fouies en terre une profondeur supérieure à 3 cm.

4. Composition chimique

Trigonella foenum-graecum L. est une plante d'une grande qualité nutritive, riche en mucilages, glucides, protéines et sels minéraux. Elle contient (Le Floch, 1983) :

- Des protéines (30%).
- Des lipides (10%).
- Des glucides (20%).
- Des sels minéraux : Phosphore (à l'origine des propriétés stimulantes neuromusculaires), fer, soufre, acide nicotinique, magnésium, calcium.
- Des alcaloïdes (notamment de la trigonelline)
- Des saponines (à l'origine de ses propriétés stimulantes de l'appétit), des saponines stéroïdiques (diosgénine et yamogénine, qui contribuent à la synthèse du cholestérol et des hormones sexuelles).
- Des vitamines : A, B1, C.
- Lécithine, des flavonoïdes.
- Une forte concentration en mucilages (jusqu'à 40%) : des galactomannanes.
- Des huiles essentielles.
- Des traces d'une résine.

Tableau 1 : Caractéristiques physiques et nutritionnelles moyenne pour 100 g de graines de fenugrec (Web Master 1).

Constituants	Valeurs nutritionnelles
Humidité	13 à 14 g
Glucides	7 à 8 g
Sucres totaux	2.5 à 3 g
Protéines	28 à 32 g
Lipides	7 à 8 g
Lipides saturés	1.6 à 2 g
Fibres	23,5 à 25,5 g

Cholestérol	3.8 à 4.3 mg
Calcium	140 à 160 mg
Sodium	28 à 32 mg
Vitamine A	22 à 26 µg
Vitamine C	0 µg
Cendres	2.9 à 3.3 g
Fer	9 à 12 mg
Valeur énergétique	200 à 240 Kcal 910 à 950 KJ

5. Usages

5.1 Usages médicaux

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**), 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, 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., 2011**).

En médecine populaire, ces graines sont utilisées par voie interne comme émoullient dans les inflammations des voies respiratoires supérieures, comme fortifiant et pour favoriser la digestion. La médecine traditionnelle attribue à la drogue des propriétés hypoglycémiantes et galactagogues.

Des tests effectués chez l'animal montrent qu'un extrait aqueux administré par voie orale accélère la guérison des ulcères gastrique et présente un effet immuno-modulateur

De plus, la médecine traditionnelle attribue au fenugrec des propriétés hypoglycémiantes. Cette activité a été démontrée chez l'animal et chez l'homme (**Bindur et Fahsak, 2013**).

En Europe, la graine de fenugrec est traditionnellement utilisée par voie orale pour faciliter la prise de poids et par voie externe comme émollient sous forme de cataplasme dans le traitement des inflammations locales : furoncles, abcès et eczémas.

5.2 Autre Utilisation

Le fenugrec était utilisé comme fourrage dans l'antiquité, d'où son nom de « foin grec ». Il a toujours cette utilisation en Inde. Il était également utilisé pour l'embaumement en Egypte. Les romains l'utilisaient pour engraisser les courtisanes. Aujourd'hui, il est utilisé comme engrais vert dans l'agriculture biologique ou comme teinture couleur rouge incarnat. C'est une épice utilisée dans la cuisine indienne, africaine et marocaine (**Volpé et al., 2009**).

Les graines sont utilisées pour aromatiser le fromage. Les jeunes feuilles et les graines germées sont consommées en salade. Les graines broyées sont mélangées avec du foin décomposé pour le rendre plus agréable pour l'alimentation du bétail. Aussi la plante est utilisée pour rendre les cheveux brillants (**Vacheron, 2011**).

6. Contre-indications

Des essais cliniques et toxicologiques ont démontré que l'utilisation normale des graines de fenugrec est sans danger, même à long terme en théorie, pourrait augmenter l'effet des médicaments antiplaquetaires, anticoagulants ou hyperglycémiantes pendant la grossesse elle pourrait potentiellement contribuer à déclencher les menstruations et les contractions (**Teuscher et al., 2005**).

7. Travaux antérieurs déjà réalisés sur *Trigonella foenum-graecum* L

- (**Brummera et al., 2001**), ont réalisé l'extraction, la purification et la caractérisation physico-chimique de la gomme de fenugrec originaire de Canada. La gomme de fenugrec a été extraite à partir des graines dégraissées. Le rendement obtenu était de l'ordre de 22% (**Sébastien, 2003**).
- (**Develiİşikli et al., 2004**), ont réalisé le comportement rhéologique de la pâte de fenugrec utilisée comme aliment local en Turquie, produite à partir des graines de fenugrec

moulues. Les propriétés de l'écoulement de cette pâte à différentes températures (10-30°C) à montrer que c'est un fluide non newtonien. Trois modèles sont utilisés pour prédire le comportement de cette pâte : La loi de puissance, le modèle de Herschel–Bulkley et le modèle de Casson. Le comportement de l'écoulement de la pâte de Fenugrec a été bien décrit par la loi de puissance à différentes températures (**Murry, 2005**).

- (**Youssef et al., 2008**), ont réalisé la purification et la caractérisation physico-chimique des protéines contenues dans la gomme de fenugrec (3,74 % de protéines). L'objectif de cette étude est d'isoler et purifier la fraction protéine galactomannan et évaluer son effet sur les propriétés physico-chimiques de la gomme de fenugrec. Il a été montré que la gomme de Fenugrec brut présente une faible viscosité intrinsèque comparativement au fenugrec purifié des protéines. Cette étude a montré que la présence des protéines dans la gomme de fenugrec présentait un rôle important dans la réduction de l'activité de surface (**Wichtl et Anton, 2003**).
- (**Prajapati et al., 2012**), ont montré que les gommages et les mucilages extraits à partir des plantes présentaient des applications pharmaceutiques diverses. Ils sont utilisés autant qu'agent émulsifiants et agents de suspension. On les trouvent aussi autant qu'agents liants dans la formulation des comprimés, autant qu'agents gélifiants. Ils peuvent aussi agir comme agents d'enrobage, ce qui peut supporter la libération du médicament.
- (**Nayaka et al., 2012**), ont étudié le développement et l'optimisation de la combinaison du mucilage de graines de fenugrec et l'alginate contenant de metformin HCL. Cette combinaison a été administrée par voie orale pendant une période prolongée, elle a prouvé un effet hypoglycémique significatif chez les rats diabétiques par induction de l'alloxane .
- (**Verma et al., 2014**), ont réalisé l'extraction et l'évaluation du mucilage de *Trigonella foenum-graecum* originaire de l'Inde. Une caractérisation physico-chimique a été étudiée et il a été vérifié que ce mucilage puisse être exploré pour des fins pharmaceutiques (**Vacheron, 2011**).

CHAPITRE 02
VALEUR NUTRITIVE ET
COMPOSITION DE
fenugrec.

1. Les métabolites primaires

1.1. Mucilages

Ce sont des substances organiques dont la base est constituée par une solution de gomme ou d'amidon (polysaccharides), qui en absorbant l'eau produit une gelée de consistance visqueuse (Baba-Aïssa, 2000).

Dans les graines du fenugrec il existe environ 20 à 45 % de mucilage (galactomannanes solubles). Constitue de chaînes de mannose et de chaîne de galactose latérale liées en 1.4 - β et en 1.6 - α avec de faibles proportions (latérales) de xylose (Anton et Martin, 1999).

Du point de vue thérapeutique, on l'utilise pour envelopper la muqueuse de l'appareil digestif, anti-inflammatoire et anti-diarrhéique (Ali-Dellile, 2007) (Nicolas et Gouillie, 2013).

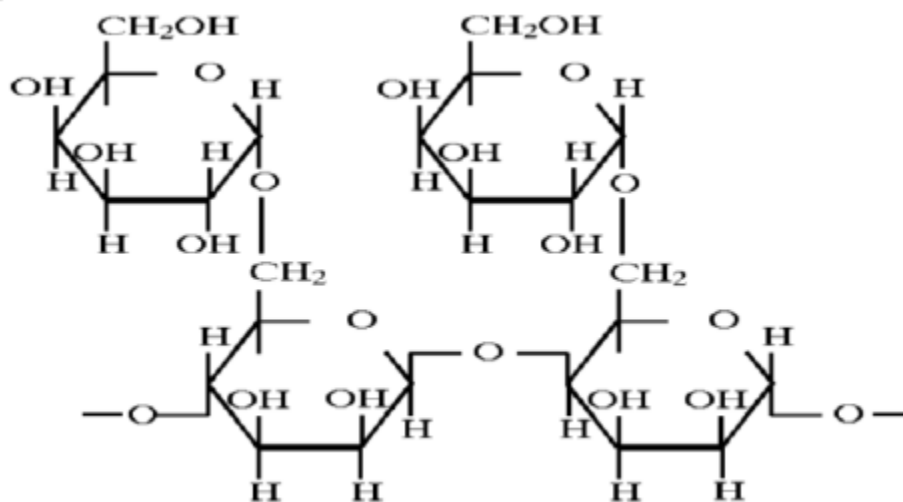


Figure 2 : Structure chimique du mucilage (Dvipul et al., 2012)

1.2. Les protéines

Les graines du fenugrec renferment à peu près 27 % des protéines, riches en L-lysine et en L-tryptophane (Anton et Martin, 1999). Les protéines sont des macromolécules complexes qui constituent un des éléments de base des organismes vivants (animaux et végétaux), notamment des cellules reproductrice (Baba-Aïssa, 2000). Elles sont constituées non seulement de carbone, hydrogène et oxygène, mais aussi d'azote (Weil, 2005) et dans certains cas de phosphore et de soufre, structurellement, les protéines se présentent comme très longues chaînes ramifiées dont les maillons sont des acides aminés, les principales catégories des protéines sont des albumines, les phosphoprotéides, les glycoprotides et les nucléoprotéides, présentent dont les noyaux des cellules.

1.3. Les lipides

Les graines de fenugrec contiennent 7 % des lipides, principalement les triglycérides, les phospholipides et les glycolipides (**Bruneton, 1993**), ces derniers résultent de la combinaison d'un acide organique (acide gras) avec un alcool (glycérol). Ils se composent essentiellement de carbone, d'hydrogène et d'oxygène (lipide ternaire), auxquels peuvent éventuellement s'ajouter d'autre élément phosphore (phosphoaminolipide) d'azote (cérébrosides). Pour former les lipides complexes, les lipides ternaires sont les glycérides, les stérides et les cérides ou cire. Parmi les lipides complexes, on remarquera les phosphoaminolipides (formés de glycérol, d'acide phosphorique et de choline), dont les plus important sont les lécithines, les graisses sont hydrophobes, autrement dit, elles n'ont aucune affinité pour l'eau. Ce caractère est propre aux glycérides qui sont composées exclusivement des chaînes hydrocarbonées du genre $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}_3$ obstinément imperméable à l'eau. En revanche, les lécithines comportent dans leur molécule des chaînes hydrophiles (qui sont capables d'absorber l'eau par imbibition) liés aux chaînes hydrophobes (**Baba-Aïssa, 2000**).

1.4. Les glucides

Les glucides constituent la plus grande partie des substances organiques, ils sont principalement synthétisés avec les lipides et les protéines, une part importante de la nourriture des animaux et de l'homme. Ce groupe classé selon l'aspect biochimique (**Frénot et Vierling, 2001**) en deux classes : oses et osides.

Les oses biologiquement les plus importants (sucres simples) apparaissent sous forme de trioses (C3), de pentoses (C5), d'héxoses et d'héptoses, au cours de la réduction photosynthétique du gaz carbonique.

Les osides sont des chaînes d'oses, ils sont classés à leurs tours en diholosides, oligosides et des polyholosides. La graine du fenugrec contient 20 - 30 % des glucides (**Paul, 2001**) particulièrement abondants: galactomannane soluble (rapport galactose : mannose : 1,5 : 1) et fibre comme la cellulose et hémicellulose (**Sauvere et Baccou, 1976**).

1.5. Les vitamines

Indispensable au bon fonctionnement de l'organisme, pour les distingues les unes des autres, on avait attribué à chacune d'elles une lettre alphabétique A, B, C, D, E, K, H, P.

Parmi les vitamines qui existent dans les graines du fenugrec A, B 1, et C (**Baba-aïssa, 2000**).

1.6. Les acides aminés libres

Dont un acide dominant rare, la 4-hydroxyisoleucine (30 - 50 %, ce qui correspond à 0.1 à 0.3 du poids du fenugrec sec). (Anton et Martin, 1999). Dans le domaine de la santé, une équipe pharmacologique de Montpellier (Broca et al., 2000) a montré qu'un nouvel acide aminé, la 4-hydroxyisoleucine (Figure 3), isolé du fenugrec, à un mécanisme d'action différent des sulfonylurées et autre substances antidiabétiques utilisé actuellement (Rolland et al., 2004).

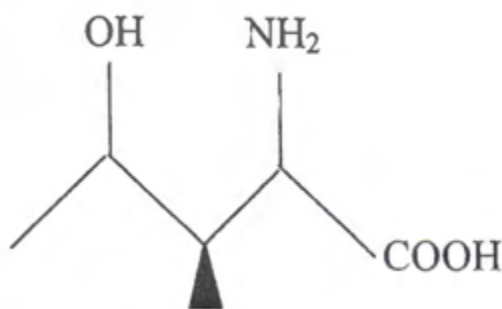


Figure 3 : 4-hydroxyisoleucine

2. Les métabolites secondaires

2.1 Les saponines

Les graines de fenugrec sont une source riche de saponines telles que la diosgénine, layamogénine, la gitogénine, la tigogénine et les néotigogènes.

Selon (Teuscher et al., 2005), les graines de fenugrec contiennent 1.2 à 3% des saponines, qui existent sous forme de bidesmosides 3,26 (structure Δ^5 -furostène et 5α -furostène) et trigofenosides A à G.

C'est l'ensemble de composés chimiques définis comme des hétérosides d'alcools aliphatiques (saponosides), doués de propriété en bio-active : ils se dissolvent dans l'eau en formant des solutions moussantes : toutes les civilisations ont utilisé les plantes qui en renferment comme détergent. Structuralement, les saponosides sont des hétérosides dont la génine peut être soit de nature triterpénique, soit de nature stéroïdique (Bruneton, 1999).

Selon la nature de leurs structures, de multiples propriétés sont décrites, notamment :

- Une diminution de la tension superficielle, d'où des applications comme expectorant, diurétique... ;
- Une analogie structurale avec certains stéroïdes, d'où des propriétés anti-inflammatoire, antiulcéreuses, hormonale ;

- Enfin, des utilisations diverses dans les domaines veinotonique, antithrombotique, antiparasitaire, antifongique...mais aussi comme analgésique, sédatif (**Wichtl et Anton, 2003**).

2.2 Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont un groupe de composés azotés et faiblement basiques issus principalement des végétaux. Ils présentent des réactions communes de précipitation. Après extraction, ils sont détectés par des réactions générales de précipitation fondées sur leur capacité de se combiner avec des métaux. La caractérisation de la présence d'alcaloïde peut se faire par précipitation à l'aide de : Réactif silicotungstique (réactif de Bertrand), réactif Tétraiodomercurate de potassium (réactif de Valser-Mayer), Iodobismuthate de potassium (réactif de Dragendorff) (**Kansole, 2009**).

Les alcaloïdes renfermés dans la graine du fenugrec se présentent par l'acide nicotinique et la trigonelline, ce dernier est un précurseur de la vitamine PP (**Feleurentin et Marie, 2004**).

L'acide nicotinique se forme chez les plantes supérieures (fenugrec) à partir de l'aspartate et d'un composé en C3 ; au cours du cycle des pyridines nucléotides ; qui produit chez tous les organismes les cosubstrats transporteurs d'hydrogène NAD et NADP. La trigonelline très répandue, est un dérivé simple de l'acide nicotinique ; la trigonelline fonctionne probablement comme substance de réserve pour l'acide nicotinique (**Richter, 1993**).

2.3 Les Composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des molécules hydrosolubles présentes dans tous les végétaux. Ils ont divers effets sur la physiologie végétale par leurs actions antibactériennes et antifongiques. Ils participent à la pigmentation des fleurs, des légumes et de quelques fruits (raisins, agrumes, etc...). Certains d'entre eux sont responsables d'amertume et d'astringence (**Adrian et Frangne, 1991 et Milane, 2004**).

Les composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes simples et pro anthocyanidines) forment le groupe des composés phytochimiques le plus important des plantes (**Beta et al., 2005**).

2.3.1 Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des combinaisons naturelles de phénol avec des noyaux aromatiques. En fonction de leur structure et du degré d'oxydation, ils se divisent en flavonole, flavones et flavonones (**Guignard, 2000**).

Les graines de fenugrec contiennent des flavonoïdes, notamment des hétérosides de flavones comme la vitexine, vicénines et dérivés de l'orientine (**Teuscher et al., 2005**).

Les flavonoïdes sont des molécules très répandues dans le règne végétal. Ils font partie de la classe des polyphénols, principaux métabolites secondaires des plantes. Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et, de ce fait, présentent le même élément structural de base (sauf exceptions : chalcones, aurones, isoflavones), à savoir quinze atomes de carbone constitués de deux cycles en C6 (A et B) reliés par une chaîne en C3 (noyau 2-phényl-1- benzopyrane) (**Bruneton, 1999**).

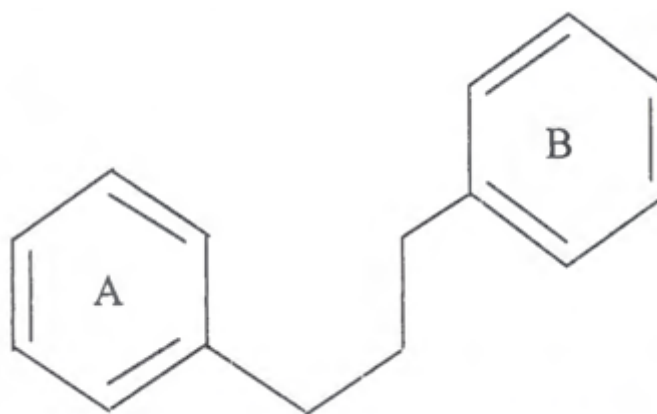


Figure 4 : Squelette de base des flavonoïdes (**Bruneton, 1999**)

2.3.2 Coumarines

Les coumarines sont parmi les composés phénoliques les plus connus.

Les graines de fenugrec contiennent des coumarines principalement trigoforine (3, 4, 7-triméthylcoumarine), 4-méthyl-7-acétoxycoumarine, scopolétine (**Teuscher et al., 2005**).

Elles sont substituées en C-7 par un hydroxyle. La 7-hydroxycoumarine, connue sous le nom d'ombelliférone, est le précurseur des coumarines 6,7-di- et 6, 7,8-trihydroxylées. Les coumarines des 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 Passi, 2002**).

Les coumarines sont connues par leurs activités cytotoxiques, antivirales, immunostimulantes, tranquillisantes, vasodilatatrices, anticoagulantes (au niveau du cœur), hypotensives. Elles sont également bénéfiques en cas d'infections cutanées (**Gonzalez et Estevez-Braun, 1997**).

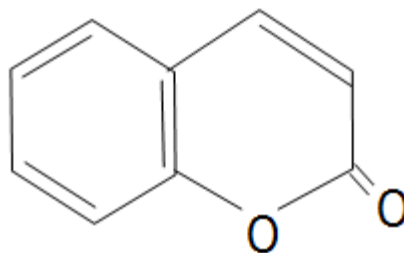


Figure 5 : Structure chimique de la coumarine (**Digest, 2003**)

2.3.3 Tanins

Les tanins sont des polyphénols que l'on trouve dans de nombreux végétaux tels que les écorces d'arbre et les fruits (raisin, datte, café, cacao...). Leur structure complexe est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leurs centres asymétriques, leur degré d'oxydation (**Hemingway, 1992**).

Ces tanins sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation. Des radicaux tanniques plus stables sont alors formés, ce qui a pour conséquence de stopper la réaction en chaîne de l'auto oxydation des lipides (**Cavin, 1999**).

Les tanins sont divisés en deux groupes :

- Les tanins condensés, formés de proanthocyanidines (sous forme d'oligomères).
- Les tanins hydrolysables, esters des acides phénols et de glucose.

2.3.4 Quinones

Ce sont des substances colorées et brillantes, en général rouges, jaunes ou orange et possédant deux fonctions cétones. On trouve les quinones dans les végétaux, les champignons, les bactéries. Les organismes animaux contiennent également des quinones, comme par exemple la vitamine K, qui est impliquée dans la coagulation du sang. Les quinones sont utilisées dans les colorants, dans les médicaments et dans les fongicides (**Kansole, 2009**).

2.4 Les huiles essentielles

Les huiles essentielles représentent un mélange complexe de molécules chimiques qui peuvent comporter plus de soixante composants différents, parmi lesquels deux ou trois sont des composants majeurs constituant de 20 à 70% du mélange comparativement aux autres qui se trouvent le plus souvent sous forme de traces (**Bakkali et al., 2008**).

Le fenugrec contient des proportions intéressantes d'acide linoléique et d'acide linoléique (**Schuette et al., 1940**). Selon (**Teuscher et al., 2005**), dans les graines du fenugrec il existe entre 0.01 et 0.02 % des HES, renfermant notamment de la 4,5-diméthyl-3-hydroxy-2(5H)-furanone (sotolone) et de la 3-hydroxy-4-méthyl-2(5H)-furanone (responsables de l'odeur typique des graines) ; elles sont accompagnées de dihydrobenzofurane et de *n*-hexanol présents dans le distillat obtenu par entraînement à la vapeur d'eau ; l'analyse headspace révèle également la présence de β -élémane, de ϵ -muurolène, accompagnés d'hydrocarbures aliphatiques.

La plupart des composants des HES sont inclus dans deux groupes : les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes, les deux sont synthétisés à travers deux voies métaboliques séparées (**Calsamiglia et al., 2007**) (**Amlan et Patra, 2010**).

CHAPITRE 03
FONCTIONNALITE
ALIMENTAIRE DU
fenugrec.

1. Activité antioxydante

Plusieurs études sur *Trigonella foenum-graecum* rapportent que les extraits de cette plante présentent des propriétés antioxydants. La supplémentation de la poudre de graines de fenugrec dans l'alimentation conduit à une réduction des biomarqueurs de dommages oxydatifs chez les rats diabétiques alloxanes (**Ravikumar et al., 1999**). En outre, les polyphénols des graines de fenugrec ont empêché l'hémolyse oxydative et la peroxydation lipidique induite par H₂ O₂ in vitro dans les érythrocytes humains (**Kaviarasan et al., 2006**).

1.1 Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié. Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se ré-apparier, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne (**Yakhlef, 2010**).

1.2 Les antioxydants

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par l'oxygène ou les radicaux libres dans l'organisme. Ces antioxydants sont définis aussi comme des agents redox qui réagissent avec les oxydants afin de stopper ou ralentir le processus d'oxydation, et ainsi ajust l'équilibre redox cellulaire (**El Kalamouni, 2010**).

Il existe deux classes d'antioxydants : les endogènes et les exogènes. Les antioxydants endogènes sont principalement les enzymes super oxyde dismutase, catalase et glutathion peroxydase. Les antioxydants exogènes qui sont, par définition, apportés de l'extérieur par exemple par l'alimentation (**Guillouty, 2016**).

1.3 Stress oxydatif

Le stress oxydatif est le déséquilibre entre la génération des ERO et la capacité du corps à les neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs, ce déséquilibre a pour conséquences l'apparition de dégâts souvent irréversibles pour les cellules (**Aravodis, 2005**).

Le stress oxydatif est impliqué dans de très nombreux mécanismes pathologiques, notamment ceux dus au vieillissement, l'athérosclérose, le cancer, les maladies auto-immunes ou encore les maladies de parkinson et d'Alzheimer (**Toure, 2015**).

2. Activité antibactérienne

Les extraits méthanolique et aqueux des graines de fenugrec ont montré une activité antibactérienne contre des bactéries Gram positifs et négatifs notamment vis-à-vis de *Escherichia coli*, *S. marcescens*, *Bacillus cereus* et *P. aeruginosa* (**Oueslati et al., 2015**).

3. Activité anti-inflammatoire

Trigonella foenum-graecum est riche en nombreux composés anti-inflammatoire tels que les acides phénoliques, les flavonoïdes, les alcaloïdes et les saponines. Il a été démontré que ces composants réduisent le stress oxydatif et l'inflammation en réduisant les espèces réactives de l'oxygène (ROS) (**Ahmadiani et al., 2001**).

Sous l'action de la cyclooxygénase et la lipooxygénase, l'acide arachidonique se métabolise respectivement en prostaglandines et leucotriènes induisant ainsi des phénomènes inflammatoires. Landolfi et son groupe ont montré que certains flavonoïdes sont capables de modifier le métabolisme de l'acide arachidonique dans les plaquettes (**Landolfi, 1984**). Ils ont même reporté que les effets de la quercétine et la myricétine sont dose- dépendant à de fortes concentrations, ils inhibent la cyclooxygénase et la lipooxygénase. Cependant à de faibles concentrations, seule la lipooxygénase est affectée. En outre, d'autres flavonoïdes tels que l'apigénine et la chysine agissent principalement sur l'activité de la cyclooxygénase (**Landolfi, 1984**).

4. Activité antiallergique

L'effet antiallergique du fenugrec due à la présence de la quercétine dans leurs graines qu'agit comme un antihistaminique. C'est un puissant inhibiteur de la libération de l'histamine par les basophiles et les mastocytes. Même à faibles niveaux, la quercétine, à la déférence de la plupart des substances anti-allergiques, inhibe fortement et efficacement la libération de l'histamine au premier et au second stade de sa libération par les basophiles (**Rene, 2002**). Des recherches préliminaires suggèrent qu'elle pourrait être utile dans le traitement de l'asthme et des allergies.

Des études in vitro ont été réalisées pour déterminer le mode d'action précis par lequel les flavonoïdes atténuent les symptômes de l'allergie et de l'asthme. Dans l'une d'entre elles, des mastocytes ont été traités avec onze flavonoïdes différents dont la quercétine et la catéchine. La libération d'histamine a été induite chimiquement. Tous les flavonoïdes testés ont montré un effet protecteur contre la libération d'histamine. Ils agissaient en prévenant

l'absorption du calcium par les cellules. Des résultats identiques ont été obtenus sur des basophiles traités avec de la quercétine (**Perle et al., 2000**).

5. Activité antiulcéreuse

Dans des expériences réalisées sur des rats, il a été démontré que la quercétine joue un rôle important dans la réduction de l'ulcère et la protection des cellules gastriques.

Il a été suggéré que la quercétine exerce son activité via un mécanisme complexe impliquant la production du mucus, le piégeage des radicaux libres, et également l'inhibition, de la production de leucotriènes (**Dicorlo et al., 1999**).

D'autres études ont permis également d'établir une relation étroite entre les propriétés antiulcéreuses, de la quercétine, et la production du PAF (Platelet activating Factor) qui est un agent ulcérogène potentiel (**Izzo, 1996**). En effet, il s'est avéré que la réduction des dommages gastro-intestinaux, est due probablement à l'inhibition du PAF par la quercétine.

6. Activité anticancéreuse

L'extrait éthanolique de *Trigonella foenum-graecum*, avec une DE50 inférieure à 10 µg/mL dans le test de cytotoxicité de la crevettesaline, a également montré une activité antitumorale dans le carcinome du poumon A-549, le cancer du sein chez la femme MCF-7 et contre les lignées cellulaires d'adénocarcinome du côlon HT-29 (**Alkofahi et al., 1996**). L'extrait a donné des résultats négatifs dans le test de mutagénicité.

7. Activité anti-diabétique

Les graines de fenugrec sont connues depuis longtemps pour leur action antidiabétique (**Moissides, 1939**) (**Mishkinsky et al., 1967**). (**Fourier, 1948**) a observé que la consommation de graines de fenugrec moulues grossièrement améliore le diabète chez les sujets humains. Cette propriété a été confirmée plus tard chez les rats alloxane-diabétiques, où l'extrait de pépins induit un effet hypoglycémiant significatif (**Bever et Zahnd, 1979**) (**Khosla et al., 1995**), tout comme son principal alcaloïde, trigonelline (**Shanietal, 1974**). (**Ghafghazi et al., 1980**) ont montré qu'un extrait de fenugrec prévenait l'hyperglycémie induite par le cadmium et l'alloxane chez le rat. (**Amin et al., 1988**) ont également montré que les animaux diabétiques traités avec un régime à 20% de fenugrec 5 semaines avant une injection des streptozotocine (STZ) présentaient une amélioration générale de l'état clinique par rapport aux animaux traités par STZ seul. L'hyperglycémie, les acides

gras libres, le cholestérol et les triglycérides ont été significativement réduits. Cependant, si la période de prétraitement n'a pas été utilisée, un régime supplémentaire de fenugrec suite à l'induction du diabète n'a pas amélioré l'état diabétique, tel que jugé par les taux de glucose sanguin et de lipides. Ainsi, un rôle préventif possible du fenugrec contre le diabète induit chimiquement a été suggéré.

8. Activité hypocholestérolémiant

Il a été démontré que les graines de fenugrec possèdent un effet hypocholestérolémiant chez les rats (**Singh et al., 1990**) (**Sharma, 1984, 1986**) (**Stark et Madar, 1993**) (**Khosla et al., 1995**) et chez les chiens (**Valette et al., 1984**). L'élévation du taux de cholestérol chez le rat a été empêchée en ajoutant du fenugrec à 15-60 pourcent à un régime induisant l'hypercholestérolémie (**Sharma, 1984**). Il a été démontré que le fenugrec avait un effet plus important sur le cholestérol exogène (lors qu'il est administré avec un régime hypochol est érolémiant contenant 1% de cholestérol) que sur le cholestérol endogène (fenugrec administré avec un régime alimentaire sans cholestérol) (**Sharma, 1984**). Le fenugrec dégraissé (100g) incorporé dans le régime alimentaire expérimental de sujet hyperlipidémiques non diabétiques a significativement réduit les taux sériques de cholestérol total, de LDL et de lipoprotéines de très basse densité (VLDL) et de triglycérides (**Sharma et Raghuram 1990**). Dans les lipoprotéines de haute densité (HDL)-cholestérol.

En conséquence, il y a eu une augmentation significative du rapport HDL / cholestérol total et HDL / LDL et VLDL-cholestérol, qui se sont avérés être des facteurs fiables d'évaluation des risques de CHD (**Kannel, 1983**).

La capacité du fenugrec à réduire électivement la fraction LDL et VLDL du cholestérol total pourrait être bénéfique dans la prévention de l'athérosclérose. Un effet sélectif similaire sur le cholestérol LDL a été observé avec des fibres alimentaires telles que le son d'avoine (**Kirby et al., 1981**) et la gomme de guar (**Jenkins et al., 1980**). Les glucides naturels riches en fibres se sont révélés efficaces contre l'hyperlipidémie et les maladies cardiovasculaires ischémiques (**Trowell, 1972**).

9. Activité antihelminthique

Les graines de fenugrec ont été utilisées comme antihelminthiques contre les nématodes les plus communs (**Mishra et al., 1965**). (**Ghafghazi et al., 1980**) ont montré qu'un extrait aqueux de graines de fenugrec avait une activité antihelminthique dose-dépendante in vitro

sur les cestodes et les nématodes. L'extrait a également entraîné une inhibition de 87% de l'embryon des œufs d'*Ascarislumbricoides* (**Ghafghazi et al., 1980**).

10. Activité antinociceptive

En utilisant les tests de flick-tail et de formol, (**Javan et al., 1997**) ont mis en évidence un effet antinociceptif d'un extrait aqueux préparé à partir de feuilles de fenugrec (1-2g / kg administré par voie intrapéritonéale).

CHAPITRE 04
TROUBLES
NUTRITIONNELS chez les
personnes âgées

1. les besoins nutritionnels des sujets âgés

Les besoins nutritionnels des sujets âgés ne sont pas différents par rapport à la population adulte. Les dépenses énergétiques sont dispensées de la même façon : 60% pour les besoins du métabolisme de base, assurant le métabolisme oxydatif nécessaire au maintien de la vie, 10% pour la thermorégulation, et 30% pour l'activité physique.

Le métabolisme de base chez les sujets âgés diminue en raison de la diminution de la masse maigre, mais rapporté au kg de tissu maigre, ne varie pas (environ 26,5 kcal / kg / j). Les dépenses pour la thermorégulation restent pratiquement identiques. Quant aux dépenses énergétiques pour l'activité physique, elles dépendent de la façon de vivre de la personne, mais, même pour une activité physique modérée (jardinage, marche, activités ménagères), restent comparables à ceux d'un adulte, en raison d'un moins bon rendement énergétique. Les besoins nutritionnels restent donc à environ 30 kcal / kg / jour (**Debray, 2004**).

1.1 Les besoins en protéines

Les besoins protéiques représentent environ 12 % de la ration énergétique chez la personne âgée comme chez l'adulte. Si les apports énergétiques diminuent, ce qui est fréquent, la proportion de protéines contenue dans l'alimentation devrait augmenter.

Devant les variations d'apport alimentaire des sujets âgés, il paraît préférable de calculer les apports en protéines en fonction du poids. Actuellement la ration de 1g de protéines/kg de poids corporel / jour recommandée chez l'adulte, devrait être élargie à 1,1 à 1,2 g / kg / j chez le sujet âgé, afin de maintenir le bilan azoté à l'équilibre, en dehors de toute situation d'hypercatabolisme. Contrairement aux glucides et aux lipides, il n'y a pas de réserves de protéines comme il y a du glycogène et du tissu adipeux. Tout besoin accru en une protéine se traduit par la "consommation" d'une autre.

Les apports en protéines d'origine animale doivent être privilégiés et doivent représenter au moins 60 % de l'apport protéique total. En effet, leur composition en acides aminés est mieux équilibrée que celle des protéines végétales (**Maugourd, 1992**).

1.2 Les besoins en glucides

Aucun sucre simple ou complexe n'a été répertorié comme un nutriment indispensable. La recommandation ne porte que sur la ration globale en glucides et devrait représenter 50 % de l'apport énergétique. Le vieillissement s'accompagne d'un retard de sécrétion d'insuline et d'une insulino résistance musculaire au glucose, favorisant les décompensations de type diabétique

dans les états d'hypermétabolisme. On peut donc recommander aux patients âgés d'augmenter les apports en glucides complexes et de limiter l'apport en sucres simples, en conservant au repas l'attrait qu'il doit néanmoins avoir.

En situation d'alimentation artificielle il faut comme chez l'adulte que le rapport glucides/protides soit compris entre 2,5 et 3(**Ferry et al., 2002**).

1.3 Les besoins en lipides

Trop importante dans les pays occidentaux, ne doit pas excéder 30% avec une répartition de 10% pour des lipides saturés, monoinsaturés et polyinsaturés. Sous l'action d'elongases et de désaturases, l'acide linoléique (série n-6) et l'acide alinolénique (série n-3) se transforment respectivement en acide arachidonique et acide éicosapentaénoïque, eux-mêmes précurseurs des prostaglandines dont on connaît le rôle important dans le maintien d'une agrégation plaquettaire normale. Du fait d'une diminution de l'activité des désaturases avec l'âge, les acides gras à longue chaîne sont également considérés comme essentiels chez le sujet âgé.

Chez les personnes âgées, les apports alimentaires contiennent fréquemment trop d'acide linoléique et pas assez d'acide linoléique. Ceci, conjointement à la diminution de l'activité des désaturases, favorise la carence en acides dihomogamma-linolénique et éicosapentaénoïque, et par voie de fait, l'hyperagrégation plaquettaire (**Debray, 2004**).

1.4 Les besoins en vitamines

Les apports recommandés en vitamines pour les sujets âgés sont les mêmes que ceux préconisés pour les adultes. Des suppléments vitaminiques seraient vraisemblablement utiles dans cette population pour améliorer par exemple la réponse immunitaire, mais ce n'est pas démontré.

La vitamine D est particulière : rare dans l'alimentation habituelle, sa synthèse est réalisée dans la peau exposée au soleil. Une carence en vitamine D est associée à une ostéomalacie (cf. glossaire) et une ostéoporose qui entraînent un hyperparathyroïdisme secondaire.

C'est le cas chez les sujets âgés vivant confinés en institution ou à domicile. Les déficits vitaminiques sont peu importants chez les sujets âgés vivant à domicile et bien socialisés, car ceux-ci, sauf les personnes isolées, ont en majorité une alimentation suffisante et variée. Par contre, le risque de carences notamment en vitamines B est particulièrement élevé chez les sujets hospitalisés, vivant en institution, du fait d'une part d'une réduction des apports par les aliments

transportés par chaîne chaude et d'autre part d'une augmentation des besoins à cause des maladies (**Site web 2**).

1.5 Les besoins en minéraux

Les minéraux s'évaluent en mg dans l'organisme humain.

- **Calcium** : Le calcium est absorbé selon deux mécanismes :
 - Une voie paracellulaire qui permet l'absorption de 60 à 70% du calcium à l'âge adulte ;
 - Une voie transcellulaire, processus actif vitamine D-dépendant, qui diminue avec l'âge et qui est pratiquement inexistant chez les sujets très âgés.

L'absorption du calcium chez les sujets âgés dépend donc essentiellement de la concentration intra-intestinale du calcium et donc des apports calciques.

Les apports recommandés en calcium sont officiellement de 900 mg/jour chez les sujets âgés mais des études américaines suggèrent que 1200 voire 1500 mg de calcium par jour sont préférables.

- **Phosphore** : La majeure partie du phosphore de l'organisme (700 g) est contenu dans l'os et les dents. Cet élément intervient en particulier dans les mécanismes de production d'énergie (Adénosine triphosphate) et dans de nombreux systèmes enzymatiques. Il est contenu dans de nombreux aliments : poissons, œufs, viandes, produits laitiers, fruits, céréales, et même les sujets ayant de faibles apports alimentaires ingèrent 1 g de phosphore par jour. Il n'y a donc aucune difficulté à couvrir les besoins nets qui sont de 450 mg / jour.
- **Magnésium** : Le magnésium participe à la plupart des métabolismes d'oxydoréduction et de régulation électrolytique. La moitié du capital magnésique (24 g) se situe dans l'os. Les muscles squelettiques, le système nerveux et les organes à haute activité métabolique en contiennent également beaucoup. Il est possible que les pertes excessives de magnésium apparaissent chez les sujets âgés malades, alcooliques ou diabétiques, et chez les patients traités par certains diurétiques. Les apports magnésiques nécessaires sont estimés à 6 mg / kg / jour.

Le magnésium est apporté par des aliments comme le chocolat, les fruits secs, les fruits de mer ou les céréales entières et de façon non négligeable par l'eau de boisson.

- **Fer** : Il y a peu de déficits en fer chez les sujets âgés en dehors de pathologies responsables d'un saignement. La prévalence des déficits en fer chez les sujets âgés est estimée à moins de 10% dans les études américaines et aux environs de 5% dans l'enquête du Val-de Marne et l'enquête EURONUT/ SENECA. Le fer le mieux absorbé est le fer héminique apporté par les viandes.

Les apports recommandés sont de 9 à 12 mg par jour, généralement couverts par l'alimentation. Les suppléments en fer ont un effet pro-oxydant (**Site web 3**).

1.6 Les besoins en eau

Les sujets âgés, comme les adultes, ont un besoin hydrique de 35 à 45 ml d'eau / kg / j soit environ 2,5 l d'eau pour une personne pesant 60 kg. Ces 2,5 l d'eau sont fournis pour moitié par les boissons, l'autre moitié étant apportée par l'eau de constitution des aliments et l'eau produite par les réactions d'oxydation (**Ferry et al., 2002**).

2. L'évaluation du statut nutritionnel

L'évaluation du statut nutritionnel comporte les mesures cliniques et les paramètres biologiques.

2.1 Evaluation clinique

Les mesures globales comportent :

- La mesure du poids : rechercher une perte récente,
- L'index de la masse corporelle de Quételet ($IMC = \text{poids}/\text{taille}^2$) qui devrait se situer entre 21 et 27 (contre 19 et 25 pour un adulte),
- **Les mesures anthropométriques :**
 - la circonférence du mollet ou du bras pour estimer la masse musculaire, principal composant de la masse maigre (avec mètre de couturière).
 - l'épaisseur du pli cutané tricipital ou sous-scapulaire pour avoir le reflet de la masse grasse (au compas de Harpenden) (**Debray, 2004**).

2.2 Evaluation biologique

L'évaluation biologique concerne les dosages :

- Des protéines de transport : albumine et préalbumine.
- Des protéines d'inflammation : CRP et orosomucoïde pour estimer la part d'hypercatabolisme et de dénutrition endogène liée à l'infection (CRP) ou l'inflammation (orosomucoïde).
- Des lymphocytes, le taux bas (<1 000 éléments /mm³) reflète la défaillance du système immunitaire qui favorise des infections (**Debray, 2004**).

3. Les conséquences de malnutrition

Les conséquences de la malnutrition sont graves. Le dysfonctionnement du système immunitaire se manifeste par une lymphopénie, mais tous secteurs sont touchés : l'immunité à médiation cellulaire, l'immunité humorale et l'immunité non spécifique. Cette incompétence du système immunitaire favorise des infections, responsables d'anorexie et d'hypercatabolisme, ce qui aggrave la dénutrition et le déficit immunitaire... entraînant un cercle vicieux, difficile à casser.

La dénutrition se répercute sur d'autres fonctions physiologiques comme la sécrétion hormonale, la synthèse d'albumine ou l'équilibre minéralo-calcique. La stimulation du cortisol et des catécholamines favorise une insulino-résistance et une hyperglycémie, la baisse du taux d'albumine circulante favorise un risque de toxicité médicamenteuse. Le déficit vitaminique (groupe B) lié à la malnutrition peut provoquer une asthénie et des troubles psychiques ou neurologiques. La carence en calcium aggrave l'ostéopénie et favorise la fragilité osseuse. La malnutrition augmente la morbidité infectieuse de 2 à 6 fois et multiplie le risque de mortalité par 2 à 4. Elle multiplie par 2 à 4 la durée d'hospitalisation pour la même affection. Elle peut être responsable de l'épuisement des réserves de l'organisme, de la perte d'autonomie et du décès (**Maugourd, 1992**).

4. La prévention de la dénutrition

Malgré l'avancée de l'âge, l'alimentation doit rester un acte essentiel de la vie quotidienne, une source de plaisir et de convivialité. Tous les facteurs favorisent une mauvaise nutrition doivent être analysés : le contexte social, la situation financière, le mode d'alimentation et de stockage des aliments, la sédentarité favorisent l'installation de sarcopénie et de perte d'autonomie, la présence des maladies chroniques. Les régimes alimentaires sont à éviter (**Ferry et al., 2002**).

5. La prise en charge

Du patient âgé dénutri comprend un renforcement des apports nutritionnels, au mieux, par la voie orale. Il faut proposer, si possible, une prise en charge par un spécialiste en diététique, pour établir un projet de renutrition prenant en compte les habitudes alimentaires du patients et ses goûts. Les compléments nutritionnels, hyperprotidiques et hypercaloriques sont d'une grande utilité, en apportant en petit volume une quantité importante des protéines avec une structure d'aliment facilement acceptée par les patients âgés, qui habituellement préfèrent les aliments sucrés, semi-liquides, faciles à prendre et à digérer.

Si la prise orale est insuffisante, dans des situations d'augmentation des besoins (maladie aiguë, stress entraînant un hypercatabolisme) il faut proposer une renutrition entérale par sonde nasogastrique ou parentérale par voie veineuse périphérique ou centrale (difficile en gériatrie, car exposant le patient aux risques d'hypervolémie, d'infection nosocomiale et de perturbation hydroélectrolytique). Cette renutrition doit être de courte durée, bien acceptée par le patient et proposée pour gérer l'urgence, en attendant la reprise alimentaire orale (**Maugourd, 1992**).

PARTIE
EXPERIMENTALE

CHAPITRE 01
MATÉRIELS ET
MÉTHODES

Le travail expérimental a été réalisé au sein du laboratoire de génie chimique, département de Génie des Procédés, Faculté De Technologie à l'université de Blida 1. La partie microbiologique a été réalisée au niveau de Laboratoire d'Hygiène de référence de la wilaya de Blida.

1. Matériels

1.1 Matériel biologique

1.1.1 Matériel végétal

Pour le matériel végétal, on a opté pour deux variétés de graines de fenugrec (*Trigonella foenum-graecum* L) d'origine déférente ; une locale de la wilaya d'Ain-Defla (**Figure 6 (a)**), et la deuxième de l'Inde (**Figure 6 (b)**). Récupéré chez un herboriste.

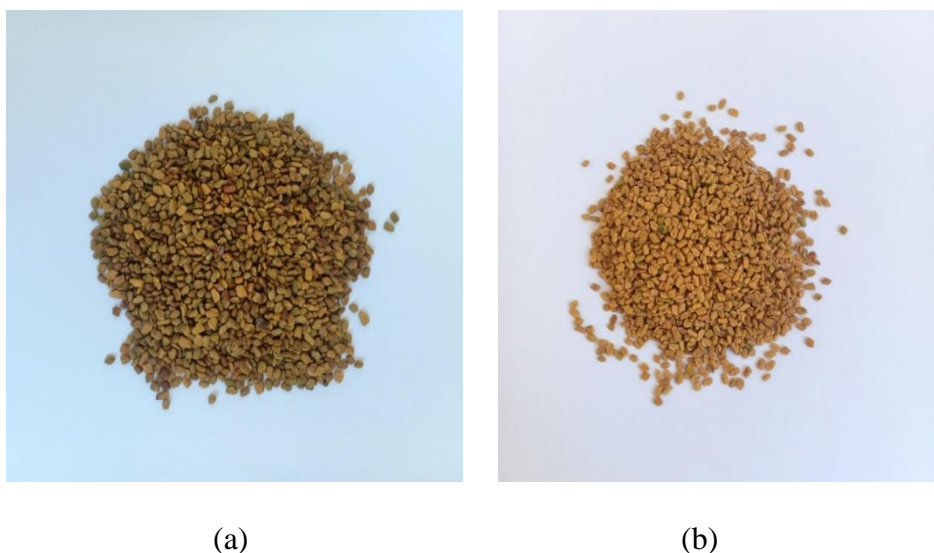


Figure 6 : Graines des deux variétés de fenugrec utilisées dans l'étude [(a) Algérie / (b) Inde] (Photos original, 2022)

1.1.2 Les microorganismes

Les microorganismes utilisés pour l'étude de l'activité antimicrobienne des extraits de la plante, sont des souches bactériennes référenciées ATCC et des souches fongiques fournis par le Laboratoire d'Hygiène de référence de la wilaya de Blida.

Tableau 2 : Caractéristiques des souches microbiennes utilisées pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne.

Les souches	Type de bactéries	Coloration de Gram	Origine
<i>Staphylococcus aureus</i>	Bactéries	Gram (+)	ATCC 6538
<i>Bacillus cereus</i>	Bactéries	Gram (+)	ATCC 6017
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bactéries	Gram (-)	ATCC 9027
<i>Escherichia coli</i>	Bactéries	Gram (-)	ATCC 8737
<i>Candida albicans</i>	Levures		ATCC 10231
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	Moisissure		ATCC 16404

1.2 Matériel non biologique

L'Appareillage, la verrerie, les milieux de culture et les réactifs sont regroupés dans l'**annexe 1**.

2. Méthodes

2.1 Préparation du matériel végétal

Notre étude est portée sur la poudre des graines séchées de la plante étudiée, fenugrec (*Trigonella foenum-graecum* L).

2.1.1 Préparation de la poudre

À fin de réaliser ce présent travail, les graines sont passées par les étapes suivantes :

a. Nettoyage :

Les graines séchées de fenugrec ont été nettoyées ; en enlevant les petits cailloux et en débarrasser des débris de sol (**Figure 6**).

b. Broyage :

Les graines saines et nettoyés de *Trigonella foenum-graecum* L, ont été très bien broyées à l'aide d'un moulin électrique, suivis d'un tamisage dans le but d'obtenir une poudre extrêmement fine (**Figure 7**).



Figure 7 : Poudres des deux variétés de fenugrec utilisées dans l'étude [(a) Algérie / (b) Inde]
(Photos original, 2022)

c. Stockage :

Notre échantillon après broyage et tamisage, a été stocké et conservées dans des bocaux propres en verre, portant l'étiquetage, et hermétiquement fermés, conservé à l'abri de la lumière et de l'humidité pour des analyses ultérieures (**Figure 8**).



Figure 8 : Conservation de la poudre (Photo originale, 2022)

2.1.2 Préparation des extraits

✓ Préparation de l'extrait aqueux

L'infusé est préparé, en versant 100 ml d'eau distillée bouillie sur 10 g de poudre végétale puis en agitant (**Figure 9 (a)**). Après 30 min d'infusion, la solution est filtrée sur un papier filtre Whatman n°1 (**Figure 9 (b)**) en suite ajusté avec l'eau distillé jusqu'à 100 ml (**Figure 9 (c)**).

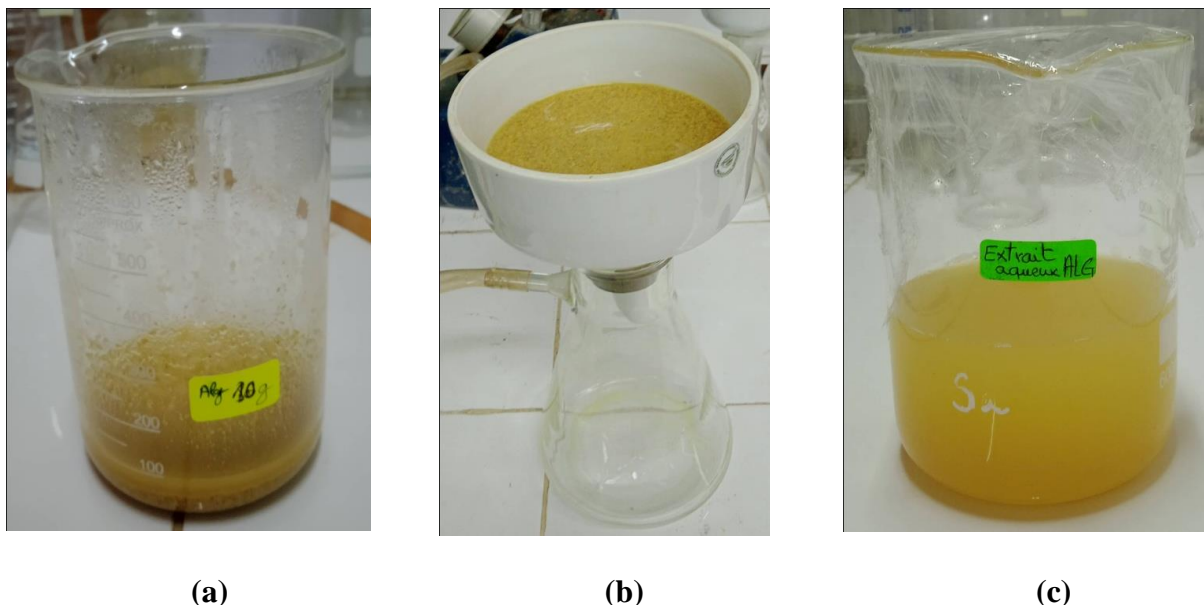


Figure 9 : Préparation des extraits aqueux des graines de deux variétés de fenugrec

(Photos original, 2022)

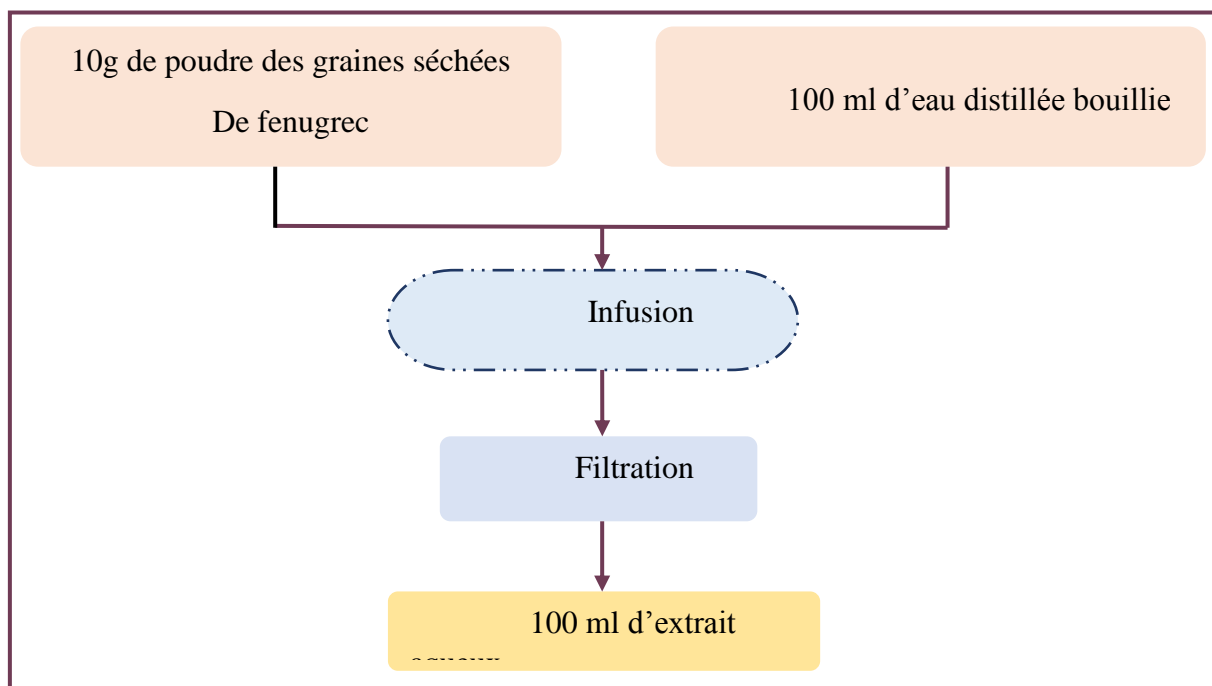


Figure 10 : Protocole d'extraction aqueux du matériel végétal.

✓ Préparation de l'extrait brut méthanolique

L'extrait méthanolique des graines du *Trigonella foenum-graecum* L. Est préparé selon la méthode suivante :

La méthode d'extraction optée est celle du liquide-liquide. Ainsi, 100 g de poudre de graines séchées broyées été placés dans un Bécher contenant 450 ml de méthanol (96%). La préparation est laissée macérer sous agitation, pendant 3 jours, à l'ombre et à température ambiante (**Figure 11 (a)**).

Après filtration (en utilisant du papier filtre whatman n°1) (**Figure 11 (b)**), les solutions méthanoliques (le filtrat) ont été évaporées sous pression réduite dans un évaporateur rotatif à une température de 45°C (**Figure 11 (c)**).

Les extraits récupérés de volume concentré ont été séchée dans des Boit de pétri ; en verre, à l'aire libre afin d'obtenir des résidus secs. On les conserve au réfrigérateur jusqu'à son utilisation. (**Matkowski et Piotrowska, 2006**) (**Figure 11 (d)**).

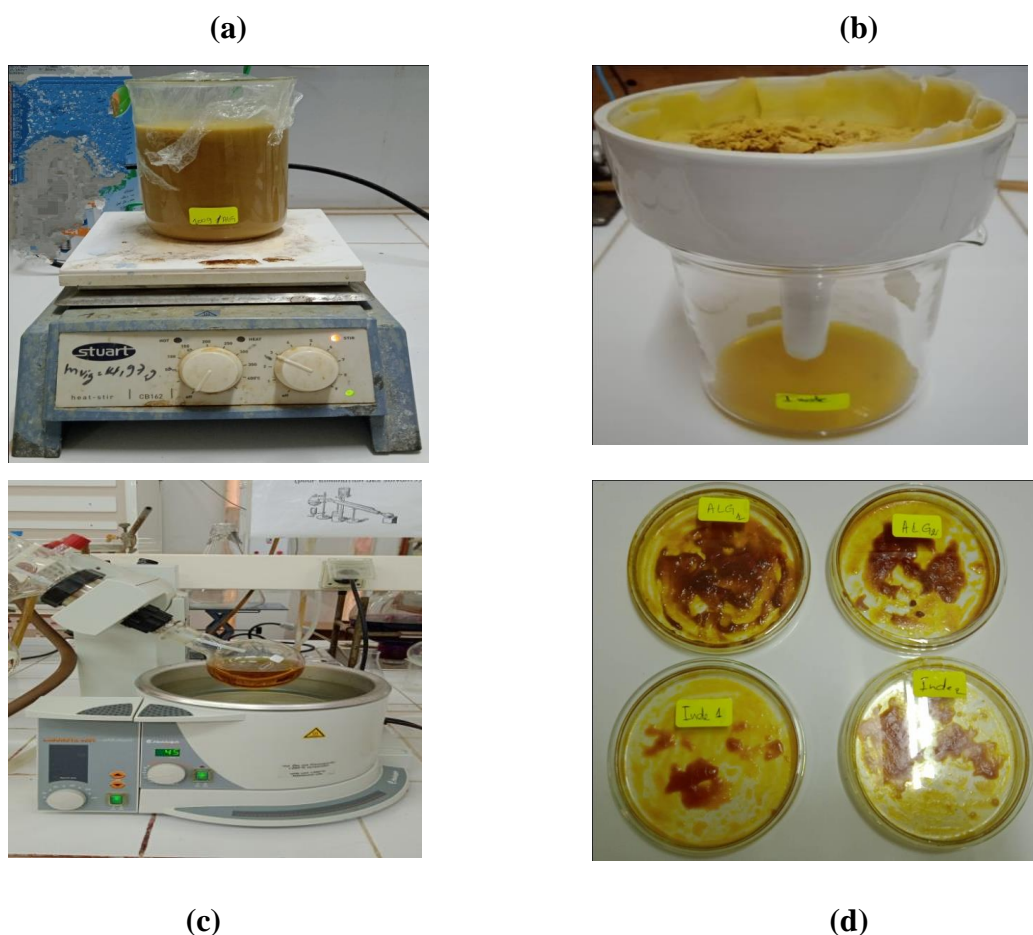


Figure 11 : Préparation des extraits méthanoliques bruts des graines de deux variétés de fenugrec
(Photos original, 2022)

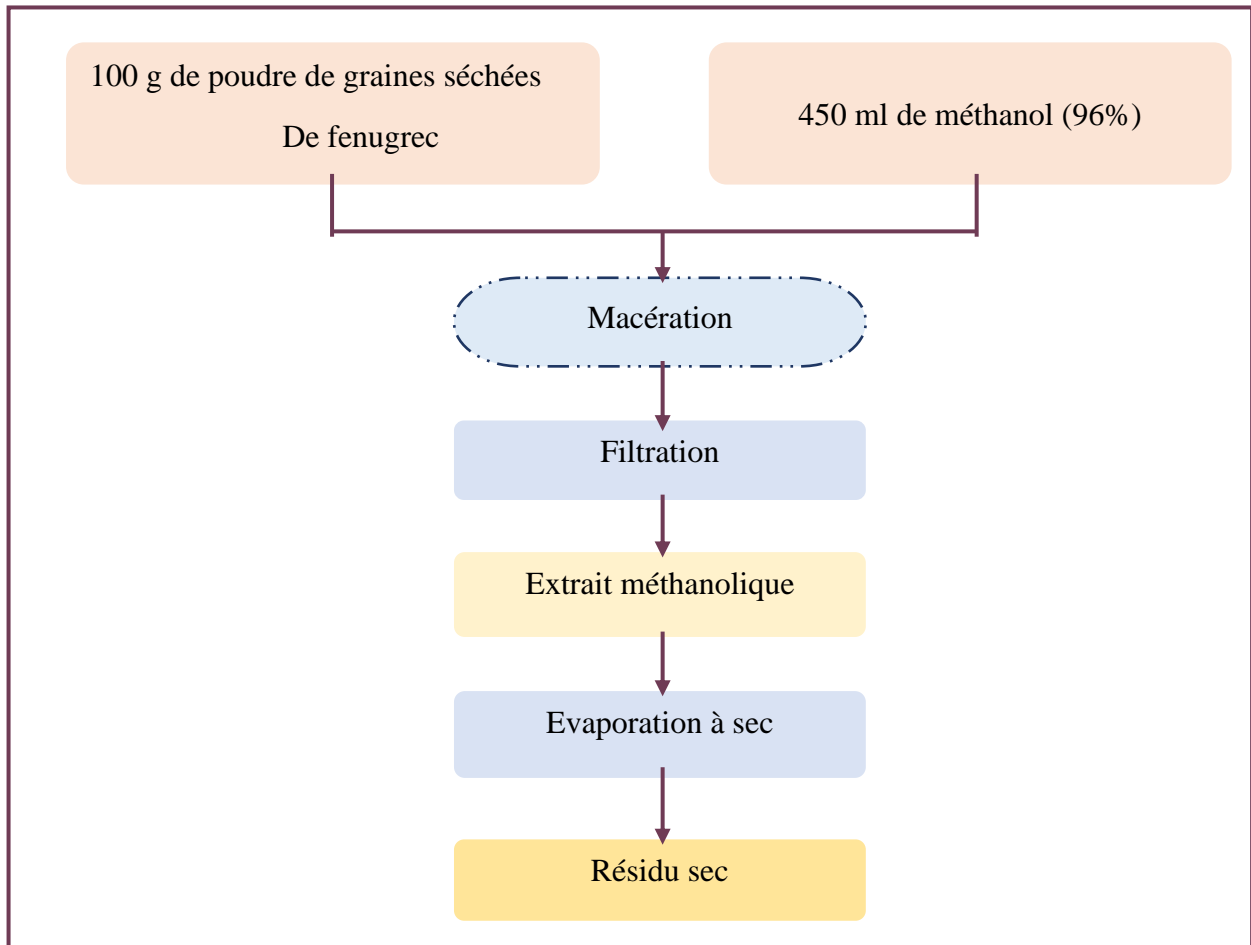


Figure 12 : Protocole d'extraction méthanolique du matériel végétal.

2.2 Détermination du rendement d'extraction

Le rendement en extrait sec a été exprimé en pourcentage de la masse de l'extrait sec résultant en gramme par rapport à la masse initial des graines de fenugrec en gramme.

Il est déterminé en calculant le rapport suivant :

$$\mathbf{R (\%)} = \mathbf{M_e / M_0 \times 100} \quad (\text{Eq1})$$

Considérons :

R (%): Rendement exprimé en pourcentage %.

M_e: Masse de l'extrait sec résultant en (g).

M₀: Masse initiale du matériel végétal à traiter (Graines de fenugrec) en (g).

2.3 Étude phytochimique des extraits

Dans le but de caractériser les extraits préparés à partir des graines de fenugrec, des analyses qualitatives et quantitatives ont été effectuées.

2.3.1 Analyses qualitatives

La mise en évidence des métabolites secondaires qui rentrent dans la composition de la plante étudiée est faite par la méthode de caractérisation en tube. Il s'agit d'une analyse qualitative basée sur des réactions de coloration et / ou de précipitation.

Les résultats peuvent être difficilement interprétables ; sont classés comme suit :

- Réaction (absence) : -
- Réaction (positive) : +

Les métabolites secondaires, sont recherchés dans la poudre végétale et l'infusé à 10%.

2.3.1.1 Caractérisation des mucilages

La présence ou l'absence des mucilages dans un extrait peut être mise en évidence par un test simple et rapide décrit par (Gherib, 1988 ; Diallo, 2005). Le test consiste à ajouter à 1 ml d'infusé de poudre végétale, 5 ml d'éthanol absolu. Laisser agir 3 min et regarder le changement de couleur. L'obtention d'un précipité floconneux après agitation indique la présence des mucilages.

2.3.1.2 Caractérisation des tanins

La présence des tanins est mise en évidence par le Chlorure Ferrique à l'aide d'une méthode décrite par (Bruneton, 1999) ; qui consiste à ajouter à 5ml d'infusé de poudre végétale, quelque goutte d'une solution de $FeCl_3$ à 5 %, agiter et laisser agir pendant un moment. L'apparition de couleur bleu noire confirme la présence des tanins.

❖ Caractérisation des tanins catéchétiques

Le test consiste à ajouter 15 ml d'infusé à 7 ml de réactif de stiasny. Laisser agir 3 min et regarder le changement de couleur. La présence des tanins catéchétiques est confirmée par la coloration rouge.

❖ **Caractérisation des tanins galliques**

Le test consiste à ajouter à 5 ml d'infusé, 2 g d'acétate de sodium et quelques gouttes de FeCl_3 . Agiter et laisser agir pendant un moment, l'apparition de couleur bleu foncé confirme la présence des tanins galliques.

2.3.1.3 Caractérisation des quinones

❖ **Caractérisation des quinones libre**

La présence ou l'absence des quinones libres dans un extrait peut être mise en évidence par une méthode décrite par **(Bruneton, 1999)** ; qui consiste à humecter 2 g de poudre végétale par 2 ml d'acide chlorhydrique N, sont mis en contact pendant 3 heures dans 20 ml de chloroforme, puis filtrer. Le filtrat est agi avec 5 ml d'ammoniaque $\frac{1}{2}$. Laisser agir pendant un moment et regarder le changement de couleur. La présence des quinones libres est confirmée par la coloration rouge.

❖ **Caractérisation des quinones combinées**

La caractérisation des quinones combinées été réalisée selon le protocole de **(Bruneton, 1999)**. Par ajout à 2 g de poudre végétale, 5 ml d'Acide sulfurique 2N et porter à reflux pendant 2 heures. La solution extractive est filtrée puis épuisé par 20 ml de chloroforme. Cette solution chloroformique est évaporée à sec puis épuisé par l'ammoniaque (1/2). La réaction agit brièvement et l'apparition d'une coloration rouge confirme la présence des quinones combinées.

2.3.1.4 Caractérisation des glucosides

La présence des glucosides est mise en évidence par le H_2SO_4 à l'aide d'une méthode décrite par **(Gherib, 1988)** ; qui consiste à ajouter à 2 g de poudre végétale, quelque goutte de H_2SO_4 , agiter et laisser agir pendant un moment. Le développement d'une coloration rouge brique puis violette indique la présence des glucosides.

2.3.1.5 Caractérisation des saponosides

Selon le protocole de **(Bruneton, 1999)**, la caractérisation des saponosides a été réalisée par un test simple et rapide.

Ce test consiste à introduire 5 ml d'HCL à 0.1 N dans une fiole et introduire dans une deuxième fiole 5 ml de Na OH à 0.1N, puis rajouter dans chacune d'elle 2 à 3 gouttes d'infusé.

Laisser agir quelques minutes et regarder le changement de couleur. La présence des saponosides est confirmée par la formation des mousses (précipitéblanc).

2.3.1.6 Caractérisation des coumarines

La caractérisation des coumarines a été réalisée selon le protocole de **(Bruneton, 1999)**. Par ajout à 2 g de poudre végétale, 20 ml alcool éthylique. Le tout est laissé au bain Marie à 60°C pendant 15 mn, puis filtrer. Après refroidissement, 5 ml de ce mélange est versé dans un tube à essai. Ensuite, 10 gouttes de la solution alcoolique de KOH à 10% et quelques gouttes d'HCl à 10% sont ajoutées dans ce tube. La réaction agit brièvement et l'apparition d'un trouble indique la présence des coumarines.

2.3.1.7 Caractérisation des alcaloïdes

La présence ou l'absence des alcaloïdes dans un extrait peut être mise en évidence par un test décrit par **(Gherib, 1988)**. Ce test consiste à macérer 5 g de poudre végétale humectés avec l'Ammoniaque (1/2) pendant 24 heures dans 50 ml d'un mélange éther chloroforme (3/1). Le filtrat est épuisé par l'Acide chlorhydrique 2 N. des réactions de précipitations sont effectuées sur la solution chlorhydrique. En présence des alcaloïdes, le réactif de Dragendorff donne un précipité rouge tandis que le réactif de Valser Mayer donne un précipité blanc jaunâtre.

2.3.1.8 Caractérisation des anthocyanes

La présence des anthocyanes est mise en évidence par le HCL à l'aide d'un test simple et rapide décrit par **(Bruneton, 1999)**. Ce test consiste à ajouter à 5 ml d'infusé de poudre végétale, quelques gouttes d'HCL, agiter et laisser agir pendant un moment. L'apparition de couleur rouge confirme la présence des anthocyanes.

2.3.2 Analyses quantitatives

2.3.2.1 Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux dans notre extrait brut méthanolique de graines de fenugrec a été effectué spectrophotométriquement selon la méthode au réactif de Folin-Ciocalteu ; décrite par **(Singleton et al., 1965)**.

Le réactif de Folin-Ciocalteu d'une couleur jaune est composé par un mélange de deux acides : l'acide phosphotungstique (H₃PW₁₅O₄₃) et l'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀). En présence des PT dotés d'une capacité réductrice lors de la réalisation du test, ces deux acides vont être réduits en deux substances chromogènes qui donnent au mélange une couleur bleu.

L'oxyde de tungstène et de molybdène issu successivement de l'acide phosphotungstique et de l'acide phosphomolybdique génèrent une coloration bleu proportionnelle à la concentration de PT présents dans le mélange (Ribéreau-Gayon, 1968). Le spectre de la lecture est compris entre 725 et 765 nm (Boizot et al., 2006).

▪ Mode opératoire

Un volume de 200 µl de l'extrait brut méthanolique est introduit dans des tubes à essai, le mélange de (1 ml du réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois et 0,8 ml de carbonate de sodium à 7.5%) est additionné. Les tubes sont agités et conservés durant 30 minutes à la température ambiante et à l'abri de la lumière.

L'absorbance est mesurée à 765 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif (Figure 13).

▪ Expression des résultats

La teneur (T) en polyphénols totaux dans notre extrait, a été calculé à partir de l'équation de régression d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y = ax+b$), établie avec le standard étalon d'acide gallique.

Les résultats de la plante étudiée sont exprimés en milligramme (mg) équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait méthanolique (mg GAE / g EM).

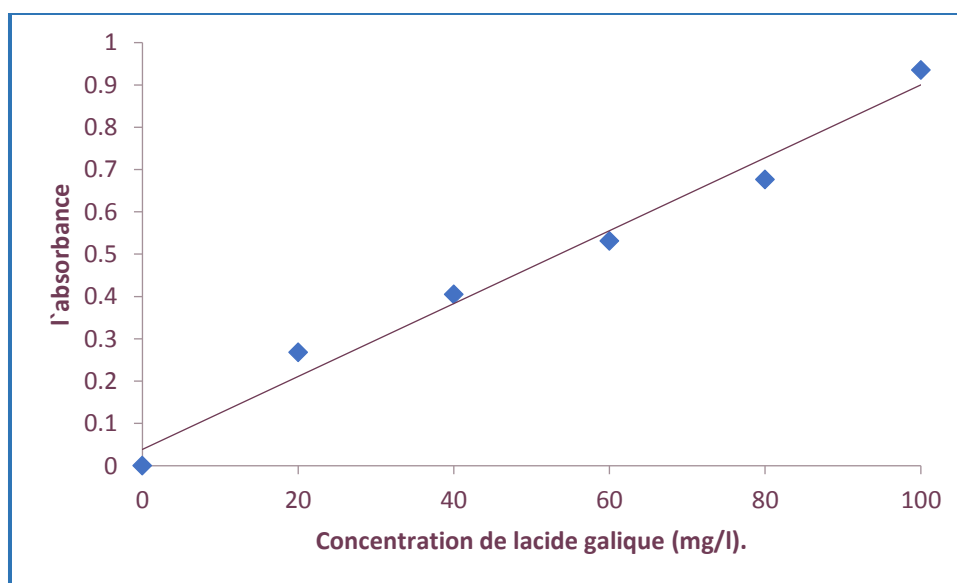


Figure 13 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

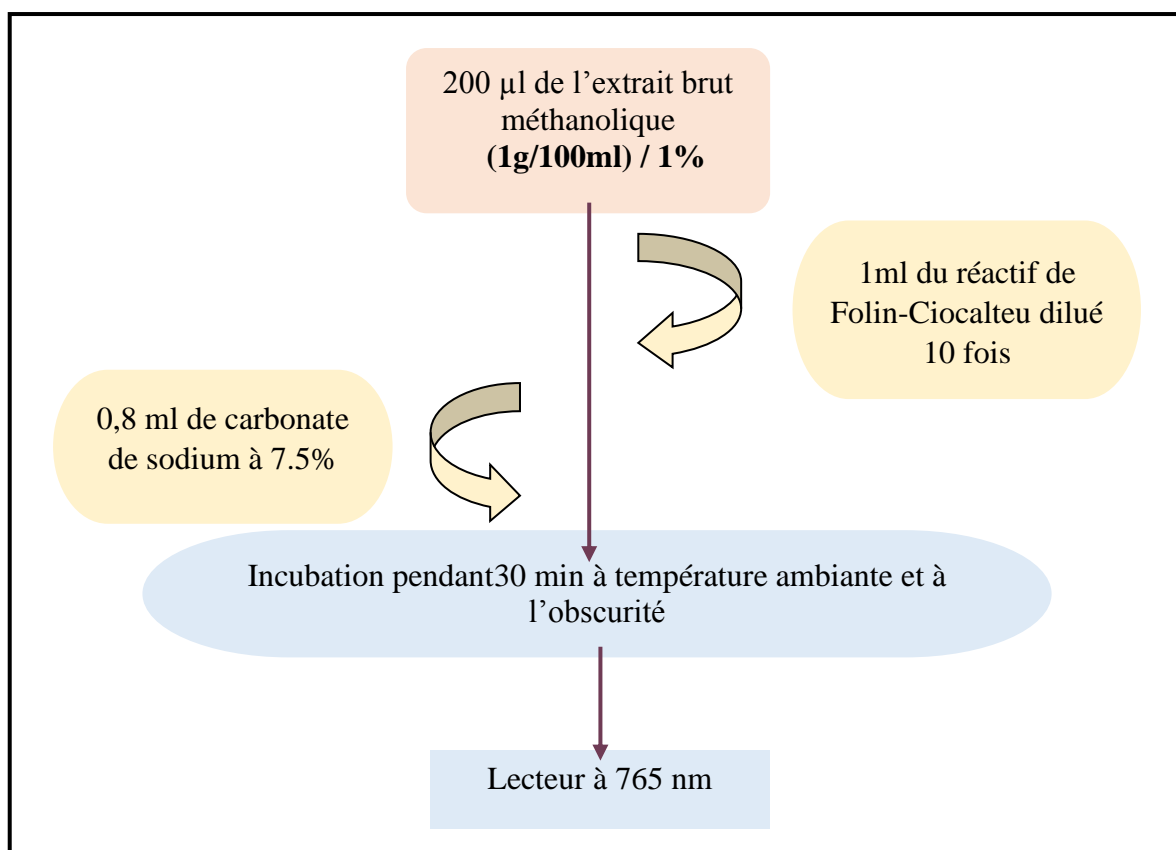


Figure 14 : Protocole de dosage des polyphénols totaux

2.3.2.2 Dosage des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes dans notre extrait brut méthanolique des graines de fenugrec a été effectuée par une méthode adaptée par (**Zhishen et al., 1999**) avec le trichlorure d'aluminium et la soude. Le trichlorure d'aluminium (Al Cl_3) et la soude (Na OH) utilisés lors de cette expérience vont former des liaisons avec les groupements hydroxyles des flavonoïdes aboutissant à la génération d'une coloration jaune (Al Cl_3) et rose (Na OH). La solution de vient rosâtre enfin d'expérience et absorbe dans le visible à 510 nm.

▪ Mode opératoire

500 µl de l'extrait brut méthanolique des graines broyées convenablement dilués ont mélangés avec 1500 µl d'eau distillée, suivis de 150 µl de nitrite de sodium (Na NO_2) à 5%. Après 5 min, 150 µl de trichlorure d'aluminium (Al Cl_3) à 10% (m/v) est rajouté au mélange. Après 6 min d'incubation à la température ambiante et à l'abri de la lumière, 500 µl d'hydroxyde de sodium (Na OH) à 4% est additionné. Immédiatement, le mélange est complètement agité afin d'homogénéiser le contenu.

L'absorbance de la solution de couleur rosâtre est déterminée à 510 nm contre un blanc.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant de la catéchine comme contrôle positif (**Figure 15**).

▪ **Expression des résultats**

La teneur (T) en flavonoïdes dans notre extrait, a été calculé à partir de l'équation de régression d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y = ax+b$), établie avec le standard étalon de catéchine.

Les résultats de la plante étudiée sont exprimés en milligramme (mg) équivalent de la catéchine par gramme d'extrait méthanolique (mg EC/g EM).

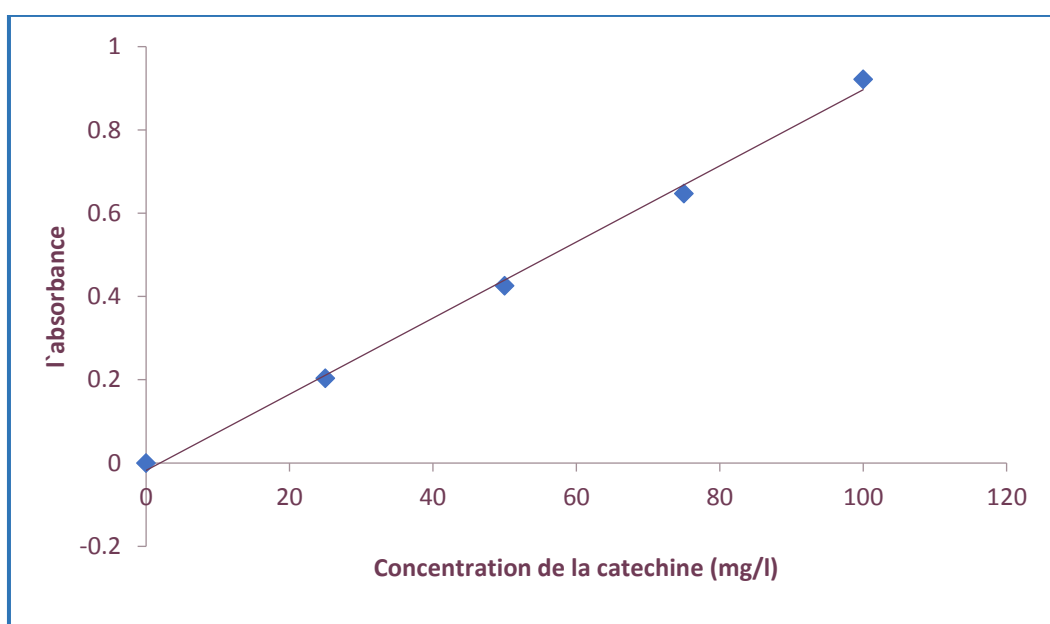


Figure 15 : Courbe d'étalonnage de la catéchine.

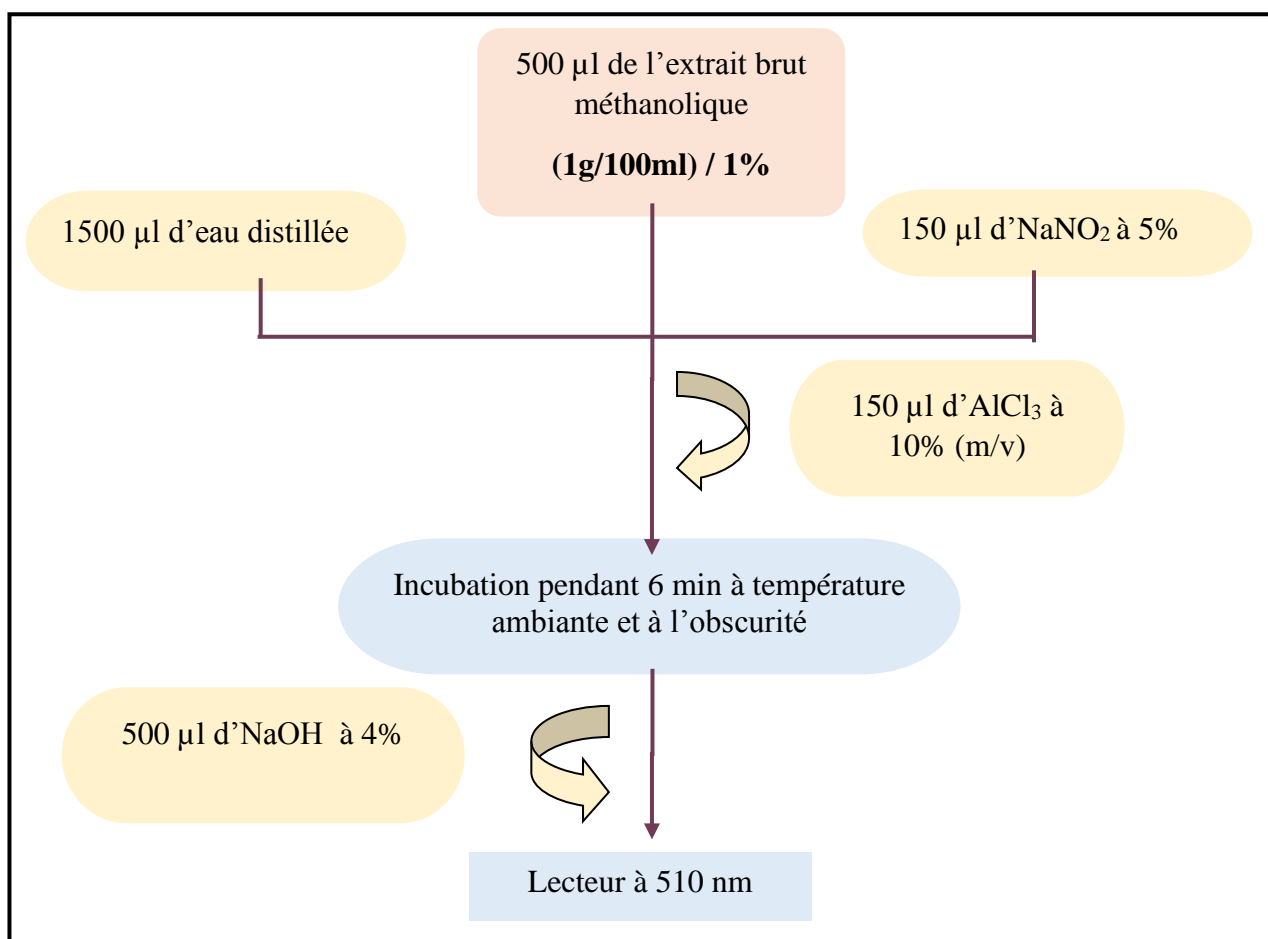


Figure 16 : Protocole de dosage des flavonoïdes.

2.3.2.3 Dosage des tanins condensés

Les tanins condensés sont déterminés par la méthode à la vanilline en milieu acide (**Price et al., 1978**). Cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés en présence d'acide pour produire un complexe coloré mesuré à 500 nm. La réactivité de la vanilline avec les tanins n'implique que la première unité du polymère. Les quantités des tanins condensés dans notre extrait brut méthanolique de graines de fenugrec sont estimées en utilisant la méthode de vanilline décrite par (**Julkunen -Titto, 1985**).

▪ Mode opératoire

Un volume de 50 µl de l'extrait brut méthanolique est ajouté à 1500 µl de la solution vanilline / méthanol (4%, m/v) puis mélangé à l'aide d'un vortex. Ensuite, 750 µl de l'acide chlorhydrique concentré (HCl) est additionné. Le mélange obtenu est laissé réagir à la température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 20 min.

L'absorbance est mesurée à 550 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant de la catéchine comme contrôle positif (**Figure 17**).

▪ **Expression des résultats**

La teneur (T) en tanins condensés dans notre extrait, a été calculé à partir de l'équation de régression d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y = ax+b$), établie avec le standard étalon de catéchine.

Les résultats de la plante étudiée sont exprimés en milligramme (mg) équivalent de la catéchine par gramme d'extrait méthanolique (mg EC / g EM).

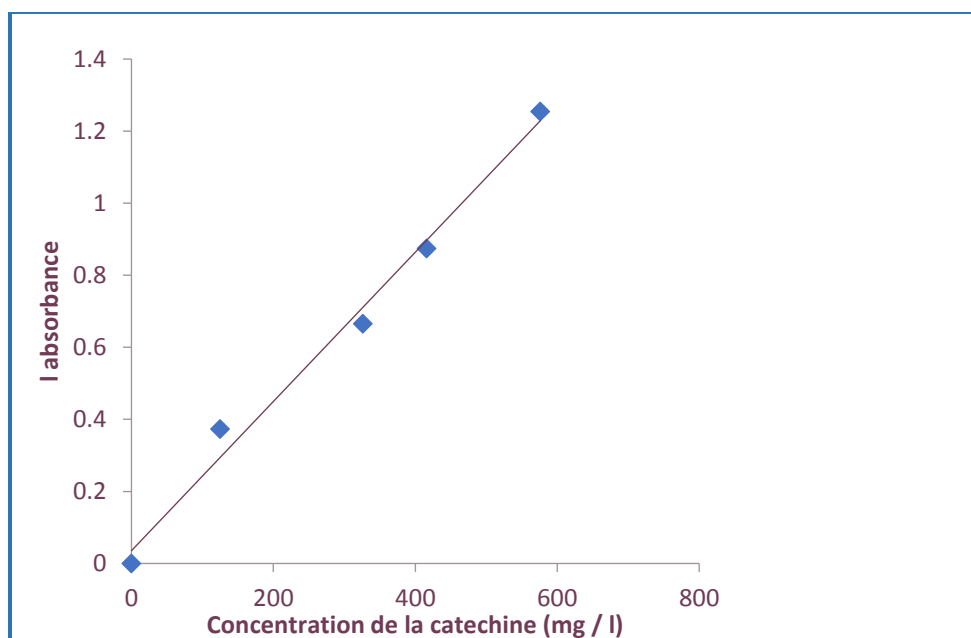


Figure 17 : Courbe d'étalonnage de la catéchine.

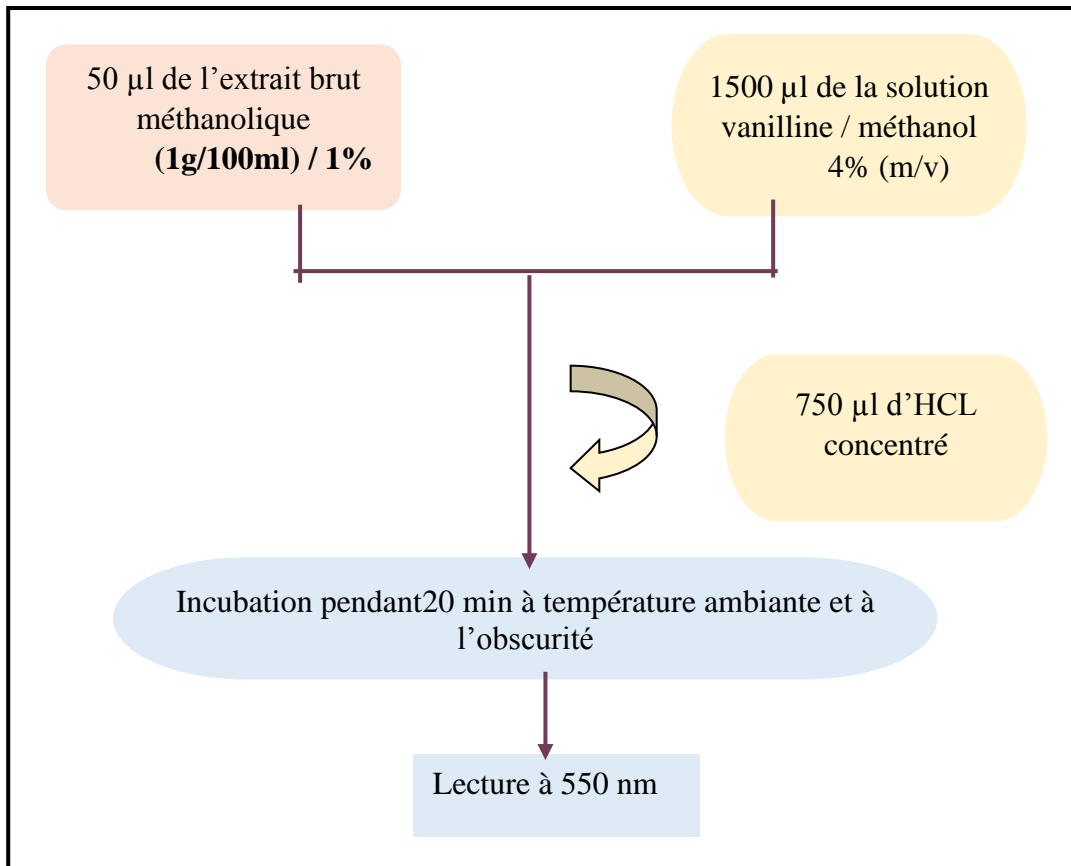


Figure 18 : Protocole de dosage des tanins condensés.

2.4 Analyse microbiologiques

2.4.1 Préparation des dilutions

❖ Mode opératoire

Préparation de la suspension mère :

Se fait d'abord par une pesée de 10 g de la poudre d'échantillon et qu'on rajoute ensuite 100 ml de TSE.

Ensuite, On laisse sédimenter dans l'étuve pendant 20 min à 37°C. On obtient une suspension mère 1\10 (**Figure 19**).



Figure 19 : Flacons des solutions mères (Photo originale, 2022)

La Préparation des dilutions décimal se fait à partir de la solution mère, un millilitre de la suspension mère est prélevé avec une pipette pasteur, et transverse dans un tube contenant 9 ml de diluant TSE afin de réaliser une dilution au 1/100. L'opération est renouvelée en changeant de pipette et en versant de nouveau 1 ml dans un nouveau tube de TSE. Les tubes sont bien homogénéisés entre chaque dilution (Figure 20).

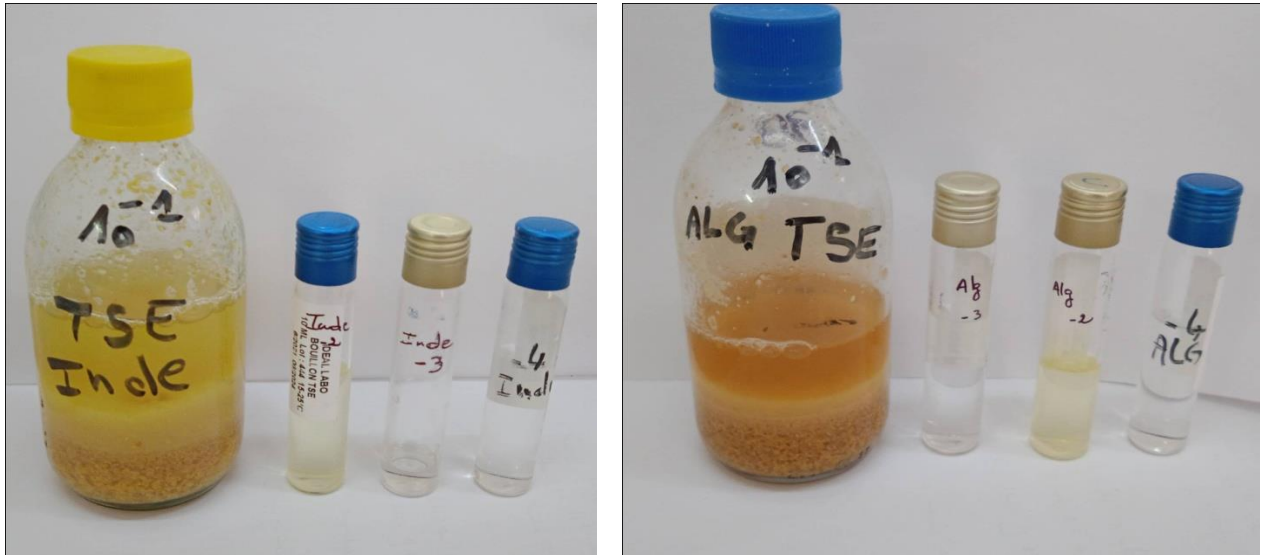


Figure 20 : Flacon de solution mère et les tube des dilutions décimales (Photos originale, 2022)

D'autre part les boîtes de pétri sont annotées et doivent contenir sur les tranches :

- La date ;
- La dilution utilisée ;
- La température d'incubation ;

- La durée d'incubation.

2.4.2 Recherche des *Staphylococcus aureus*

❖ Principe

La bactérie appartient à la famille des *Micrococcaceae*. Les *staphylocoques* présentent une forme arrondie (coccus) et sont mis en évidence par la coloration gram (+) (Cocci en grappe de raisin), non sporulés.

Cette méthode de recherche utilise un milieu sélectif ; Giolitti-Cantoni. C'est un bouillon d'enrichissement anaérobie pour *Staphylococcus aureus*.

❖ Mode opératoire

Ensemencer le milieu dès qu'il est assez refroidi après autoclavage. Si le milieu n'est pas utilisé tout de suite après sa préparation, le régénérer par immersion dans un bain de vapeur pendant 20 minutes.

Ensemencement de 1 ml d'une série de dilutions décimales, dans 19 ml de bouillon de Giolitti-Cantoni.

2 tubes utilisés pour chaque dilution. Ce ci augmente les chances d'isolement de *Staphylococcus aureus* quand il est en petit nombre dans l'échantillon. Le milieu est recouvert avec 2 cm de paraffine fondue stérile (chauffée à 42 – 44°C).

❖ Incubation

Incubé à 37°C pendant 48 heures, puis examiné quotidiennement.

❖ Lecture

En absence de *Staphylococcus aureus*, on n'observe pas de noircissement du milieu. Si un noircissement apparaît au fond des tubes ou dans tout le milieu, ensemencer le bouillon par stries sur un milieu d'isolement pour *staphylocoques*, comme le milieu de baird parke, et incubé 24 à 48 heures à 37°C.

Un résultat positif donne des colonies noires avec une étroite bordure blanche, et entourées d'un halo clair.

2.4.3 Recherche des *Bacillus cereus*

❖ Principe

Bacillus cereus est une bactérie sporulant, pouvant être rencontrée dans de très nombreux environnements, en particulier à toutes les étapes de la chaîne alimentaire.

La présence des bactéries dans les aliments est également due à leur capacité à se multiplier à basse température (4 ou 10°C, selon les souches).

Dans cette méthode l'ensemencement se fait en surface sur milieu solide gélose d'amidon.

❖ Mode opératoire

Avant d'ensemencer les milieux, on effectue des dilutions en cascades de la solution 10^{-1} à la solution 10^{-3} .

Ensuite à l'aide d'une micropipette on fait l'étalement de chaque dilution sur des boîtes pétri coulé préalablement avec le milieu amidon.

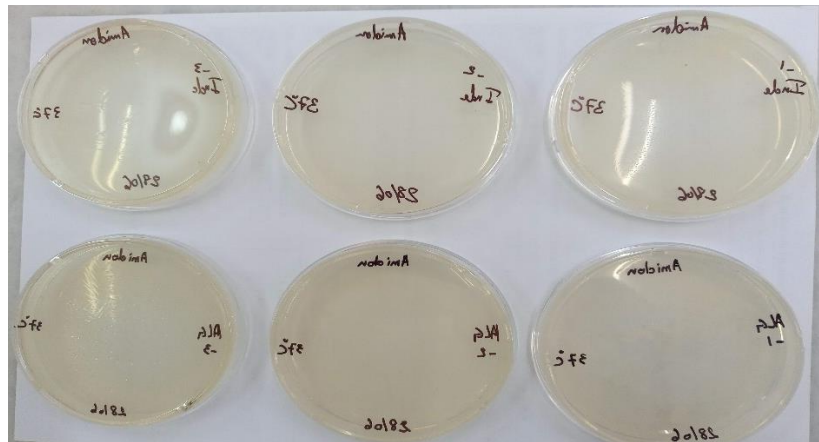


Figure 21 : Boîtes de pétri coulé et ensemencé (Photo originale, 2022)

❖ Incubation

Les boîtes pétries seront incubées à 37°C pendant 24 h.

❖ Lecture

En cas de présence on observe des colonies vert pigmentées.

2.4.4 Recherche des coliformes thermos tolérants : *Escherichia coli*

❖ Principe

La recherche se fait en milieu solide par un ensemencement en masse sur gélose VRBL.

❖ Mode opératoire

A partir des dilutions décimales de $1/10$ et $1/100$, porter aseptiquement 1ml dans deux boîtes de pétri vide préparées à cet usage et numérotées. Complétez ensuite chaque boîte à défaut par la gélose VRBL.

Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de 8 pour permettre à l'inoculum de se bien mélanger à la gélose utilisée.

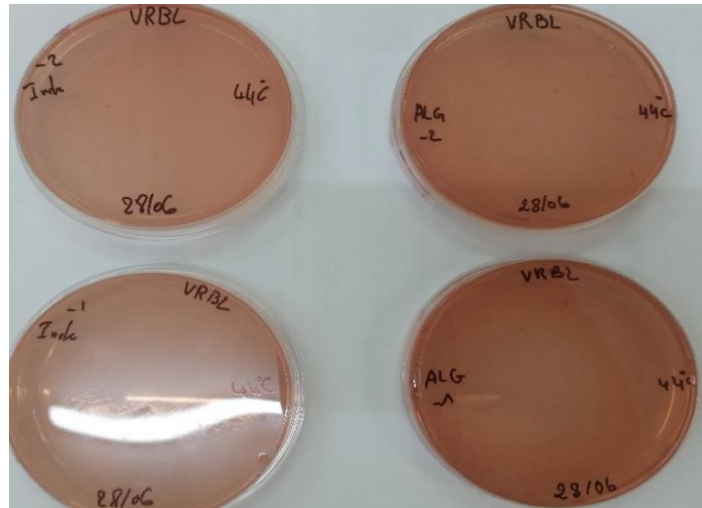


Figure 22 : Boite de pétri ensemencé (Photo originale, 2022)

❖ **Incubation**

Les boites seront incubées à 44°C pendant 24h à 48h.

❖ **Lecture**

En cas de présence on observe des colonies rouge brillant.

2.4.5 Recherche des *Salmonella*

❖ **Principe**

Les salmonelles sont des bactéries entériques en forme de bâtonnets, anaérobies facultatifs, à Gram négatif, mobiles pour la plupart avec des flagelles péritriches

Un enrichissement se fait sur milieu SFB I.

❖ **Mode opératoire**

Dans un tube contenant 10 ml de milieu d'enrichissement SFB I on ajoute 1 ml de solution mère.



Figure 23 : Un tube d'enrichissement pour chaque variété (Photo originale, 2022)

❖ Incubation

Les tubes sont incubés pendant 24 h à 37°C.

❖ Isolement sur gélose sélective

Après 24 h, on fait un ensemencement en stries, on utilise comme milieu la gélose hektoen.



Figure 24 : Gélose Hektoen (Photo originale, 2022)

2.4.6 Recherche des clostridium sulfito-réducteur**❖ Principe**

La recherche se fait à 46°C en milieu solide, qui va permettre d'évaluer le nombre d'UFC (Unité Formant Colonie). Suivant la méthode générale.

Ces microorganismes réduisent le sulfite de sodium en sulfure, provoquant avec le citrate ferrique un précipité noir de sulfure de fer autour des colonies. Le milieu contient de l'amidon qui favorise la germination des spores. Le chauffage de l'inoculum détruit la forme végétative, tandis que la forme sporulée est conservée. Le refroidissement rapide de l'inoculum évite la prolifération des formes végétatives et favorise la germination des spores. Le choc thermique permet ainsi de visualiser les colonies et de les dénombrer.

❖ Mode opératoire

Au moment de l'emploi faire fendre un flacon de gélose viande foie, le refroidir dans un bain d'eau à 45°C puis ajouter une ampoule d'alun de Fer et une ampoule de sulfite de sodium. Mélanger soigneusement et aseptiquement.

Le milieu est ainsi prêt à l'emploi, mais il faut le maintenir dans une étuve à 45°C jusqu'au moment de l'utilisation.

❖ **Insemencement**

Transférer 5 ml de l'inoculum (dilutions décimales ; 10^{-1} et 10^{-2}) dans des tubes stériles, en évitant au maximum d'incorporer de l'air.

Les tubes seront soumis d'abord à un chauffage à 80°C pendant 8 à 10 min. puis à un refroidissement immédiat sous l'eau de robinet, dans le but d'éliminer les formes végétatives et de garder uniquement les formes sporulées.

A partir de ces dilutions porter aseptiquement 1 ml de chaque dilution en double dans deux tubes à vis stériles, puis ajouter environ 15 ml de gélose VF prête à l'emploi. Laisser solidifier sur paillasse pendant 30 min.

❖ **Incubation**

Ces tubes seront ainsi incubés à 37°C pendant 16 à 24 h ou plus tard 48 heures.



Figure 25 : Les tubes incubés dans l'étuve (Photo originale, 2022)

❖ **Lecture**

La première lecture doit se faire impérativement à 16 heures. Dans le cas où il n'y a pas de colonies effectuer une deuxième lecture au bout de 24 heures voire 48 heures.

On dénombre la totalité des bactéries pour détecter une éventuelle contamination. On appréciera quantitativement le développement des germes en milieu solide (gélose viande foie) seulement les colonies entourées d'un halo noir qui poussent en profondeur. La taille de la colonie doit être assez grande de 5 mm de diamètre. Les colonies ayant poussé à 1 cm de la surface du tube sont éliminées.

2.4.7 Recherche des levures et moisissures

❖ Principe

Les levures et moisissures se sont des champignons.

- Levures : sont des micro-organismes chez lesquels la forme unicellulaire est prédominante. La forme la plus fréquente est ovulaire ou sphérique.
- Moisissures : sont des micro-organismes filamenteux qui sont disséminés par l'émission de spores.

Cette méthode permet de rechercher et de dénombrer ces microorganismes dans un milieu contenant des éléments nutritifs nécessaires à la croissance de la plupart des levures et des moisissures et des antibiotiques qui inhibent le développement de la plupart des bactéries.

❖ Mode opératoire

A partir des dilutions décimales qui peuvent arriver à 10^{-4} , on fait l'étalement de 1 ml sur boîtes de pétri préalablement coulé avec gélose OGA.

❖ Incubation

Incubation des boîtes de pétri dans l'étuve à une température de 25°C pendant 24 heures (Figure 26).



Figure 26 : Incubation dans l'étuve (Photo originale, 2022)

❖ Lecture

Aspect macroscopique des colonies :

- Colonies de levures : cellules ovoïdes ou rondes.

- Moisissures : cellules présentent des filaments mycéliens.

Dans les cas douteux, procéder à un examen microscopique des « colonies ».

2.5 Étude des activités biologiques

2.5.1 Étude de l'activité antioxydant

Pour étudier l'activité antioxydant (anti radicalaire) de nos extraits, nous avons choisi la méthode qui utilise le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) comme un radical libre relativement stable.

❖ Principe

Le DPPH est un radical libre stable violet en solution. Il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm. Sa couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphenyle picryl-hydrazine (jaune) par un composé à propriété antiradicalaire, entraînant ainsi une décoloration (**Figure 27**). L'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (**Sanchez-Moreno, 2002**).

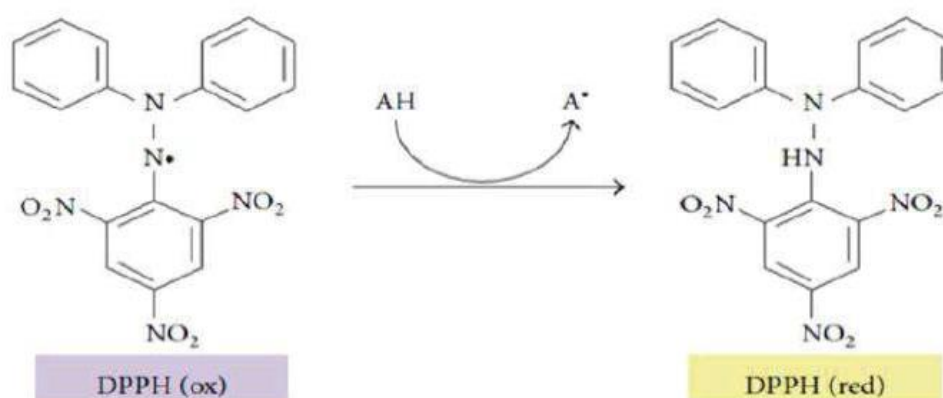


Figure 27 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH (**Teixeira et al., 2013**)

❖ Mode opératoire

Pour réaliser l'analyse, 2,9 ml de la solution méthanolique de DPPH (0,025 g/l) est ajouté à 100 µl de la solution de chaque extrait à différentes concentrations (0,6 ; 0,8 ; 0,9 et 1 µg / ml). Le mélange est vigoureusement agité, puis les tubes sont incubés à température ambiante et à l'obscurité pendant 30 minutes. La longueur d'onde d'absorption maximale a été préalablement déterminée. Toutes les lectures sont effectuées à 515 nm.

Les échantillons, les antioxydants de référence (l'acide ascorbique et l'acide gallique) et le témoin sont préparés dans les mêmes conditions opératoires.

Le protocole d'évaluation de l'activité antioxydant est illustré par **la figure (28)**.

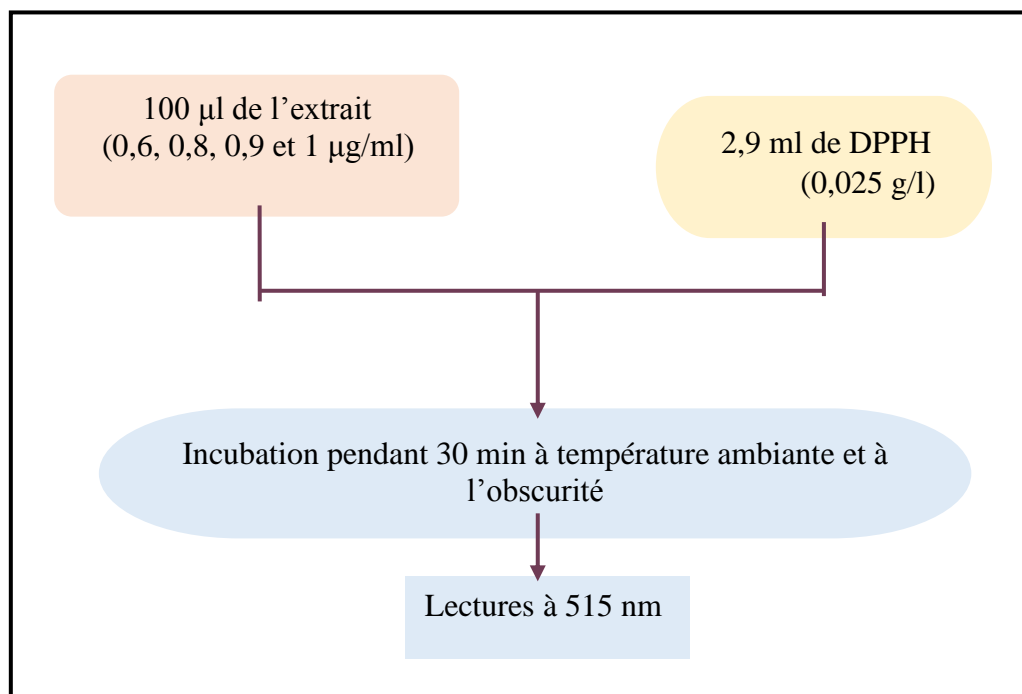


Figure 28 : Protocole d'étude de l'activité antioxydant.

❖ **Expression des résultats :**

▪ **Calcul des pourcentages d'inhibitions**

L'activité antioxydant de l'extrait est exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH par la formule suivante :

$$I \% = [(Abs_{(c)} - Abs_{(t)}) / Abs_{(c)}] \times 100 \quad (Eq2)$$

Considérons :

I% : pourcentage d'inhibition

Abs_(c) : absorbance du contrôle à 515 nm ;

Abs_(t) : absorbance du test effectué à 515 nm.

▪ **Détermination de la concentration inhibitrice médiane (IC₅₀)**

L'IC₅₀ est définie comme étant la quantité ou la concentration d'antioxydants (extrait ou toute autre substance antioxydant) nécessaire pour inhiber ou faire disparaître 50% des radicaux.

Les IC₅₀ sont calculées graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations des extraits testés. Pour chaque extrait ou antioxydant de référence, une courbe de régression linéaire ($Y = ax + b$) est établie afin de calculer l'IC₅₀ qui permettra la caractérisation du pouvoir antioxydant des extraits. Une faible valeur de l'IC₅₀ indique une forte activité antioxydant (**Molyneux, 2004**).

2.5.2 Étude de l'activité antimicrobienne

L'objectif souhaité de cette étude est de mettre en évidence une éventuelle activité antimicrobienne de l'extrait aqueux et l'extrait brut méthanolique des graines de deux variétés (Algérienne et Indienne) de *trigonelle foenum-graecum L.*

La méthode utilisée est la diffusion sur gélose à partir d'un disque solide. Qui est la même que celle adoptée pour tester les antibiotiques (antibiogramme) en remplaçant l'antibiotique par les extraits de notre plante.

Au Total, on a testé quatre souches bactériennes référenciées ATCC (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*), une souche levuriforme (*Candida albicans*) et une souche mycélienne (*Aspergillus Brasiliensis*) (**Tableau 2**).

❖ Principe

Le principe de cette méthode repose sur la diffusion du composé antimicrobien (produits à tester) en milieu solide. L'effet du produit antimicrobien sur les microorganismes est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition, la souche microbienne sera qualifiée d'être sensible ou résistance au produit testé (**Ozkan et al., 2003**).

❖ Mode opératoire

a) Préparation de milieux de cultures

Deux milieux de cultures ont utilisé :

- **Gélose Muller Hilton** : c'est un milieu général, favorise la croissance de tous les germes, il est utilisé pour mettre en évidence l'effet antibactérien des extraits de notre plante.
- **Gélose Sabouraud** : c'est un milieu spécifique pour la culture des souches fongiques.

Suivant les instructions de préparation, étiqueter sur la boîte des milieux.

Pour le milieu MH : On incorpore 25 g, poudre de la gélose MH sur 660 ml d'eau distillée.

Pour le milieu Sabouraud : on incorpore 22 g, poudre de la gélose Sabouraud sur 340 ml d'eau distillée.

Ensuite, sur un agitateur a chauffage, on attend le bouillon jusqu'à ébullition assurant que la poudre est bien dissoute.

L'étape suivante consiste à la stérilisation des milieux dans l'autoclave.

Afin d'éviter toute contamination, et sous une hotte à flux laminaire stérile on a fait couler aseptiquement 15ml de la gélose, dans des boîtes Pétri à 90 mm de diamètre. (Photo en **Annexe 2**).

b) Préparation des suspensions microbiennes

Pour préparer une suspension microbienne, nous avons utilisé des cultures jeunes de 18 à 24 heures pour les souches bactériennes et de 3 à 5 jours pour les souches fongiques.

La réactivation des souches est faite par prélèvement, à l'aide d'une anse de platine stérile, de la souche mère. La culture de ces souches s'effectue sur des milieux spécifiques pour chacune des souches. Les cultures sont incubées à 37°C pendant 24 h pour les souches bactériennes, à 25°C pendant 48 h pour les levures et à 25°C pendant 3 à 5 jours pour les souches fongiques. 3 à 4 colonies identiques et bien isolées pour les souches bactériennes (environ 10^6 germes / ml), les champignons et la levure prélevées à l'aide d'une pipette Pasteur stérile et déposés dans des tubes avec des solutions physiologiques (10 ml) stériles. La suspension est agitée pour homogénéiser.

c) Préparation des extraits

• La préparation de l'infusé à 30%

L'infusé est préparé, en versant 100 ml d'eau distillée bouillie sur 30 g de poudre végétale puis on laisse agiter. Après 30 min d'infusion, la solution est filtrée avec un papier filtre Whatman n°1 et ajusté avec l'eau distillé jusqu'à 100 ml.

• La préparation de l'extrait méthanolique

Dans des tubes eppendorf on a préparé un mélange contenant 100 mg de l'extrait méthanolique brute avec 1 ml Diméthyle Sulfoxide (DMSO) laissée incubée à 50°C dans l'étuve pendant 30min (**Figure 29**).



Figure 29 : Solution DMSO-Extrait brute méthanolique (**Photo originale, 2022**)

d) Ensemencement

A l'aide d'un écouvillon, les suspensions microbiennes sontensemencées (ensemencement en surface) sur des boites contenant la Gélose MH pour les suspensions bactériennes et sur des boites contenant la Gélose de Sab pour les suspensions fongiques.

e) Dépôt des disques

Des disques en papier absorbant stérile de 9 mm de diamètre sont trempés (imbibé) dans les solutions à tester (l'extrait aqueux et l'extrait brut méthanolique des graines de deux variétés (Algérienne et Indienne) jusqu'à saturation totale à l'aide d'une pince stérile.

Cinq (5) disques sont déposées sur la surface d'une boiteensemencée, laissé les différentes boites étiquetées sur paillasse pendant 30 minutes pour permettre la diffusion des molécules actives puis mises à incuber à 37°C, pendant 24 heures, pour les bactéries et à 25°C, pendant 48 heures, pour les levures.

❖ Expression des résultats

L'activité antibactérienne est déterminée en mesurant à l'aide d'une règle le diamètre de la zone d'inhibition, déterminé par les différents extraits testés autour des disques.

Selon (**Chifundera et al., 1990**), les résultats sont exprimés comme suivant :

- Extrait non inhibiteur : le diamètre de la zone d'inhibition est ≤ 10 mm.
- Extrait faiblement inhibiteur la croissance des souches bactériennes : le diamètre

de la zone d'inhibition est compris entre 10 et 16 mm.

- Extrait moyennement inhibiteur la croissance des souches bactériennes : le diamètre de la zone d'inhibition est compris entre 16 et 28 mm.
- Extrait fortement inhibiteur la croissance des souches bactériennes : le diamètre de la zone d'inhibition est ≥ 28 mm.

CHAPITRE 02
RÉSULTATS ET
DISCUSSION

1. Résultats

1.1 Extraction et détermination du rendement d'extraction

L'extrait bruts méthanoliques résultant de la macération, des deux variétés de graines de fenugrec ; chaque une à part, présentent une variabilité d'aspects, de couleurs et de rendements.

Le tableau 3 Résume les caractéristiques de chacun de ces extraits.

Tableau 3 : Caractéristiques des extraits bruts méthanoliques des graines de deux variétés (Algérienne et Indienne) de fenugrec.

Caractéristiques Extraits	Aspect	Couleur	Solubilité	Rendement %
Extrait de graines Algérienne	Collant	Jaune orange Foncé	Méthanol	6.928 % \approx 7 %
Extrait de graines Indienne	Collant	Jaune orange Claire	Méthanol	2.588 % \approx 3 %

D'après les résultats du tableau ci-dessus, nous avons remarqué que les deux extraits récupérés sont d'aspect collant d'une couleur jaune orange. Ainsi que, ces extraits sont totalement solubles dans le méthanol.

Les résultats obtenus montrent que le rendement de l'extrait brut méthanolique des graines algériennes supérieur (7%) au rendement de l'extrait brut méthanolique des graines Indienne (3%).

1.2 Résultats de l'étude phytochimique

1.2.1 Résultats de l'analyse qualitative

Les tests phytochimiques réalisés sur l'extrait aqueux et la poudre des graines de deux variétés (Algérienne et Indienne) de fenugrec ; révèlent la présence de plusieurs familles de composés dont les résultats sont présents dans le (**tableau 4**).

Tableau 4 : Résultats des tests préliminaires des composés sur l'extrait aqueux et la poudre des graines de deux variétés (Algérienne et Indienne) de fenugrec.

Composés	Résultats des graines Algérienne	Résultat des graines Indienne
Mucilages	+	+
Tanins totaux	+	+
Tanins catéchétiques	+	+
Tanins galliques	-	-
Quinones libre	-	+
Quinones combinés	-	-
Glucosides	+	+
Saponosides	+	+
Coumarines	+	+
Alcaloïdes	+	+
Anthocyanes	+	+

Les résultats sont interprétés comme suit : (-) Réaction négative (absence), (+) Réaction positive (présence).

Selon les résultats obtenus, nous avons remarqué la présence des mucilages, tanins (totaux et catéchétiques), glucosides, saponosides, coumarines, alcaloïdes et anthocyanes dans l'extrait aqueux et la poudre des graines de deux variétés (Algérienne et Indienne). Alors que les tanins galliques et les quinones combinés sont indétectables. En plus, les quinones libres révèlent un test positif dans la poudre des graines Indienne seulement (**Annexe 3**).

1.2.2 Résultats de l'analyse quantitative

Dans ce présent travail, afin de déterminer les teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés au sein des graines des deux variétés de fenugrec (Algérienne et Indienne), une étude quantitative des extraits méthanoliques a été entreprise par la méthode de spectrophotomètre UV-Visible (Benhamou *et al.*, 2009), le dosage des phénols totaux est réalisé selon le principe de réduction de réactif de folin-ciocalteu, le dosage des flavonoïdes totaux est effectué selon la méthode de réduction de $AlCl_3$ et le dosage de tanins condensés est exprimé la méthode de vanilline dans les conditions acides.

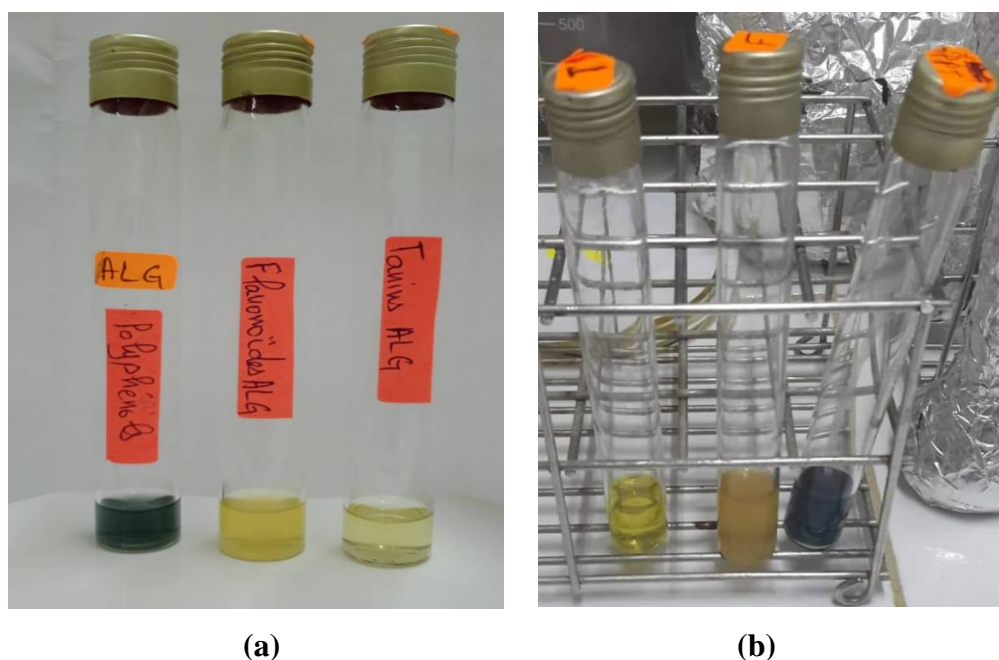


Figure 30 : Préparation des extraits méthanoliques prêt pour le dosage
(Photos originale, 2022)

1.2.2.1 Résultat dosage des polyphénols totaux

Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait brut (GAE / g), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique (Voir Figure 13 matériel et méthodes).

La teneur en polyphénols totaux des extraits méthanoliques des deux échantillons est variable (Tableau 5). La teneur la plus élevée est constatée dans les graines Algérienne avec une valeur de 123,13 mg GAE / g Ext en outre les graines Indienne marquer une valeur de 77,8 mg GAE / g Ext.

Tableau 5 : Teneur des phénols totaux des extraits méthanoliques des deux échantillons

Les variétés de Fenugrec	Polyphénols totaux (mg GAE/g Ext.B)
Algérienne	123,131
Indienne	77,8

1.2.2.2 Résultat dosage des flavonoïdes

La quantification de flavonoïdes a été effectuée en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire réalisé par une solution étalon de catéchine à différentes concentrations, d'où on a calculé la teneur en flavonoïdes des différents échantillons qui est exprimé en mg équivalent de catéchine par gramme d'extrait (mg EC / g) (**Voir Figure 15 matériel et méthodes**).

Pour le dosage des flavonoïdes, nous avons constaté des teneurs variables dans nos extraits. Les graines Indienne présenter une valeur de 81,68mg EC / g Ext plus élevé que l'Algérienne avec une valeur de 70,98 mg EC / g Ext.

Tableau 6 : Teneur des flavonoïdes des extraits méthanoliques des deux échantillons.

Les variétés de Fenugrec	Flavonoïdes (mg EC / g Ext.B)
Algérienne	70,89
Indienne	81,68

1.2.2.3 Résultat dosage des tanins condensés

La quantification des tanins condensés a été effectuée par la méthode de la vanilline. Les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalent de la catéchine par gramme d'extrait (mg EC / g) (**Voir Figure 17 matériel et méthodes**).

En ce qui concerne les teneurs en tanins condensés, la variété Indienne a présente une valeur de 17,5 mg EC / g, supérieure aux graines Algérienne avec une teneur de 11,42 mg EC / g.

Tableau 7 : Teneur des tanins condensés extraits méthanoliques des deux échantillons.

Les variétés de Fenugrec	Tanins condensés (mg EC / g Ext.B)
Algérienne	11,42
Indienne	17,5

La quantité en polyphénols totaux, en Flavonoïdes et en tanins est variable entre les deux variétés des graines *Trigonella foenum-graecum* L (**Figure 31**).

Nos résultats montrent que les teneurs les plus élevées en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins sont présentées par la variété Algérienne par rapport la variété Indienne.

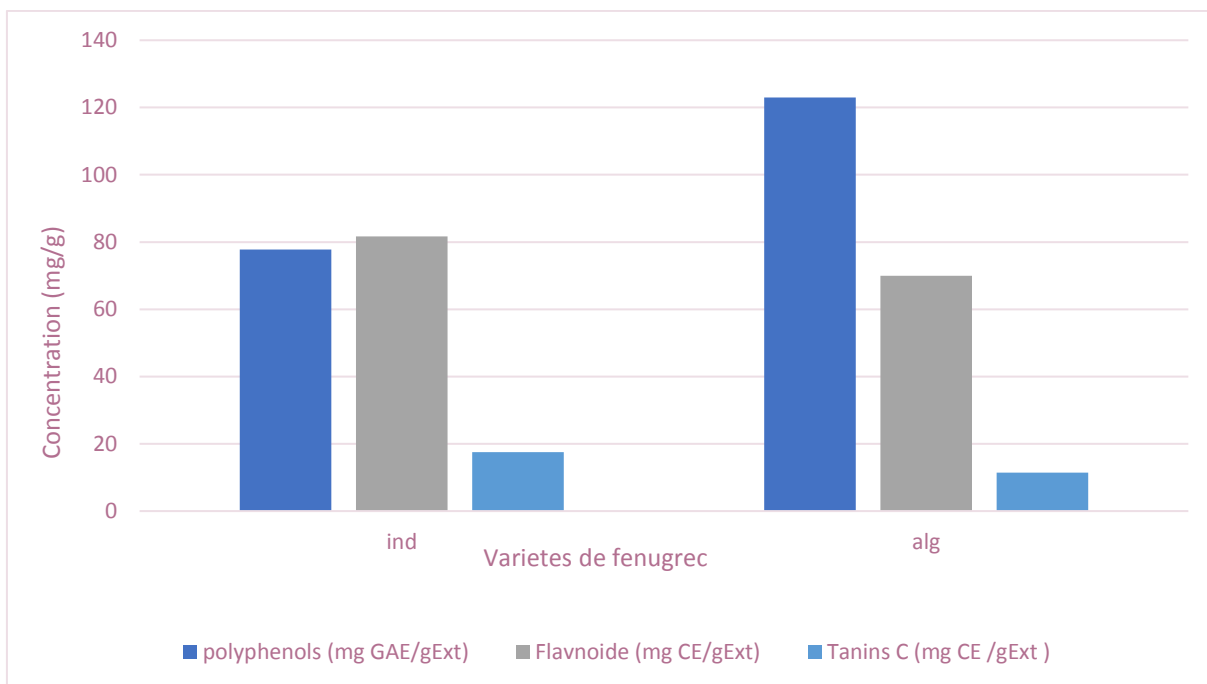


Figure 31 : Teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés des extraits méthanoliques des graines de deux variétés de *Trigonella foenum-graecum* L.

1.2.2.4. Résultats des analyses microbiologiques

Les résultats des analyses microbiologique sont indiqué dans (**le tableau 8**) et (**Photos en Annexe 4**).

Tableau 8 : Résultats des analyses microbiologique des graines de fenugrec.

	Variété Algérienne	Variété Indienne
<i>Staphylococcus aureus</i>	ABS	ABS
<i>Bacillus cereus</i>	ABS	ABS
<i>Escherichia coli</i>	ABS	ABS
<i>Salmonella</i>	ABS	ABS
Clostridium sulfite réducteur	ABS	ABS
Levures et moisissures	ABS	ABS

Le tableau montre une absence totale des germes ainsi des levures et moisissures.

Selon (JORA, 2017), la poudre de fenugrec testé dans les deux variétés et de bonne qualité microbiologique

1.3 Résultats des études des activités biologiques

1.4.1 Résultat de l'étude de l'activité antioxydant

Après l'étude phytochimique des graines de *Trigonella foenum-graecum* L. et dans le cadre de leur valorisation, nous avons déterminé aussi, au cours de cette étude, le pouvoir antioxydant vis-à-vis le radical DPPH de leurs extraits.

Il s'agit, de ce fait, de connaître la capacité antioxydante des extraits méthanoliques des graines des deux variétés du *Trigonella foenum-graecum* L.

Ce pouvoir a été déterminé par spectrophotométrie en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne d'un passage de couleur violette à la couleur jaune à 515 nm (Figure 32).

Les résultats de cette étude sont représentés dans (Le tableau 9) et illustrés dans (la figure 33).

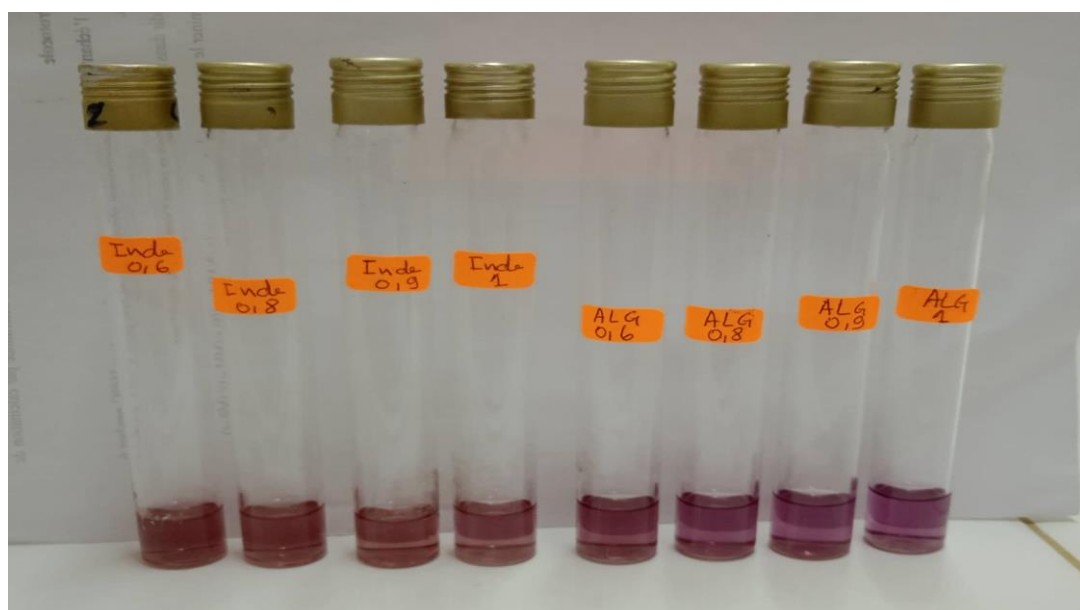


Figure 32 : Les différentes concentrations des extraits méthanoliques
(Photo originale, 2022)

Tableau 9 : Les résultats de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques des graines des deux variétés du *Trigonella foenum-graecum* L

Variétés de fenugrec	DPPH IC50
Algérienne	0,9
Indienne	1,25

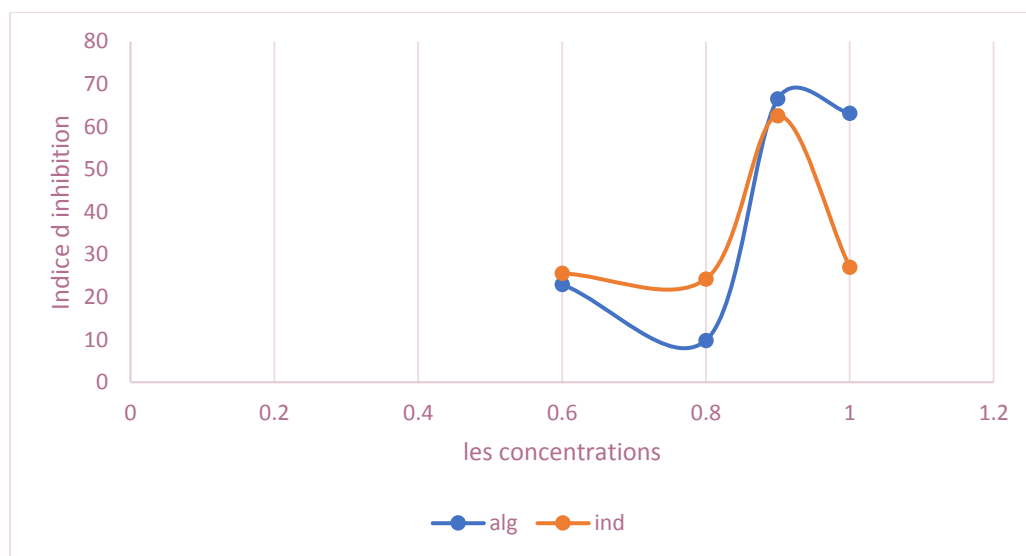


Figure 33: L'activité de piégeage de DPPH par les extraits méthanoliques des graines de deux variétés de *Trigonella foenum-graecum* L.

Selon les résultats, les extraits des graines de *Trigonella foenum-graecum* L montrent une inhibition de l'activité antioxydante.

Les résultats sont exprimés dans un premier temps en pourcentage d'inhibition et ensuite par les IC50 (la quantité d'échantillon nécessaire pour diminuer l'activité antioxydante de 50%).

Le pourcentage d'inhibition varie d'un extrait à un autre et en fonction de la concentration utilisée, il augmente de façon proportionnelle avec l'augmentation de la concentration des extraits.

Les résultats illustrés dans la (**figure 33**) montrent que l'extrait méthanolique des graines Algérienne présente un pouvoir plus élevé de piégeage des radicaux avec une valeur d'IC50 de l'ordre de 0,9 μ g/ml. Par contre la deuxième variété à présenter une valeur de IC 50 = 1,25 μ g/ml. Par ailleurs, nous avons constaté une forte corrélation positive ($R^2 = 0.5291$) pour la variété Algérienne, ($R^2 = 0,1041$) pour la variété Indienne entre les teneurs des phénols totaux,

la concentration de l'extrait méthanolique et l'activité antioxydante des extraits méthanoliques des graines étudiées.

1.4.2 Résultat de l'étude de l'activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux et l'extrait brut méthanolique des graines de deux variétés (Algérienne et Indienne) de fenugrec. A été évaluée par la méthode de diffusion en milieu gélosé, et la sensibilité des bactéries se mesure par rapport au diamètre d'inhibition observé. Les résultats obtenus sont regroupés dans le (**tableau 10**).

Les valeurs indiquées sont les moyennes de deux mesures.

Tableau 10 : Diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne des deux extraits des graines de deux variétés (Algérienne et Indienne) de fenugrec.

Les extraits Les souches microbiennes		Diamètres des zones d'inhibition (mm)				
		Témoin	Extrait méthanolique		Extrait aqueux	
			ALG	INDE	ALG	INDE
Bactéries	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538)	38	12	21	-	-
	<i>Bacillus cereus</i> (ATCC 6017)	40	-	-	-	-
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 9027)	28	-	-	-	-
	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 8737)	34	25	20	-	-
Levure	<i>Candida albicans</i> (ATCC 10231)	39	-	17	-	-
Moisissure	<i>Aspergillus brasiliensis</i> (ATCC 16404)	24	-	15	-	-

Les résultats sont interprétés comme suit : (-) pas de zone d'inhibition.

Selon (Chifundera et al., 1990) et d'après les résultats mentionnés dans le tableau, nous remarquons que l'infusé de la poudre végétale des graines de deux variétés (Algérienne et Indienne) n'inhibe pas la croissance de l'ensemble des souches microbiennes testées (≤ 10 mm), en effet, aucune zone d'inhibition n'a été observé.

Cependant l'extrait méthanolique de la poudre végétale des graines Indienne, a montré une activité inhibitrice moyenne sur la croissance de la souche *Staphylococcus aureus* ($16 \geq 21 \geq 28$) mm, la souche *Escherichia coli* ($16 \geq 20 \geq 28$) mm et la souche *Candida albicans* ($16 \geq 17 \geq 28$) mm ; aussi une faible activité inhibitrice sur la croissance de la souche *Aspergillus braziliensis* ($10 \geq 15 \geq 16$) mm.

En plus, l'extrait méthanolique de la poudre végétale des graines Algérienne, a montré une faible activité inhibitrice sur la croissance de la souche *Staphylococcus aureus* ($10 \geq 12 \geq 16$) mm et une activité inhibitrice moyenne sur la souche *Escherichia coli* ($16 \geq 25 \geq 28$) mm.

Alors que les souches *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* et *Aspergillus braziliensis* se sont révélées totalement résistantes vis-à-vis du l'extrait méthanolique de la poudre végétale des graines Algérienne.

Par contre, seulement les souches *Bacillus cereus* et *Pseudomonas aeruginosa* se sont révélées totalement résistantes vis-à-vis du l'extrait méthanolique de la poudre végétale des graines Indienne (**Photos en Annexe 5**).

2. Discussion

❖ Le rendement d'extraction

Les extraits bruts méthanoliques préparés à partir de nos deux échantillons ont donné des rendements d'ordre 7 % pour les graines Algériennes et 3% pour les graines Indiennes.

Ces résultats sont largement inférieurs par rapport celles de **Valliappan et al., (2015)**, qui ont noté un rendement de 29,19% dans un extrait hydroalcoolique préparé par macération, et aussi inférieurs à celle de **Mishra et al., (2016)**, qui ont donné un rendement de 9,2 % pour un extrait méthanolique préparé par Soxhlet. Cette différence est due probablement à la nature des solvants utilisés, mode d'extraction, la période et l'origine de la récolte.

❖ Étude phytochimique des extraits

L'étude phytochimique qualitative des extraits aqueux et la poudre des graines de deux variétés (Algérienne et Indienne) a révélé la présence d'un nombre important des groupements chimiques de nature variée : Les mucilages, tanins (totaux et catéchétiques), glucosides, saponosides, coumarines, alcaloïdes et anthocyanes. Par contre, les tanins galliques et les quinones combinés sont pratiquement absents. En plus les quinones libres révèlent un test positif dans la poudre des graines Indienne seulement.

Ces résultats sont en accord avec ceux de **Kumari et al., (2016)**, qui ont démontré la présence des tanins, des flavonoïdes, des alcaloïdes, des terpénoïdes, des saponines et des quinones. En plus, ils ont détecté la présence des anthraquinones et des sucres réducteurs et aussi des autres molécules bioactives telles que les glycosides et les stéroïdes.

Teuscher et al., (2005) ont signalé la présence des mucilages, d'alcaloïdes, de saponosides dans les graines du fenugrec. La présence des glucosides a été rapportée par **Viadya et al., (2012)**, alors que **Kokate et al., (2007)** ont mentionné la présence des coumarines.

L'étude réalisée par **Sumayya et al., (2012)**, a aussi détecté la présence des flavonoïdes, des alcaloïdes, des saponines, des quinones, des tanins et des terpénoïdes.

Par ailleurs, nos résultats concernant la présence des tanins concordent avec ceux mentionnés par **Thurzova et al., (1985)**.

Par contre, l'analyse phytochimique de **Yadav et al., (2011)** et **Mishra et al., (2016)**, sur l'extrait méthanolique des graines de fenugrec ne révèle que la présence des tanins, des flavonoïdes, des alcaloïdes et des terpénoïdes.

Nos résultats sont aussi conformes avec ceux obtenus par **Mawahib et al., (2015)** qui ont montré la présence des alcaloïdes, des saponosides et des tanins dans l'extrait méthanolique des graines du *Trigonella foenum-graecum* L.

Les différences observées dans la composition phytochimique entre les différentes études peuvent être expliquées par l'origine de la plante, l'état de maturation, le moment de la récolte et aussi la nature des composés recherchés par chaque étude.

L'étude phytochimique quantitative des extraits de deux variétés des graines de *Trigonella foenum-graecum* L montrent que la teneur en polyphénols totaux la plus élevée est constatée dans les graines Algérienne avec une valeur de 123,13 mg GAE / g Ext en outre les graines Indienne marquer une valeur de 77,8 mg GAE / g Ext. Pour la teneur en flavonoïdes, les graines Indienne présenter une valeur de 81,68 mg EC / g Ext plus élevé que l'Algérienne avec une valeur de 70,98 mg EC / g Ext. En ce qui concerne les teneurs en tanins condensés, la variété Indienne a présente une valeur de 17,5 mg EC / g, supérieure aux graines Algérienne avec une teneur de 11,42 mg EC / g.

Ces résultats sont en accord avec ceux de **Souri et al., (2008)**, ont indiqué des niveaux plus élevés de 194,63 mg / 100 g de poids sec dans l'extrait méthanolique. Nos résultats sont aussi conformes avec ceux obtenus par **Vadalia et al., (2010)**, ont rapporté 55 mg / g dans l'extrait méthanolique.

Les variations marquées dans la teneur totale en composés phénoliques peuvent résulter de la quantité initiale de matériel végétal traitée mais aussi de type du solvant (méthanol, éthanol, acétone) utilisé pour réaliser l'extraction.

❖ **Analyse microbiologique**

D'après les résultats des analyses microbiologiques effectuées sur la poudre des graines de deux variétés de fenugrec, nous remarquons une absence totale des souches. On peut donc conclure que les échantillons de fenugrec sont de qualité satisfaisante et présentent une bonne qualité microbiologique.

Selon le (JORA, 2017) le fenugrec doit être exempt des micro-organismes susceptibles de se développer dans le produit dans des conditions normales d'entreposage et ne doit contenir aucune substance provenant de micro-organismes quantités pouvant présenter un risque pour la santé.

❖ Étude de l'activité antioxydant

Les données de cette étude montrent une bonne corrélation entre les teneurs des phénols totaux et la concentration de l'extrait méthanoliques d'une part et l'activité antioxydante d'un autre part.

Ce résultat corrobore les résultats de **Leena et al., (2014)** qui montrent une forte corrélation positive entre la concentration des composés phénoliques et l'activité antioxydante des extraits de fenugrec.

Les antioxydants naturels font l'objet de beaucoup de recherches et représentent un nouvel aspect pour l'exploitation des métabolites secondaires en général et en particulier les polyphénols. En effet les extraits de *Trigonella foenum-graecum* présentent une activité puissante de piégeage du radical DPPH (**Priya et al., 2011**). L'activité élevée de piégeage des radicaux libres par les graines de fenugrec est due à la présence des polyphénols dans les extraits méthanoliques de la plante ; cela a été expliqué par **Anita et al., (2013)**.

Il est à noter que les extraits des graines de fenugrec riches en polyphénols permettent de réduire l'hémolyse oxydatif et la peroxydation des lipides dans les globules rouges humains normaux et diabétiques (**Dixit et al., 2005**).

❖ Étude de l'activité antimicrobienne

L'évaluation du potentiel antimicrobien des extraits de la plante a révélé que l'infusé ne présente aucun effet inhibiteur sur l'ensemble des souches testées. Par contre l'extrait méthanolique faiblement, moyennement ou bien non inhibiteur selon les souches testées.

Selon **Zaen Al-abdeen et al., (2010)**. Les extrais méthanoliques et aqueux de *Trigonella foenum-graecum* étaient très pauvres en agents antibactériens.

Notre résultat est conforme avec celui de **Mawahib et al., (2015)** qui ont prouvé que l'extrait méthanolique des graines du fenugrec (250 mg / ml) ne présente aucune inhibition sur les souches de *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Aspergillus braziliensis*.

Cependant, que l'extrait méthanolique de la poudre végétale des graines Algérienne présente un faible effet inhibiteur sur la croissance de la souche *Staphylococcus aureus* dont le diamètre atteint 12 mm aussi l'extrait méthanolique de la poudre végétale des graines Indienne présente un faible effet inhibiteur sur la croissance de la souche *Aspergillus brasiliensis* dont le diamètre atteint 15 mm.

Selon **Mende et al., (2012)** l'activité antibactérienne peut être attribuée à plusieurs facteurs tels que les facteurs inhérents (variété, conditions ambiantes, facteurs écologiques, variations saisonnières), les méthodes d'extraction, préparation de l'extrait, solvant utilisé, la sensibilité des bactéries et la méthode d'étude utilisée.

CONCLUSION

Conclusion

La connaissance et l'usage des plantes médicinales constituent un vrai patrimoine de l'être humain. Leur importance dans le domaine de la santé publique c'est accentuée dans ces dernières années grâce aux thérapeutiques qu'elles procurent. Cette diversité en propriétés biologiques est liée certainement aux vertus thérapeutiques attribuées à une gamme extraordinaire de molécules bioactives synthétisées par la plante non seulement comme des agents chimiques contre les maladies, les herbivores et les prédateurs mais aussi comme des agents médicinaux.

Notre travail repose sur une étude comparative de valeurs nutritionnelles, phytochimique et biologique d'une plante médicinale (*Trigonelle foenum-graecum* L.) connue sous le nom de « Fenugrec ».

A la lumière des résultats obtenus au cours de cette étude, nous avons conclu que :

- L'étude phytochimique qualitative des extraits aqueux et la poudre des graines de deux variétés (Algérienne et Indienne), basée sur des tests spécifiques a permis de mettre en évidence la présence des mucilages, tanins (totaux et catéchétiques), glucosides, saponosides, coumarines, alcaloïdes et anthocyanes. Ces métabolites secondaires en ont une grande valeur thérapeutique qui justifie l'utilisation médicinale de la plante.
- La quantification des composés phénoliques des graines de fenugrec nous a montré une variation des teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés, cette variation est en fonction de ces variétés.
- Les analyses microbiologiques effectuées sur les graines de fenugrec, nous a montré une absence totale des souches. On peut donc conclure que les échantillons de fenugrec sont de qualité satisfaisante et présentent une bonne qualité microbiologique.
- L'étude de l'activité antioxydante par la méthode du piégeage du radical libre DPPH, a montré que l'extrait méthanolique de graines est riche en antioxydant lui donnant une efficacité contre le radical DPPH.
- Le test de l'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits de la plante a révélé que l'infusé ne présente aucun effet inhibiteur sur l'ensemble des souches testées. Par contre l'extrait méthanolique faiblement, moyennement ou bien non inhibiteur selon les souches testées.

En se basant sur les résultats obtenus, différentes investigations doivent être envisagées en perspectives :

- Déterminer la composition chimique des extraits qui ont donné des effets bénéfiques pour but de connaître et d'isoler les molécules responsables de ces derniers.
- Comprendre les mécanismes moléculaires derrière ces effets bénéfiques *in vitro* et *in vivo*.
- Étude de la toxicité de ces molécules et détermination de l'intervalle de sécurité où ils seront bénéfiques sans effets secondaires nocifs.
- L'inclusion de ces molécules dans le développement des médicaments antioxydants, antimicrobiennes et anti-inflammatoires.

En fin, ces résultats restent préliminaires, il serait donc intéressant de faire des études complémentaires, plus approfondies sur cette plante précisément sur les graines, l'isolement des substances actives avec des analyses quantitatives et une étape importante pour confirmer les diverses activités biologiques sur plus grand nombre d'échantillons, on pourra aussi utiliser d'autre extrait de la plante et ces différent partie, utilisé d'autre souches microbiennes et comparé les résultats avec ceux des antibiotiques, et faire des calculs statistiques pour savoir l'efficacité de cette plante.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Anton R., Martin B., 1999. Plantes thérapeutiques. Edition Tec et DOC, Lavoisier-Paris, 2^{ème} édition : 217-218.

Ali-Delille L. (2007). Les plantes médicinales d'Algérie. *Ed Berti* Alger, p6.

Adrian J. et Frangne R., 1991. La science Alimentaire de A à Z, Ed. Lavoisier, Paris.

Amlan K. et Patra J S., 2010. A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. *Phytochemistry*.71:1198–1222.

Aravodis E. 2005. Antioxidant potential of African medicinal plants. *African journal of Biotechnology*.: 128-133

A. Ahmadiani, M. Javan, S. Semnanian, E. Barat, M. Kamalinejad. 2020. Anti-inflammatory and antipyretic effects of *Trigonella foenum-graecum* leaf extract in the rat. *Journal of Ethnopharmacology* 75 (2001) 283–286

Alkofahi, A., Batshoun, R., Owais, W. and Najib, N. (1996) Biological activity of some Jordanian medicinal plant extracts. *Fitoterapia* LXVII, 435–42.

Amin, R., Abdul-Ghani, A. S. and Suleiman, M. S. (1988) Effect of fenugreek and lupin seeds on the development of experimental diabetes in rats. *Planta Med.*54, 286–90.

Anita D., Vats S., Singh V. et Ritu M., 2013. *I.J.P.S.R.* 4 (2013) 3080-3086.

Bindur. Nair and Fahsak. S. « Isolation and characterization of mucilage from some selected species of *Abelmoschus Medik* (Malvaceae) and their application in pharmaceutical suspension». *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* vol 5. (December 2013). ISSN-0975-1491.

Baba aïssa F., (2000) Encyclopédie des plantes utiles (Flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales, d'Orient et d'Occident). EDAS-Librairie Modernes-Rouïba.254p.

Bruneton J., 1993. Pharmacognosie - phytochimie, plantes médicinales, 2^{ème} édition : 82, 266, 538-540.

Bruneton J., 1993. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 2^{ème} édition, Tech. Et Doc. 915 p.

- Bruneton J., 1993.** Pharmacognosie et phytochimie, plantes médicinales, Tec et Doc Lavoisier. Paris, p 278-279.
- Bruneton J., 1999.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 2^{ème} édition, Paris : Editions médicales internationales, Tec et Doc Lavoisier, p 1120.
- Bruneton J., 1999.** Plantes toxiques : végétaux dangereux pour l'homme et les animaux. 3^{ème} Edition. Ed Tec & Doc, Paris. P514.
- Bruneton J., 1999.** Pharmacognosie- phytochimie, plantes médicinales, 4^{ème} Ed. Tec & Doc, Paris, p.1288.
- Bruneton J., 1999.** « Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales », Ed. Tec & Doc, Paris, p.483-560.
- Broca C., Mantegetti M. et al., 2000.** 4- hydroxyisolencine: effects of synthetic and natural analogues on insulin secretion. *Eurpharmacol* 390 (3): 339-345.
- Beta T., Nam S., Dexter J-E. et Sapirstein H-D., 2005.** Phenolic content and antioxidant activity of pearled ulreat and roller- milled fractions, *Creal Chem*: 390 -393.
- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D. et Idaomar M., 2008.** Biological effects of essential oils. *Food Chemical Toxicology*. 46: 446-475.
- Bever, B.O. and Zahnd, G.R. (1979)** Plants with oral hypoglycaemic action. *Q. J. Crude Drug Res.*17,139-96.
- Boizot N. et Charpentier J-P., 2006.** *INRA, Paris, 79-82*
- Benhammou N., Atik Bekkara F. et Coustard J-M., 2009.** Antioxidant activity of methanolic and water extracts from *Marrubium deserti* de Noe and *Thymelaea microphyla* from Algerian Sahara. *Advance in Food Science*, 31(4) : 194-201.
- Cavin A., 1 999.** *Investigation phytochimique des trois plantes indonésiennes aux propriétés antioxydantes et antiradicalaires : Tinospora crisp (MENISPERNACEAE), Merremia emarginata (CONVOVULACEAE) et Orepheea eneandra (ANNONACEAE).* Thèse de Doctorat. Université de Lausanne, p 241.

Calsamiglia S., Busquet M., Cardozo P.W., Castillejos L. et Ferret A., 2007. Invited review : Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science*. 90: 2580–2595.

Dicorlo G., masealo N. et al., 1999. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Review. Life Sci*. 65 : 337-353

Diallo, A. (2005). Etude de phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* Willd. Thèse de Doctoraten Pharmacie. Université de Bamako. Mali, p99.

Djahra, A. B. 2014. Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydante.

Dixit P., Ghaskadbi S., Mohan H. et Devasagayam T-P., 2005. *P.T.R.* 19(11) (2005) 977–983

Dvipul. Prajapati, K Girish. Jani, G Naresh. Moradiya, P Narayan. Randeria (2012) *carbohydrate Polymers* 92 (2013) p 1685– 1699 ; “Les médecines de la nature : 200 plantes pour se soigner”, Sélection du **Reader’s Digest.**, Paris, (2003), 99 - 100.

Debray. M., Troubles nutritionnels du sujet âgé. Octobre 2004.

El Kalamouni C. Caractérisations chimiques et biologiques d’extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées: Institut National Polytechnique de Toulouse; 2010.

Frénot M., Vierling E., 2001. Biochimie des aliments diététiques du sujet bien portant. Biosciences et techniques, 2^{ème} édition : 285.

Feleurentin J., Marie J.P., 2004. Guerisseurs et plantes médicinales des yémen : 154.

Ferry M., ALIX E. et al. Nutrition de la personne âgée : aspects fondamentaux, cliniques et psychosociaux. Masson, 2002, 2e éd.

Ghedira K., Goetz P., Lejeune R, (2010). Fenugrec: *Trigonella foenum-graecum* L (Fabaceae ex.leguminosae), Ed, Springer-Verlag, Vol 8, Issue 3, pp180-184.

Grünwald G., Jänicke C., (2007). Guide de la phytothérapie : la thérapeutique des plantes / la santé par les plantes / un répertoire des plantes / des conseils pratiques. 2^{ème} Edition, Marabot, 2006, Italie, p365.

Gonzalez A-G. et Estevez-Braun A., 1997. Coumarins, *Nat. Prod. Reprod.*, 14 :465-475.

- Guillouty, A. 2016.** Plantes médicinales et antioxydants. Thèse de doctorat pharmacie. Université Toulouse III Paul Sabatier, 95p.
- Ghafghazi, T., Sheriat, H. S., Dastmalchi, T. and Barnett, R.C. (1980)** Antagonism of cadmium and alloxan-induced hyperglycaemia in rats by *Trigonella foenum graecum*. Shiraz. Med. J.8, 14–25.
- Guignard, J.L.,** “Biochimie végétale”, 2^{ème} édition, Paris, Masson, (2000),281p.
- Gherib, A., 1988,** “Travaux pratiques de chimie thérapeutique”.
- 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*) sur l'amélioration du profil lipidique et la prise de poids chez le rat. *Phytothérapie*, 10 (6) ,357-362.
- Hemingway R-W., 1992.** Structural variation in proanthocyanidins and their derivatives. In: *Lipid polyphenols: synthesis, properties, significance*. Laks P.E, Hemingway R.W New York.
- Igor Passi L-B., 2002.** *Etude des activités biologiques de Fagara zanthoxyloides Lam. (Rutaceae)*. Thèse de pharmacie. Université de Bamako, p 133.
- Izzo A.A., 1996.** PAF and digestive tract. *A review. J. pharmacol.* 48 : 1103-1111.
- Journal international des macromolécules biologiques** 54 (2013) 144-154 ;
- Jenkins, D.J.A., Reynolds, D., Salvin, B., Leeds, A.R., Jenkins, A.L. and Jepson, E.H. (1980)** Dietary fibre and blood lipids: treatment of hypercholesterolaemia with guar crispbread. *Am. J. Clin. Nutr.* 33, 575–81.
- Julkunen-Titto R., 1985.** *J. Agric. Food Chem.* 33: 213-217.
- JORA, 2017 :** Journal officiel de la république algérienne N°39, Juillet 2017.
- Kansole M-M-R., 2009.** Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso : cas de *Leucas martinicensis* (Jacquin) R. Brown-Hoslundia opposita vahl et *Orthosiphon pallidus* royle ex benth. Mémoire pour obtenir un diplôme Diplôme d'Etudes Approfondies (D.E.A) en Sciences Biologiques Appliquées, Burkina Faso.
- Kaviarasan S., G.H. Naik, R. Gangabhairathi, C.V. Anuradha, K.I. Priyadarsini. 2006.** In vitro studies on antiradical and antioxidant activities of fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) seeds

- Khosla, P., Gupta, D.D. and Nagpal, R.K. (1995)** Effect of *Trigonella foenum graecum* (fenugreek) on serum lipids in normal and diabetic rats. *Indian J. Pharmacol.* 27, 89–93.
- Kannel, W.B. (1983)** High-density lipoprotein: epidemiologic profile and risks of coronary artery disease. *J. Cardiol.* 52, 9B.
- Kokate C.K., Purohit A.P. and Gokhale S.B.,** “Pharmacognosy”, Nirali prakashan, thirty-sixth edition, 2007, pp.1-649.
- Kumari, O. S., Rao, N. B., & Gajula, R. G. (2016).** Phytochemical analysis and antimicrobial activity of *Trigonella foenum graecum* (Methi seeds). *Journal of Medicinal Plants*, 4(4), 278-281.
- Le Floch E (1983)** contribution à une étude ethnobotanique de la flore tunisienne programme flore et végétation tunisienne. Tunis ;
- Landolfi R., Maurer R.L. et Stainer M., 1984.** Modification of platelet function and arachidonic acid metabolism by bioflavonoid structure — activity relations. *Biochem pharmacol.* 33: 1525-1530.
- Leena S., Priyanka S., Sheema B., Anupma M., Pooja B. et Sunita D., 2014.** *Asian Pac. J. Health Sci.* 1(3): 219-226
- Moussau M., (2011).** Plantes médicinales de méditerranée et d’Orient, Ed, Sabil, p61.
- Moradi kor Nasroallah*1, Mohamad Bagher Didarshetaban2, Hamid Reza Saeid. (2013).** Pour 3 Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) A sa Valuable Medicinal Plant. *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research*, 1(8), 922-931.
- Murry, K.,** *Journal of Food Engineering* 69 (2005) 185–190;
- Milane H., 2004.** La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres, études et applications thérapeutiques. Thèse en vue de l’obtention du grade de docteur en science. Université Louis Pasteur. Strasbourg.
- Moissides, M. (1939)** Le fenugrec autre fois et aujourd’hui. *Janus* 43, 123–30.
- Mishkinsky, J., Joseph, B. and Sulman, F. (1967)** Hypoglycaemic effect of trigonelline. *Lancet*, 1311–12.

- Mishra, S. S., Tewari, J. P. and Saxena, K. B (1965)** Anthelmintic activity of some Indian medicinal plants. *Ind. J. Med. Sci.* 19, 398.
- Mishra, R., Mandloi, S., Yadav, N., & Choithani, J. (2016).** phytochemical analysis of *trigonella foenum graecum* and its antibacterial activity against *staphylococcus aureus*.
- Matkowski A. et Piotrowska M., 2006.** Antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants from the Lamiaceae. *Fitoterapia* 77:346-353.
- Molyneux P., 2004.** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, *Song Klama Karin J.Sci. Technol*, 26 (2): 211-219.
- Mende M., Rodriguez P., Ruiz J., Mourales-adane D., Castillo F., Castillo H., Aguilar C.N. (2012).** Antibacterial activity of plant extracts obtained with alternative organic solvents against food-borne pathogen bacteria. *Industrial crops and products* 37: 445-450.
- Mawahib EM.E., Ammar MA.A., Aesaed B., (2015).** Antimicrobial Activities and Phytochemical Screening of Callus and Seeds Extracts of Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*). Vol 4, N°2, pp147-157.
- Mawahib EM.E., Ammar MA.A., Aesaed B., (2015).** Antimicrobial Activities and Phytochemical Screening of Callus and Seeds Extracts of Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*). Vol 4, N°2, pp147-157.
- Maugourd M.F.** Gérontologie fondamentale clinique sociale. Ed Bernard Duport et, Sauramps médical, 1992, T2, P. 459-489.
- Nicolas B., Gouillie J-B. (2013).** Plantes médicinales. Terres Edition, 2013. P28.
- Ozkan G., Sagdic O., Baydar N.G. et Baydar H., (2003).** Inhibition 6ème Edition of pathogenic bacteria by essential oils at different concentration. *Food Science and Technology International*, Vol 9(2). pp.85-88.
- OMS, (2003),** Organisation mondiale de la santé.
- Polymères 92** d'hydrate de carbone (2013)1685-1699 ;
- Paul 1., 2001.** Encyclopedie des plantes médicinales. La rousse 21 Rue su manspanasse. 75283 paris *CEDEX* 06 : 277.

- Perle L.M. et al., 2000.** Diabetes et maladies métaboliques. Aistoire et actualité, 3érne édition : 01-91.
- Price M-L., Van Scoyoc S. et Butler L-G., 1978.** *J. Agric. Food Chem.* 26: 1214-1218.
- Priya V., Jananie R-K. et Vijayalakshmi K., 2011.** *IJPSR.* 2(10) : 2704-2708.
- Rahmani, M., Toumi-Benali, F., Hamel, L., · M. M. Dif** Aperçu ethnobotanique et phytopharmacologique sur *Trigonellafoenum-graecum L.* Lavoisier SAS2015
- Rolland F.V. et al., 2004.** Synthèse d'analogues de la 4- hydroxyisoleurine comme hypolycemiants potentiels. *Eur. J. org. Chem.* (4) : 873-877.
- Richter G., 1993.** Métabolismes des végétales physiologies et biochimie. Edition Tec et Doc : 326-327 ; 440-441.
- Rene G., 2002.** Le diabète, équilibre et santé, mango pratique édition : 08-09.
- Ribéreau G-P., 1968.** *Dunod, Paris.*
- Schauenberg P., (2005).** Guide des plantes médicinales, Ed, Delachaux α Niestlé, Paris, 1977, page 59,70.
- Sheicklar, A. (2013).** *Trigonella foenum-graecum L.* (Fenugrec) as a Medicinal Herb in Animals Growth and Health. *Science international*, (1) 6,194-198.
- Sébastien, M.** *Food Hydrocolloids* **17 (2003)** 229–237
- Sauvere Y., Baccou J.C., 1976.** Nutrition value of the proteins of a leguminous seed: Fenugreek (*Trigonella foenum graecum*). *Nutrition Report international.* 14 (5): 527-537.
- Shani, J., Goldschmied, A., Ahronson, Z. and Sulman, F.G. (1974)** Hypoglycaemic effect of *Trigonella foenum graecum* and *Lupinus termis* (Leguminosae) seeds and their major alkaloids in alloxan diabetic and normal rats. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.*210,27–36.
- Singh, R.K., Sethi, N., Nath, D., and Srivastava, R.K. (1990)** Anti-fertility and teratogenicactivity of some indigenou medicinal plants in rats. *Fitoterapia* LXI, 64–7.
- Sharma, R.D. (1984)** Hypocholesterolaemic activity of fenugreek (*T. foenum graecum*): anexperimental study in rats. *Nutr. Rep. Int.* 30, 221–31.

- Sharma, R.D. (1986)** An evaluation of hypocholesterolaemic factor of fenugreek seeds (*T.foenum graecum*) in rats. *Nutr. Rep. Int.*33, 669–77.
- Sharma, R.D. and Raghuram, T.C. (1990)** Hypoglycaemic effect of fenugreek seeds in non-insulin dependent diabetic subjects. *Nutr. Res.*10, 731–9.
- Stark, A. and Madar, Z. (1993)** The effect of an ethanol extract derived from fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) on bile acid absorption and cholesterol levels in rats. *Br. J. Nutr.*69, 277–87.
- Schuette, H.A., Cowley, M.A., Muller, M.M.,** “Fenugreek seed oil”, *Oil and soap*, XVII (6), (1940),122p.
- Singleton V-L. et Rossi J-A., 1965.** *Amer. J. Enol. Viticult.* 16 (1965) 144-158.
- Sanchez-Moreno C., Larrauri J-A. et Saura-Calixto F., 1998.** *J. Sci Food. Agric.* 76: 270–276.
- Souri E, Amin G, Farsam H and Barazandeh TM (2008).** Screening of antioxidant activity and phenolic content of 24 medicinal plant extracts. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 16(2), 83-87.
- Sumayya, A. R., Srinivasan, S., & Amatullah, N. (2012).** Screening and biochemical quantification of phytochemicals in fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*). *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 3(1), 165-169.
- Teuscher E, Anton R, Lobsteine A, (2005)** : plantes aromatique, épices, aromates, condiments et huile essentielle. Cologne, Konemann, pp243-244.
- Toure D.** ETUDES CHIMIQUE ET BIOLOGIQUE DES HUILES ESSENTIELLES DE QUATRE PLANTES AROMATIQUES MEDICINALES DE CÔTE D’IVOIRE : Université Felix Houphouët Boigny, Côte d’Ivoire ; 2015.
- Trowell, H. (1972)** Ischaemic heart disease and dietary fibre. *Am. J. Clin. Nutr.* 25, 926–31.
- Uchida, K., Takase, H., Nomura, Y., Takeda, K., Takeuchi, N. and Ischikawa, Y. (1984) Changes in biliary and faecal bile acids in mice after treatment with disogenin and B-sitosterol. *J. Lipid Res.* 25, 236–45.

- Thurzova L., Kresanek I., Marsek S., Mika K., (1985).** Les plantes –santé qui poussent autour de nous. Ed originales : heilpflanzen, artia, prague 1977. P11-24.
- Teuscher E, Anton R, Lobsteine A, (2005)** : plante aromatique, épices, aromates, condiments et huile essentielle. Cologne, Konemann, pp243-244.
- Volpé J.S., Sergeant P., Fakler A., Kanny G. (2009).** Fenugrec : Aliment, médicament.
- Vacheron Sophie ;** Thèse : La phytothérapie Dans la prise en charge Des Troubles Veineux A l'Officine, Docteurs Pharmacie,2010-2011 ;
- Valette, G., Sauvaire, Y., Baccou, J.C. and Ribes, G. (1984)** Hypocholesterolaemic effect of fenugreek seeds in dogs. *Atherosclerosis* 50,105–11.
- Vaidya K., Ghosh A., Kumar V., Chaudhary S., Srivastava N., Katudia K., Tiwari T. and Chikara S.K.,** “De novo transcriptome sequencing in *Trigonella foenum-graecum* to identify genes involved in the biosynthesis of diosgenin”, *Plant Genome*, 2012, pp.1-31.
- Valliappan,C., Lakshmanan, N., Veerappan, S., Ramu, L., Vellingiri, V., Pemiah, B. (2015).** spectrophotometric, HPTLC and gc-ms studies on selected spice extracts. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*,7(6), 184-190.
- Wichtl, M., Anton, R., (2003)** plantes thérapeutiques EMI / Tec et Doc, Paris pp 2169 ;
- Wichtl M., Anton R., (2003).** Plantes thérapeutiques ; tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. 2^{ème} édition, Ed *Tec & Doc*, Paris. Pp25-39-40-50-51.
- Weil J.H., 2005.** Biochimie générale. Durod-Paris, 10^{ème} édition : 726.
- Yadav, R., Kaushik, R., & Gupta, D. (2011).** The health benefits of *Trigonella foenum-graecum*: A Review. *Int J Eng Res Appl*, 1, 32-35.
- Yadav, R.,Tiwari, R., Chowdhary, P., & Pradhan, C. K. (2011).** A pharmacognostical monograph of *Trigonella foenum-graecum* seeds. *Screening*,1,6.
- Yakhlef G. (2009-2010)** ETUDE DE L'ACTIVITE BIOLOGIQUE DES EXTRAITS DE FEUILLES DE *Thymus vulgaris* L. ET *Laurusnobilis* L : UNIVERSITE EL HADJ LAKHDAR –BATNA–;
- Zhishen J., Mengcheng T. et Jianming W., 1999.** *Food Chem.* 64: 555-559.

Zaen ASS., Faraj MB., Nasrulla JO., (2010). Antibacterial. *In* **Mawahib EM.E., Ammar MA.A., Aesaeed B., (2015).** Antimicrobial Activities and Phytochemical Screening of Callus and Seeds Axtrats of Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*). Vol 4, N°2, p147-157.

Biblio Net :

Web Master 1 : www.markal.fr.(Fiche technique des graines de fenugrec biologiques).

Site web 2 : Le Tome 1 du Corpus de Gériatrie EST proposé par le Collège National des Enseignants de Gériatrie : <http://www.corpusgeriatrie.org/>.

Site web 3 : Site du Comité de Liaison en Alimentation et Nutrition (CLAN) : uniquement consultable sur l’Intranet du CHU de Grenoble, sur MEDIPRO.

ANNEXES

Annexe 1

Matériel non biologique

Appareillages	Verreries et autres	Réactifs et solutions
Agitateur	Béchers	Acétate de sodium
Bain marie	Boîtes de pétri	Acide chlorhydrique (H Cl)
Balance analytique	Burettes	Acide sulfurique concentré (H ₂ SO ₄)
Bec bunsen	Entonnoir	Alcool chlorhydrique
Etuve d'incubation	Eprouvette	Ammoniaque
Hotte	Fioles jaugées	Chloroforme
Plaque chauffante	Papier filtre	Eau distillée
Évaporateur rotatif	Pince de laboratoire	Eau de javel
Spectrophotomètre	Pipettes pasteur	Eau physiologique
Reflux	Pipettes graduées	Méthanol
	Spatule	Ether
	Tubes à essai stériles	Hydroxyde de potassium (KOH)
	Disques en papier absorbants stériles	Réactif de Drangendorff
	Ecouvillons	Réactif de Sitasny
	Seringue en plastique	Réactif Valser-Mayer
	Support des tubes	Solution de trichlorure de fer (FeCl ₃) Na OH : hydroxyde de sodium

Ether chloroforme 3/1

Alcool éthylique

Ethanol absolu

Diméthyl Sulfoxyde
(DMSO)

 A white analytical balance with a glass enclosure and a digital display showing -185.774. The brand name 'ADVENTURER' is visible on the front panel.	 A blue Stuart heat-stirrer with a stainless steel heating plate. A yellow label on the plate reads '100g / 100'. The control panel has two large dials and the text 'stuart heat-stir CB162'.	 A Bunsen burner with a glass chimney and a metal base, sitting on a circular metal plate.
Balance analytique	Agitateur +Plaque chauffante	Bec bunsen
 A white Binder incubator with a red control panel on the left side and a black handle.	 A stainless steel Poupinel oven with a large door and a control panel on top.	 A stainless steel water bath with a digital display showing 9.78 and a control panel with various buttons.
Etuve d'incubation	Poupinel	Bain marie
 A rotary evaporator with a glass flask and a condenser, mounted on a white base.	 A UV-1800 spectrophotometer with a digital display and a keypad.	 A reflux apparatus consisting of a round-bottom flask on a magnetic stirrer, connected to a vertical condenser.
Évaporateur rotatif	Spectrophotomètre	Reflux

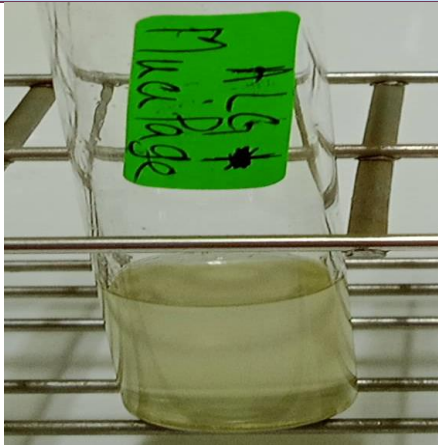
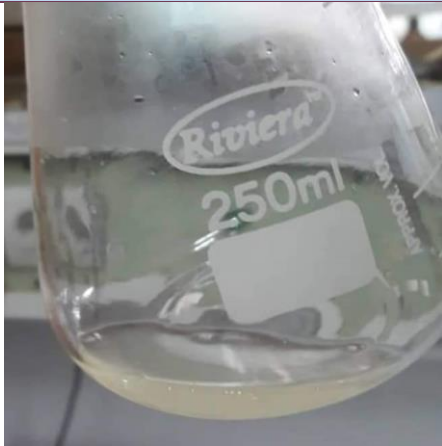

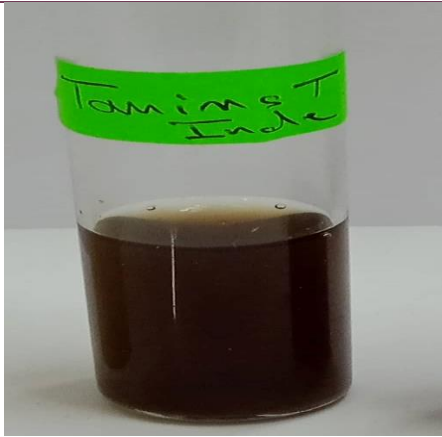
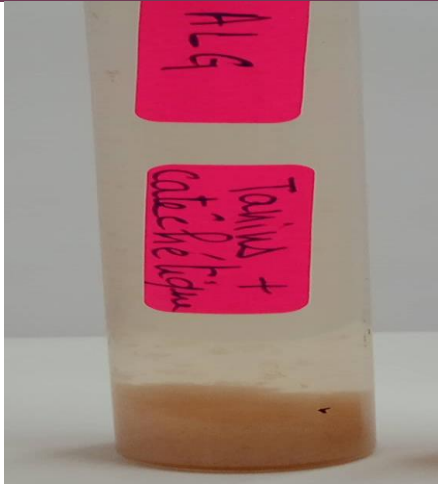
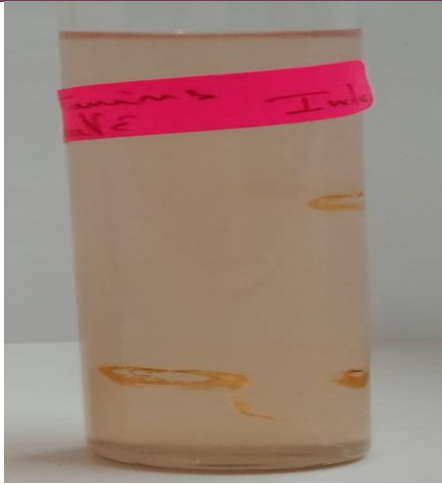
Annexe 2

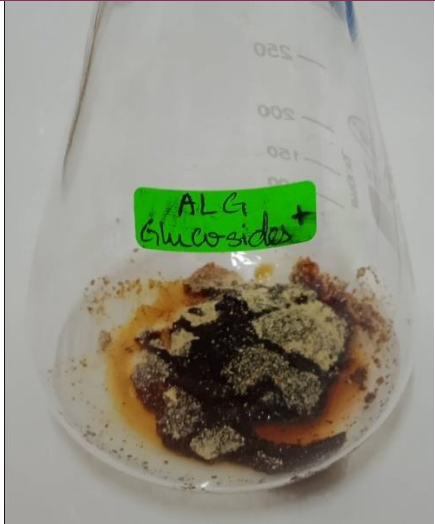
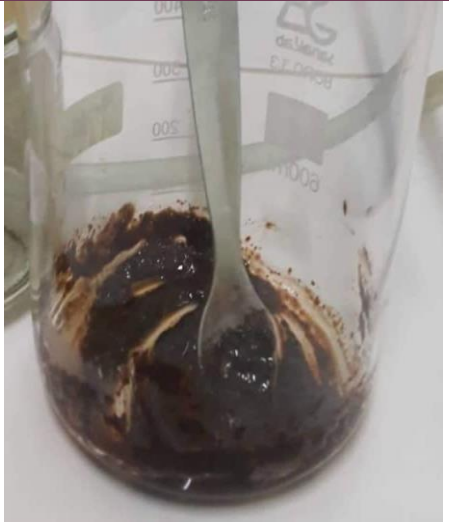
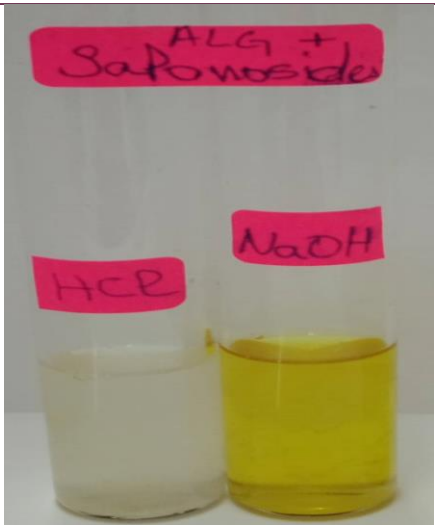
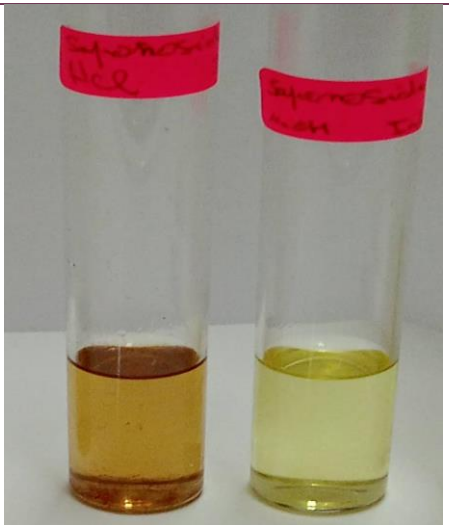


Préparation des milieux de cultures (Photos originale, 2022)

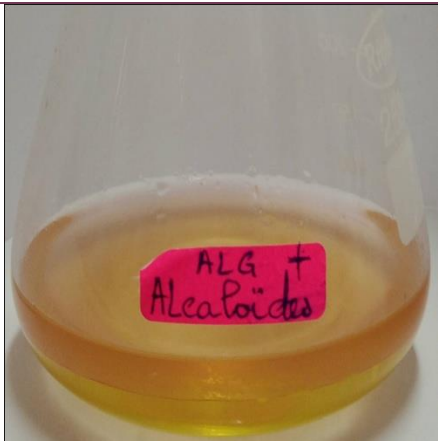
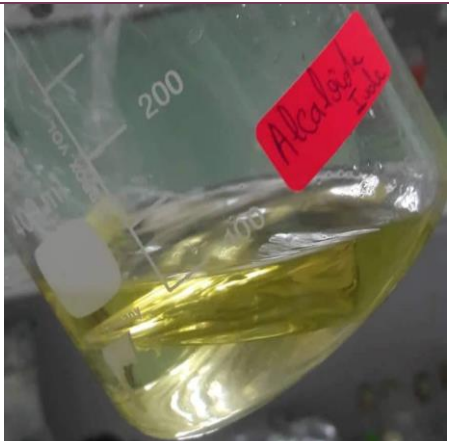
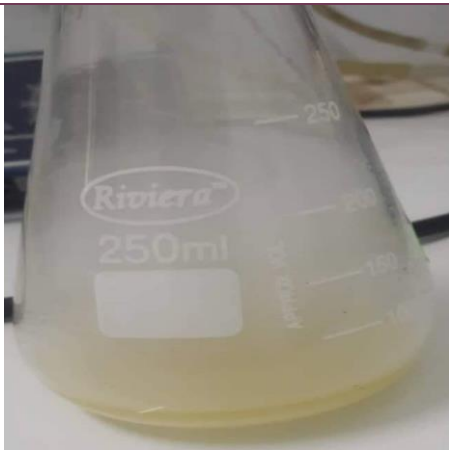


Annexe 3

Résultats des composés présents dans l'extrait aqueux et la poudre pour les graines des deux variétés (Algérienne et Indienne) de fenugrec (Photos originale, 2022)

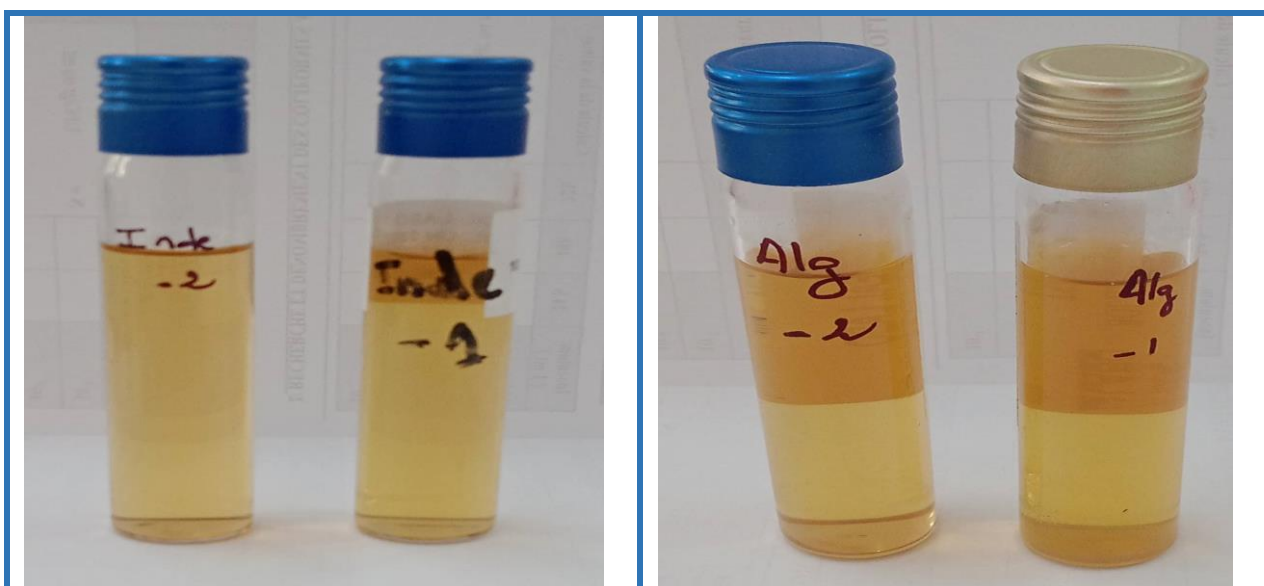
Composés	Résultats des graines Algérienne	Résultats des graines Indienne
Mucilages		
Tanins totaux		
Tanins catéchétiques		

Glucosides		
Saponosides		
Coumarines		

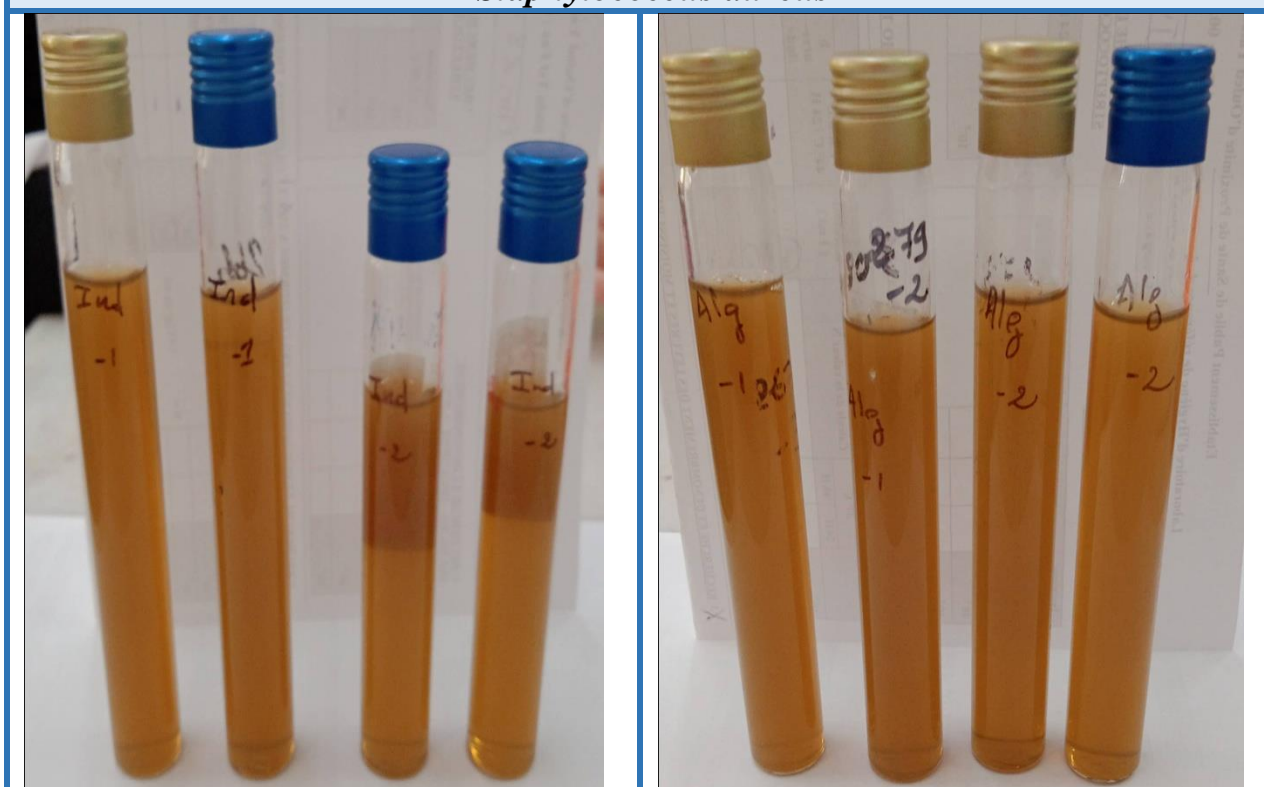
Alcaloides		
Anthocyanes		
Quinones libre		

Annexe 4

Résultats des analyses microbiologiques (Photos originale, 2022)



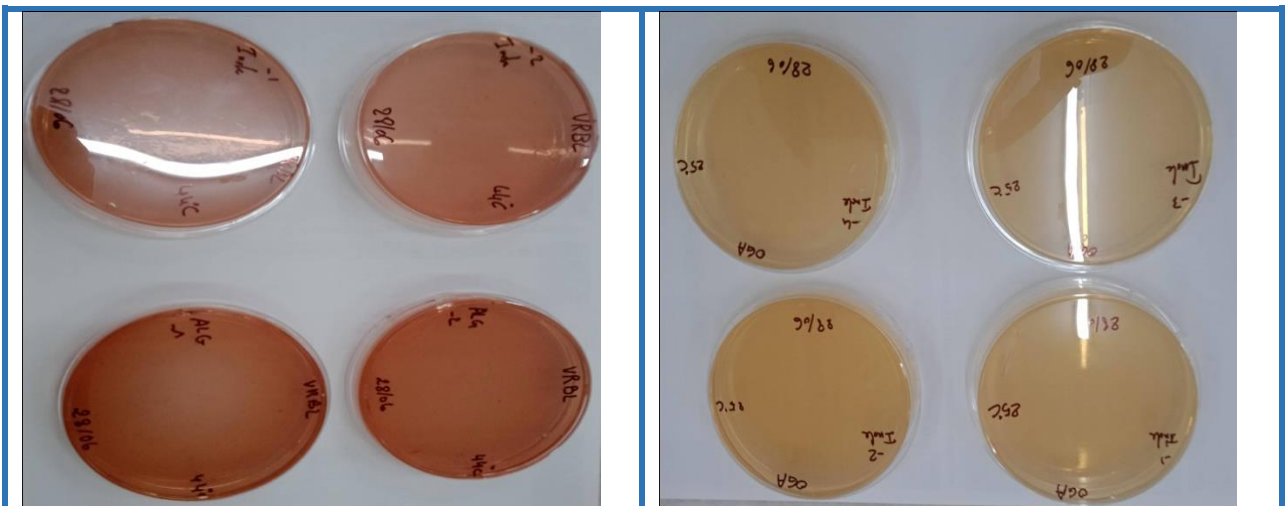
Staphylococcus aureus



Clostridium sulfito réducteur

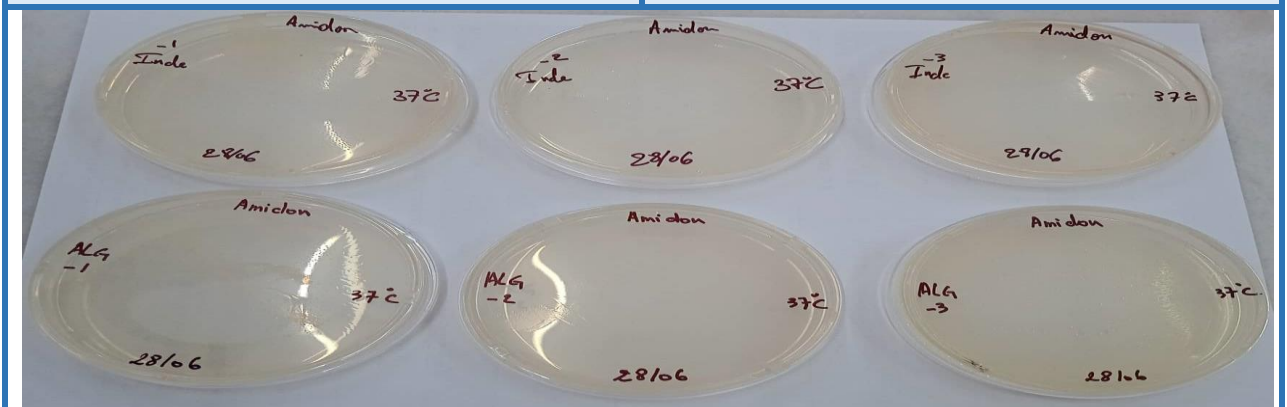


Salmonella



Escherichia coli

Levures et moisissures



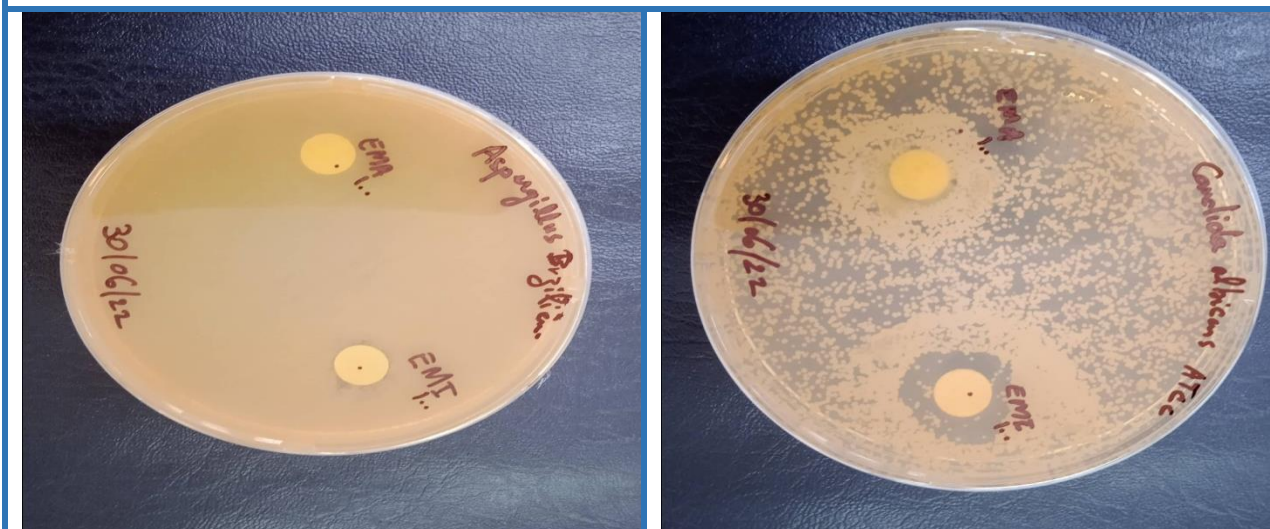
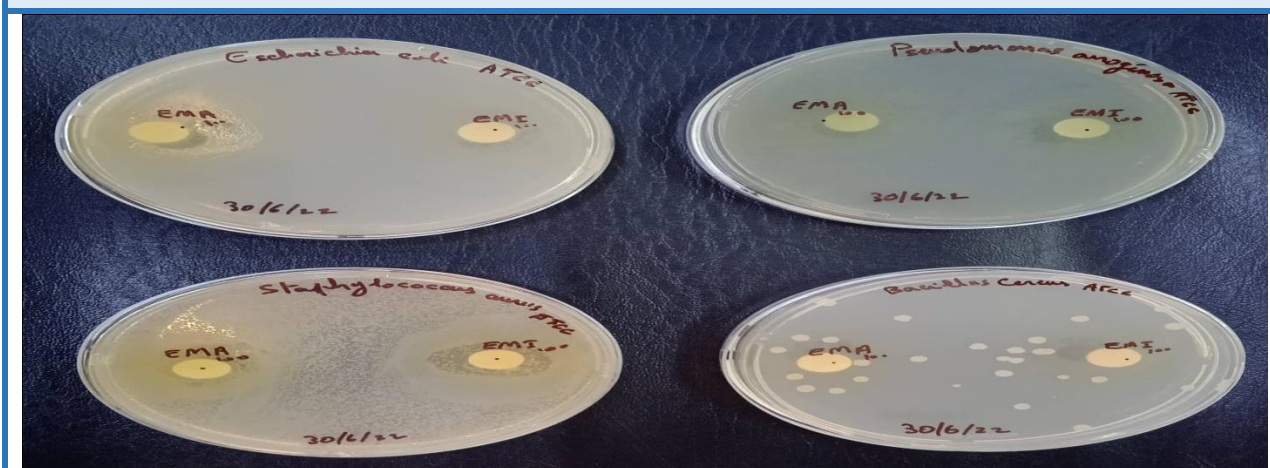
Bacillus cereus

Annexe 5

Résultat du l'étude de l'activité antimicrobienne (Photos originale, 2022)



Test d'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'infusé de la poudre des graines (Absence d'inhibition de la croissance microbienne)



Test d'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique des graines (Présence d'inhibition de la croissance microbienne)

