

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE de TLEMCCEN
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de
l'Univers

Département de Biologie
Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire au Biomédicale et
à l'Environnement "LAMAABE"

MEMOIRE

Présenté par

M^{elle} HadeF Oumkeltoum Yousra

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Microbiologie Fondamentale

Thème

**Extraction, caractérisation et évaluation de l'activité
antibactérienne de mucilage extrait de graine de
*Trigonella foenum-graecum L.***

Soutenu le 29/06/2020, devant le jury composé de :

Président	BOUALI Wafaa	MCB	Université de Tlemcen
Encadreur	MKEDDER Ilham	MCB	Université de Tlemcen
Examineur	BELLIFA Samia	MCB	Université de Tlemcen

Année universitaire 2019/2020

Remerciements

Louange a Dieu, le Miséricordieux de m'avoir éclairé le chemin de la science et m'a doté d'une santé durant tout le cheminement relatif aux exigences que nécessite un tel travail, a savoir la conception et la réalisation de ce mémoire.

Je tiens à remercier mon encadreur madame **MKEDDER Ilhem** maître de conférence classe «B» à l'Université de Tlemcen, département biologie, Faculté SNV-STU pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses conseils judicieux et ses orientations lumineuses qui m'ont accompagnés tout le long de mon travail.

Aussi, J'exprime mes remerciements aux membres du jury pour leur disponibilité d'avoir accepté du jury de la soutenance ; Examinatrice Madame **BELIFA Samia** maître de conférence classe «B» à l'Université de Tlemcen, Faculté SNV-STU département de biologie.

Mes remerciements également, à Président madame **BOUALI Wafaa** maître de conférences classe «B» à l'Université de Tlemcen, département biologie Faculté SNV-STU département de biologie.

J'adresse mes sincères remerciements à madame **HASSAINE Hafida**, professeur à l'université de Tlemcen et Directeur du Laboratoire LAMAABE, malgré sa non présence qui stimulera davantage ma volonté de bien faire en guise de reconnaissance a l'endroit des efforts qu'elle a consenti pour ma réussite.

Un grands Merci à mes amie **GUENNON Hinde** et **DJILALI Bouchra** qui m'ont aidé à étayer cette mémoire.

Enfin, ma reconnaissance à madame **LEMRINI Wafaa** maître de conférence classe B a l'Université de Tlemcen, département de biologie que je ne pourrai jamais oublier.

Merci bien sûr aussi à toutes les équipes du laboratoire pédagogique, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de Terre et de l'Univers. Université Abou Bekr BELKAÏD de Tlemcen, cet environnement hautement familial qui m'a offert les meilleures conditions pour la réalisation de ce travail.

Pour terminer, un grand merci à toutes les personnes qui m'ont aidé de près ou de loin, et qui se reconnaîtront ici.

Dédicaces

*Grace à la volonté
du bon Dieu,
Créateur et maître de l'Univers
qui m'a accompagné pendant ces longues années d'études.*

*Je dédie cette œuvre modeste
A mon grand père
A la mémoire de mon grand père alhaj BOuazza qui de l'haut de la est très content de sa
petit fille (Allah Yarahamouh)*

*A mes parents,
Abdessalam et SAFI Fatima
Qui ont guidé mes premiers pas dans le sens de la réussite basée sur les principes
fondamentaux de notre société « courage, dignité et détermination dans le travail ».
Vous m'avez constamment accordé votre soutien moral pendant le déroulement de mes
études. Puissent votre exemple et vos qualités humaines me servir de modèle dans la vie.
Soyez rassurés de toute mon affection et de mes sentiments de gratitude les plus profonds
pour vos prières, vos encouragements et tous les sacrifices que vous avez consentis.
Je prie le Tout Puissant afin qu'il vous garder encore longtemps auprès de moi pour vous
manifeste toute ma reconnaissance.*

*A ma sœur Kfiawla
Qui a été toujours un exemple tout le long de mon cursus,
elle a été était toujours là pour m'écouter, me reconforter et m'encourager dans les moments
de doute. Je souhaite qu'elle trouve ici le fruit de ses sacrifices. Que Dieu le tout puissant la
bénisse et lui accorde une longue vie pleine de sante et de bonheur.*

*A mes frères et sœurs
Pour les années de joies et moments difficiles partagé ensemble. (Bouazza, Ikrame et
Mouhamad et mon beau frère CHEDDANI Yassine)
Enfin,
A tous mes collègues et chers amis, (Ilyes BENAZZOUZ), mes anges Maria, Mouad et
Manel.*

Et ma petite Matia alah yjibaḳ bḳfir

ملخص

هذا العمل هو جزء من التقييم المختبري للنشاط المضاد للميكروبات في الصمغ المستخرج والمميز سابقاً من حبوب *Trigonella foenum-graecum L.* ضد بعض البكتيريا : *Staphylococcus aureus ATCC 25923* ، *Escherichia coli* ، *Bacillus cereus ATCC 10876* ، *Listeria monocytogenes ATCC 15313* ، *Pseudomonas aeruginosa ATCC 25912* و *Klebsiella pneumonia ATCC 700603* ، تم إستخلاص الصمغ من بذور *Trigonella foenum-graecum L.* باستخدام المياه الساخنة ، أوضحت النتائج أن مردود الاستخلاص بلغ 1.2٪.

سمح لنا اختبار توصيف خلاصة الصمغ بمعرفة وجود السكريات وغياب البروتينات فيما كشف الفحص الكيميائي النباتي للصمغ أن صمغ *Trigonella foenum-graecum L.* غنية بالتانينات مع غياب تام للفلافونويد والأحماض الأمينية و النشاء.

بالنظر إلى الظروف الحالية، لم يتم إجراء اختبار النشاط المضاد للميكروبات على ستة سلالات بكتيرية. البيولوجي ، و ستكون هناك حاجة إلى مزيد من الدراسات المتعمقة لإتمام هذا العمل

الكلمات المفتاحية: *Trigonella foenum-graecum L.* ، الصمغ ، التانينات ، النشا ، النشاط المضاد للبكتيريا.

Résumé

Ce travail s'inscrit dans le cadre d'évaluer in vitro l'activité antimicrobienne de mucilage préalablement extrait et caractérisé, des grains de *Trigonella foenum-graecum L.* contre quelques bactéries à Gram positifs : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Listeria monocytogenes* ATCC 15313 et *Bacillus cereus* ATCC 10876 et à Gram négatifs *Escherichia coli* ATCC 25912, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

L'extraction de mucilage des graines de *Trigonella foenum-graecum L.* a été réalisée à l'eau chaude. Les résultats démontrent que le rendement en extraits bruts des graines de l'helba originaire de Tlemcen est de 1,2%. Le test de caractérisation de l'extraits de mucilage nous a permis de savoir que les sucres sont présents et les protéines absentes. Le screening phytochimique de mucilage a révélé que les gaines de *Trigonella foenum-graecum L.* sont riches de tanins, et on a noté une absence totale des flavonoïdes, des acides aminés et d'amidon.

Compte tenu aux conditions actuelles, le test d'activité antimicrobienne sur six souches bactériennes n'a pas été réalisé, et d'autres études approfondies sont nécessaires pour accomplir ce travail.

Mots clés: *Trigonella foenum-graecum L.*, mucilage, tanins, amidon, activité antibactérienne.

Abstract

This work is part of the in vitro evaluation of the antimicrobial activity of previously extracted and characterized mucilage from *Trigonella foenum-graecum L.* grains against some Gram-positif bacteria: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Listeria monocytogenes* ATCC 15313 and *Bacillus cereus* ATCC 10876 and Gram-negatif *Escherichia coli* ATCC 25912, *Klebsiella pneumonia* ATCC 700603 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

Mucilage extraction from seeds of *Trigonella foenum-graecum L.* was performed hot water. were extracted using the infusion method. The results show that the yield of crude extracts from the seeds of the helba native to Tlemcen is 1.2%. The characterization test of the mucilage extract allowed us to know that the sugars are present and the proteins absent. Phytochemical screening of mucilage revealed that the sheaths of *Trigonella foenum-graecum L.* are rich in tannins, a total absence of flavonoids, amino acids, and starch was noted.

Under current conditions, the antimicrobial activity test on six bacterial strains was not performed, and further in-depth studies are required to complete this work.

Key words: *Trigonella foenum-graecum L.*, mucilage, tannins, starch, antibacterial activity.

Tables des matières

Introduction.....	P 01
Partie I. Synthèse bibliographique.....	P 01
Chapitre I. <i>Trigonella foenum-graecum</i> L.....	P 02
I.1. Historique.....	P 02
I.2. Description botanique.....	P 02
I.3. Systématique	P 03
.I.4. Métabolites des plantes.....	P 04
I.4.1. Métabolites primaires.....	P 04
I.4.2. Métabolites secondaires	P 04
I.5. Composition chimique du fenugrec.....	P 05
1.6. Utilisation de la plante.....	P 05
I.7. Propriétés biologiques du fenugrec.....	P 06
I.7.1. Les polysaccharides.....	P 06
I.7.2. Mucilages.....	P 06
I.8. Propriétés thérapeutiques du fenugrec.....	P 07
I.8.1. Propriétés antioxydants.....	P 07
I.8.2. Propriétés anti-inflammatoires et hépatprotective.....	P 07
I.8.3. Propriétés anti-tumorale.....	P 07
I.8.4. Propriétés antidiabétique.....	P 08

I.8.5. Propriétés antimicrobiennes.....	P 08
Chapitre II. Activité antibactérienne.....	P 09
II.1. Infection bactérienne.....	P 09
II.2. Caractéristiques des souches bactériennes utilisées.....	P 09
II.2.1. <i>Staphylococcus aureus</i>.....	P 09
II.2.2. <i>Listeria monocytogenes</i>.....	P 09
II.2.3. <i>Bacillus cereus</i>.....	P 10
II.2.4. <i>Escherichia coli</i>.....	P 10
II.2.5. <i>Klebsiella pneumoniae</i>.....	P 10
II.2.6. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>.....	P 11
Partie II. Matériel et Méthodes.....	P 13
II.1. Matériel biologique.....	P 13
II.1.1. Matériel végétal.....	P 13
II.1.1.1. Préparation des extraits	P 13
II.1.1.2. Extraction de mucilage.....	P 14
II.1.2. Tests de caractérisation des mucilages.....	P 15
II.1.2.1. Dosage des sucres.....	P 15
II.1.2.2. Dosage des protéines.....	P 16
II.1.2.3. Tests phytochimiques.....	P 17
II.1.3. Évaluation de l'activité antibactérienne.....	P 18

II.1.3.1. Souches utilisées.....	P18
II.1.3.2. Préparation des suspensions bactériennes.....	P 19
II.1.4. Recherches de l'activité antimicrobienne.....	P 20
II.1.4.1. Inoculum.....	P 20
II.1.4.2. Ensemencement des milieux de cultures sur boîtes de Pétri et réalisation des puits.....	P 21
II.1.4.3. Mode opératoire.....	P 21
II.1.4.4. Lecture des résultats.....	P 22
Partie III. Résultats et discussions.....	P 24
III.1. Extraction	P 24
III.2. Tests de caractérisation des mucilages.....	P 26
III.2.1. Dosage des protéines et des sucres.....	P 26
III.2.2. Tests phytochimiques.....	P 26
III.3. Évaluation de l'activité antibactérienne.....	P 27
Conclusion.....	P 30
Références Bibliographiques.....	P 31

Liste des figures

Figure 01. Feuilles et graines de <i>Trigonella foenum-graecum</i> L.....	P 03
Figure 02. Graines de <i>Trigonella foenum-graecum</i> L (photo anonyme).....	P 13
Figure 03. Représentation schématique des étapes de l'extraction des mucilages.....	P 15
Figure 04. Évaluation de l'activité antimicrobienne.....	P 22
Figure 05. Protocole expérimentale de l'essai d'activité antibactérienne des extraits <i>Trigonella foenum-graecum</i> L.....	P 22
Figure 06. Extrait des mucilages bruts (Photo anonyme).....	P 24

Liste des tableaux

Tableau 01. Principales caractéristiques des souches microbiennes utilisées pour l'étude de l'activité antibactérienne.....	P 19
Tableau 02. Aspect, couleur et rendement de l'extrait mucilagineux.....	P 24
Tableau 03. Caractérisation des protéines et sucres dans les extraits de mucilage...	P 26
Tableau 04. Résultats de quelques tests phytochimiques.....	P 26

Introduction

Les produits végétaux et leurs constituants actifs ont toujours été utilisés par l'homme, comme sources alimentaires (**Takir et al., 2005**), sources de matériaux et sources de médicaments (**Badiaga, 2011**). Les plantes sont utilisées pour leurs propriétés bénéfiques dans la santé humaine, voir animale. Elles sont aujourd'hui définies par la pharmacopée française comme drogue végétale, elles renferment un ou plusieurs principes actifs présentant des propriétés médicamenteuses capables de prévenir, soulager ou guérir un certain nombre de maladies (**Badiaga, 2011**). Environ 80% de la population mondiale se soigne avec les plants médicinales contre les maladies de stress, les rhumes, les troubles d'estomac, vues qu'elles présentent des effets analgésiques, antipyrétiques et anti-inflammatoires,... (**Ramulu et al., 2001**).

Certaines plantes contiennent toute une gamme de matières efficaces qui peuvent avoir des actions très différentes suivant leur mode de préparations (macération, infusion, décoction) (**Schauenburg et Paris, 2013**). Diverses cultures appliquent des cataplasmes et des infusions imbibées de centaines, voire de milliers de plantes indigènes remontant à la préhistoire (**Tabuti et al., 2003**).

Bien que la récupération soit lente, l'utilisation thérapeutique des plantes devient de plus en plus répondeuse dans certains pays du monde, notamment les pays en voie de développement (**Tabuti et al., 2003**), en raison de leur abondance, leur coût faible, leur très faible toxicité et l'apparition de la résistance des micro-organismes aux antibiotiques. (**Surveswara et al., 2007**).

La flore Algérienne constitue un véritable réservoir phylogénétique, avec environ 4000 espèces et sous-espèces de plantes vasculaires (**Dobignard et Chatelain, 2010-2013**), dont seule 146 espèces sont dénombrées comme médicinales (**Baba Aissa, 1999**). Les métabolites secondaires de ces plantes ont été considérés comme une source essentielle de principes bioactifs en raison de leurs activités biologiques étendues et de leurs diverses propriétés thérapeutiques (**Hammiche et Gueyouche, 1988**).

Parmi ces plantes on trouve le fenugrec (*Trigonella foenum-graecum L.*), une plante riche en métabolites primaire et secondaire doués d'activités biologiques différentes. Dans ce contexte, le présent travail s'est fixé comme objectif d'évaluer in vitro l'activité antimicrobienne de mucilage (préalablement extrais et caractérisé) des grains de *Trigonella foenum-graecum L.* contre quelques bactéries à Gram positifs et à Gram négatifs.

Partie I. Synthèse bibliographique

Chapitre I. *Trigonella foenum-graecum* L.

I.1. Historique

Le fenugrec, Trigonelle ou Trigonella (du latin *trigonus*, triangulaire, allusion) est une plante d'origine méditerranéenne, aromatique et médicinale très ancienne (**Shirani et Ganesharane, 2009**). Elle a été cultivée en Afrique, en France, en Égypte aux Indes et de partout dans le monde (**Alarcon et al., 1998**). Elle porte le nom latin de *foenum-graecum* « foin grec » puisqu'elle a été utilisée comme fourrage à l'époque des romains. Cette plante a été utilisée comme remède apaisant depuis des siècles. De plus, elle a aussi de ses propriétés digestive, soulageait l'inflammations et les douleurs rhumatismales (**Sauvaire et al., 1996**).

I.2. Description botanique

Le Fenugrec est positionné comme deuxième grande famille des plantes fleurissant avec 650 genres et 1800 espèces c'est la famille des légumineuses : Fabacées (**Basma et al., 2017**). Plante herbacée annuelle, poilue ou glabre selon les variétés, peut atteindre 50 cm de haut et renferme des dizaines minuscules graines (**Madhava et al., 2011**) (figure 1). La plante est caractérisée par une odeur épicée. Elle possède de nombreuse ramification sur la tige et des feuilles de forme ovale séparées en trois parties (trifoliolées) avec une couleur blanche jaunâtre qui renferme les graines. Le fruit est une gousse allongée, arquée, pouvant atteindre 20 cm de long et renfermant de nombreuses graines (10 à 20), très dures, aplaties, mesurant 3 à 5 mm de long et 2 à 3 mm de large, de couleur brun clair à brun rougeâtre, marquées par un sillon qui délimite les deux parties inégales (**Ghedira et al., 2010 ; Yadav et Baquer, 2014**).

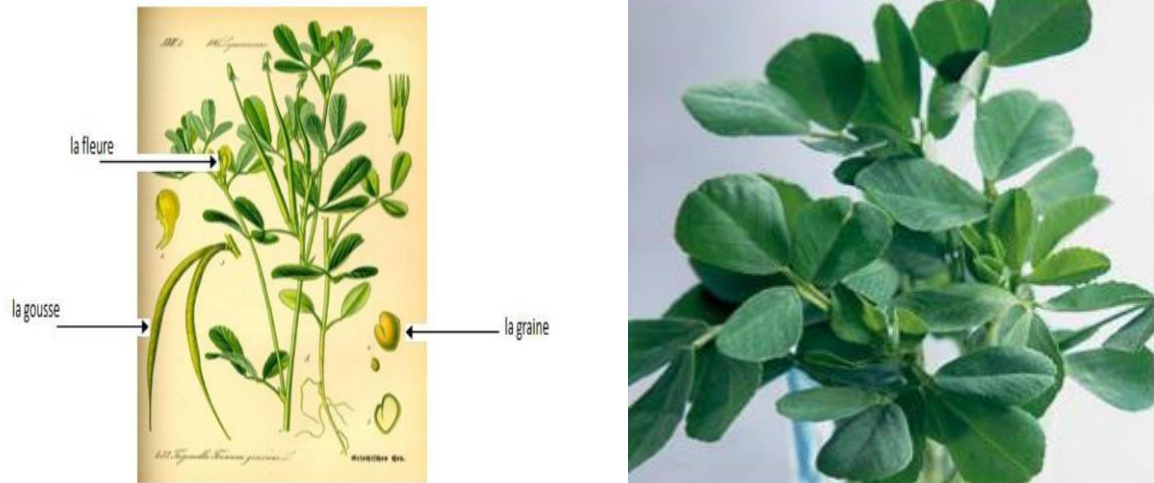


Figure 01. Feuilles et graines de *Trigonella foenum-graecum L.* (Oueslati et Ghédira, 2015)

I.3. Systématique

Le fenugrec ou *Trigonella foenum-graecum L.*, est une petite plante légumineuse, connue sous le nom d'alheba et aussi de henegriego ou fenogreco (Bermejo et León, 1994).

Elle présente la systématique suivante (Yadav et Baquer, 2014) :

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Rosidae

Ordre : Fabales

Famille : Fabaceae

Genre : *Trigonella*

Espèce : *Trigonella foenum-graecum L.*

Nom binomial : *Trigonella foenum-graecum L.*

I.4. Métabolites des plantes

Les plantes renferment une part importante des composés qui interviennent dans l'ensemble des réactions enzymatiques ou biochimiques ayant lieu dans l'organisme. Les métabolites sont des molécules issues du métabolisme des végétaux ou d'animaux. On distingue deux classes de métabolites : métabolites primaires et métabolites secondaires (**Hartmann, 2007**). Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie, en alimentation, en cosmétologie et dans le domaine de la pharmacie. Cette dernière utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale (**Bahorum, 1997**).

I.4.1. Métabolites primaires

Sont des composés chimiques synthétisés par les cellules des plantes parce qu'ils sont indispensables pour leur croissance et leur développement. Les préposés de la survie significative sont généralement : les glucides, les lipides et les aminoacides (protéines) (**Diallo, 2000**).

I.4.2. Métabolites secondaires

Sont des composés phytochimiques qui assurent des fonctions non essentielles, de sorte que leur absence n'est pas létale pour l'organisme. Ils sont nécessaires à sa défense contre les agressions extérieures. Les métabolites secondaires qui sont émis en très faible quantité marquent de manière originale, un genre, une famille ou une espèce de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique (**Diallo, 2000**).

Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches, ils ont un intérêt multiple dans l'industrie alimentaire, cosmétique et pharmaceutique. Au début du XX^{ème} siècle, des synthèses de composés analogues (métabolites secondaires) ont commencé à naître ; et afin d'augmenter leurs efficacités pharmacologiques, des études des structures et des activités biologiques issues des dérivés prénylés de ces métabolites ont été réalisées. Les métabolites secondaires constituent un groupe de produits naturels qu'il convient d'explorer

pour leurs propriétés antioxydants, anti microbiennes, anti-inflammatoires et anti carcinogènes ou mutagènes (**Epifano et al., 2007**).

Parmi les principales familles de métabolites secondaires trouvées chez les plantes on distingue :

- Les composés phénoliques qui interviennent dans les interactions plante-plante (allélopathie, inhibition de la germination et de la croissance). Parmi ces composés, on citera les polyphénols, les lignines, les stilbènes, les flavonoïdes, les phénylpropanoïdes, les anthocyanes et les tannins.
- Les alcaloïdes, renferme un atome d'azote dans la structure. Ils sont synthétisés à partir d'acides aminés. On citera la nicotine, l'atropine, la codéine, la lupinine.
- Les huiles essentielles sont des liquides concentrés et hydrophobes des composés aromatiques volatils d'une plante, ces essences sont très volatiles et non miscibles à l'eau.

1.5. Composition chimique du fenugrec

Les tests phytochimiques réalisés sur *Trigonella foenum-graecum L.* montrent qu'il contient divers substances actifs dont on peut citer : les polyphénoliques, les substances volatils et des acide amènesetc. Elles sont constituées de près de 50% de fibres dont 20% de mucilage (**Shirani et Ganesharane, 2009**). Les graines sont riches en carbohydrates (45 à 60%), en protéines, surtout la lysine et tryptophane avec un pourcentage de 28%. à 10% de lipide. 0,2 à 0,38% des alcaloïdes (pyridine principalement trigonelline, la choline (0,5%), les flavonoïdes (apigénine, lutéoline, orientine, quercétine, vitexine et isovitexine), 0,09% des acides aminés libres tels que la 4-hydroxy-isoleucine. 0.6 à 1.7% de calcium et de fer, du β -carotène et une huile essentielle (environ 0,015%) mais aussi à des constituants volatils (sesquiterpènes, lactones, etc.) (**Oueslati et Ghédira, 2015**). On trouve aussi : les saponines, le cholestérol, les vitamines A, B1, C (**Mehrafarin et al., 2010 ; Kor et al., 2013**). La variété biologique des constituants chimiques du fenugrec lui contribue à ces actions biologiques.

1.6. Utilisation de la plante

Grâce à la richesse de ses graines leurs composés chimiques, El'helba se révèle être d'une grande valeur alimentaire et présentent de multiples vertus phytothérapeutiques

(Harchane et al., 2012). Il stimule l'appétit et soulage les troubles digestifs et respiratoires et arrête la constipation. Il lutte contre la chute des cheveux **(Yadav et Baquer, 2014)**.

En Égypte antique, il a été employé pour la douleur menstruelle, pour soulager l'accouchement et pour augmenter l'écoulement de lait **(Yadav et Baquer, 2014)**, aussi pour embaumer les morts et purifier les habitations et des lieux de culte. On peut l'utiliser encore dans le traitement de diabète ; bronchites ; amaigrissement ; arthrites, pour soulager les problèmes de l'estomac des touristes et aussi dans la fabrication du pain. Les Grecs et les romaines ont utilisés le fenugrec dans la médecine et aussi comme fourrage pour les animaux **(Schauenburg et Paris, 2013)**.

Plusieurs travaux ont été réalisés pour mettre en évidence une application thérapeutique nouvelle de cette plante telle que le traitement contre le cancer, les dyslipidémies, les inflammations, et les infections **(Wani et Kumar, 2018)** et aussi dans la prévention cardiovasculaire **(Mukthamba et Srinivasan 2015)**.

I.7. Propriétés biologiques du fenugrec

Plusieurs études sur cette plante montrent qu'elle possède certaines activités biologiques **(Mishra et al., 2016)** ; l'étude menée par **Lipipun et al., 2002** a montré que l'extrait brut des graines de fenugrec a une activité antibactérienne sur certaines bactéries. Cette activité est due à des produits actifs.

I.7.1. Les polysaccharides

Ce sont des macromolécules homo ou hétéro polymères d'oses neutres et/ou d'acides, de structure plus ou moins ramifiée, avec ou sans substitution par des groupements tel que l'acétate, le succinate, le pyruvate ou le sulfate. Durant les deux dernières décennies, les chercheurs ont réévalué l'importance des glucides et, envisagent pour eux de nombreuses applications notamment dans le secteur biomédical, en raison de leur large spectre de propriétés thérapeutiques, de leur abondance, de leurs sources renouvelables, non-toxiques et biodégradables **(Renaud et al., 2005)**. On distingue les polysaccharides de réserve (amidon, caroube), les polysaccharides de structures (cellulose, hémicellulose, pectines), les polysaccharides exsudats (gomme arabique) et enfin les mucilages **(Warrand, 2004)**.

I.7.2. Mucilages

Ce sont des macromolécules osidiques qui se dissolvent plus au moins au contact de l'eau pour former des solutions colloïdales ou des gels. Ils sont considérés comme des constituants cellulaires normaux, préexistants dans des formations histologiques spéciales (**Rahmani, 2015**). Les rôles des mucilages sont très divers, notamment leurs rôles protecteurs. En outre, leurs caractéristiques hygroscopiques et épaississantes recouvrent toutes les autres fonctions (**Matthews et Endress, 2006**). Les graines de fenugrec sont constituées de près de 50% de fibres dont 20% de mucilage (**Rahmani, 2015**).

I.8. Propriétés thérapeutiques du fenugrec

Le Fenugrec possède plusieurs propriétés thérapeutiques parmi lesquelles, on cite :

I.8.1. Propriétés antioxydantes

Il contient des composés phénoliques et des flavonoïdes qui améliorent sa capacité antioxydante. Cette propriété lui rend efficace contre certaines maladies en raison de l'effort oxydant (**Priya et al ., 2011**). Elles peuvent retarder l'oxydation des lipides dans une variété des produits alimentaires (**Madhava et al., 2011**). Le fenugrec peut prévenir l'apparition de certains types de cancers, en particulier du colon, du sein, et de la vésicule biliaire (**Yadav et Baquer, 2014**).

I.8.2. Propriétés anti-inflammatoires et hepatoprotective

Lors de recherches *in vitro*, le fenugrec a démontré des capacités anti-inflammatoires et hepatoprotective. Les graines de *Trigonella foenum-graecum L.* agissent comme un agent protecteur contre les anomalies induites dans le foie (**Oner et al., 2008**). Elles sont aussi utilisées pour soulager les inflammations, les douleurs rhumatismes et les muscles endoloris et il soigne même les blessures cutanées (**Yacoubi et al., 2011 ; Yadav et Baquer, 2014**).

I.8.3. Propriétés anti-tumorale

Le fenugrec est très efficace contre le développement de cellules tumorales chez des rats. Il pourrait améliorer la numération des cellules macrophages chez les rats (**Snehlata et Payal, 2011**).

I.8.4. Propriétés antidiabétique

L'activité hypoglycémiant du fenugrec a été démontrée à travers plusieurs études (**Ramulu et al ., 2011**). Le fractionnement des constituants des graines et l'évaluation biologique des fractions montrent que l'activité antidiabétique et hypocholestérolémiante sont liées à diverses fractions riches en fibres et en galactomannanes (**Shirani et Ganesharane, 2009**).

I.8.5. Propriétés antimicrobiennes

Depuis longtemps, la résistance microbienne a évolué jusqu'au point où elle est devenue un problème majeur de santé publique. La cause principale de cette résistance est l'infection nosocomiale. La recherche des agents anti-infectieux s'avère un besoin incontournable dans le monde entier (**Bouyahya et al ., 2017**). Pour cela il est parfois nécessaire de remplacer certains agents chimiques (antibiotiques) par des agents biologiques (naturels).

Le Fenugrec a des propriétés antimicrobiennes avec un large spectre d'action. Elles produisent des huiles à propriétés toxiques qui empêchent la croissance de ces bactéries. Elles ont aussi des effets antiviraux et antifongiques (**Thomas et al., 2006**).

Chapitre II. Principales espèces responsables de l'infection

Le traitement des infections bactériennes est basé principalement sur l'usage des antibiotiques. La consommation à grande échelle de ces antibiotiques a entraîné l'apparition de souches multi résistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers de nouveaux substituant, surtout les végétaux qui ont toujours constitué une source de remède dans les recherches médicales (**Ali-Shtayeh et al., 1998**).

II.1. Infection bactérienne

Est un ensemble de troubles qui résultent de la pénétration d'une bactérie pathogène dans un organisme. Elle peut être locale, générale et focale apportée par la circulation sanguine (**Marc et al., 2001**).

II.2. Caractéristiques des souches bactériennes utilisées

II.2.1. *Staphylococcus aureus*

Autrement appelé le staphylocoque doré est l'espèce la plus pathogène du genre *Staphylococcus*. C'est une bactérie à Gram positif sphérique ubiquitaire qui forme des amas réguliers ou irréguliers en grappe de raisin. Il est immobile et cultive sur des milieux contenant 5% de Na Cl. Il est aérobic ou anaérobic facultatif. Les staphylocoques ont un pouvoir pathogène opportuniste extrêmement large qui s'exerce avec une grande fréquence en milieu hospitalier. L'espèce *Staphylococcus aureus*, responsable d'infections pyogènes de la peau et des muqueuses (furuncle, impétigo, staphylococcie maligne de la face, staphylococcies bulleuses, etc.), mais aussi osseuses (ostéomyélite), digestives (entérocrites post-antibiotiques), septicémiques (**Leclerc et al., 1995**). Elle fait l'objet d'une surveillance particulière en ce qui concerne les souches résistantes à la Mécilline, les SARM, fréquemment impliquées dans les infections nosocomiales.

II.2.2. *Listeria monocytogenes*

C'est une bactérie à Gram positif du genre *Listeria*. C'est la seule espèce du genre *Listeria* pathogène pour l'homme provoquant la listériose. Il s'agit d'un bacille de petite taille, non sporulé, aéro-anaérobic facultatif, ubiquitaire, possédant une catalase et mobile à 20 °C. Selon certaines études, 1 à 10 % des humains seraient porteurs sains de *L. monocytogenes* dans leur intestin. L'infection par *L. monocytogenes* provoque une maladie

la listériose. C'est une septicémie d'origine digestive avec risque d'infection foeto-placentaire et de méningo-encéphalite. La maladie survient surtout chez des patients immunodéprimés sous chimiothérapie, et les femmes enceintes...) (OMS, 2004).

II.2.3. *Bacillus cereus*

Il s'agit d'un bâtonnet à coloration Gram positif habituellement observés en paires ou en chaînettes courtes, sporulant et aéro-anaérobie facultatif, mobile et capable de former des endospores, et ses colonies sont blanches d'aspect granuleux. Le bacille peut produire six types de toxines, à savoir cinq entérotoxines et une toxine émétique, qui peuvent être thermostables ou thermolabiles, selon les souches *Bacillus cereus* est responsable de toxi-infections caractérisées par des symptômes diarrhéiques et d'intoxications se traduisant par des symptômes émétiques (AFSSA, 2009).

II.2.4. *Escherichia coli*

Ce genre comprend 5 espèces, mais *Escherichia coli* est la plus importante. *Escherichia coli*, c'est un hôte commun de l'intestin de l'homme ($10^8/g$ de selles) et des animaux ; elle est recherchée à ce titre comme genre témoin de contamination fécale, dans l'eau et les aliments.

E. coli est un bacille à Gram négatif de la famille des *Enterobacteriaceae*. Certains de ces pathotypes sont responsables d'infections intestinales (gastro-entérites et diarrhées) leur pouvoir pathogène est induit par des facteurs d'adhésion et/ou la production d'entérotoxines. D'autres sont responsables de méningites néonatales, provoquent des infections du tractus urinaire, ou encore des septicémies qui correspondent à un nombre restreint de sérotypes (Kaper et Nataro, 2004).

II.2.5. *Klebsiella pneumoniae*

Appartient à la famille des entérobactéries, comporte cinq espèces dont l'espèce-type est *Klebsiella pneumoniae* qui est la plus fréquente des bactéries à Gram négatif impliquée dans les cas de pneumonies nosocomiales. Bacille immobile, aéro-anaérobie, à Gram négatif, oxydase négatif, nitrate réductase positif et qui fermente le glucose. Germe opportuniste impliqué dans des infections nosocomiales, généralement des infections urinaires, des pneumopathies et des septicémies. *K. pneumoniae* est naturellement résistant aux pénicillines (amoxicilline, ticarcilline) par production d'une beta-lactamase de classe A (Baouche et Touati, 2015).

II.2.6. *Pseudomonas aeruginosa*

Ce genre appartient à la famille des *Pseudomonadaceae*. Bacille à Gram négatif, ubiquitaire. Bacille d'aspect très fin, non sporulé, mobile grâce à un cil polaire. Souvent entouré d'une pseudo capsule. Aérobie *stricte* (mais respire les nitrates et peut se développer en anaérobie en leur présence). Elle peut, dans certaines conditions, être pathogène. Très résistante, avec d'autres bactéries à gram-négatif cette bactérie devient de plus en plus responsable d'infections nosocomiales. C'est l'une des bactéries les plus difficiles à traiter cliniquement. Le taux de mortalité atteint 50 % chez les patients vulnérables (immunodéprimés). Les formes de pathologie qu'elle engendre sont diverses : infection de l'œil, des plaies, des urines (surtout après sondages), gastro-intestinales et des poumons, des méningites d'inoculation, des septicémies comme stade terminal d'infections graves ou complication chez des malades (**Barbier et Wolff, 2010**).

Partie II. Matériel et méthodes

Ce travail a été réalisé en deux parties : la première partie phytochimiques a été effectuée au niveau du laboratoire pédagogique au niveau de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de Terre et de l'Univers, Université de Tlemcen. Et la deuxième partie concernant l'étude de l'activité bactérienne des extraits brutes de fenugrec sur certaines souches sera réalisé une fois que les conditions défavorables (à cause de virus de corona) soient bonnes, au niveau du laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire au Biomédicale et à l'Environnement "LAMAABE".

Au cours de notre travail, nous nous sommes intéressés à :

- Extraire et caractériser le mucilage des graines de *Trigonella foenum- graecum L.*
- Évaluer l'activité antibactérienne si possible, la réalisation de cette partie reste en attente à cause de confinement.

I.1. Matériel biologique

I.1.1. Matériel végétal

Les graines de *Trigonella foenum- graecum L* ou « el'helba » ont fait l'objet de cette étude, achetées durant le mois de Mars 2020 auprès d'un herboriste dans la wilaya de Tlemcen (sud-ouest de l'Algérie). Elles sont conservées loin d'humidité jusqu'à utilisation.



Figure 02. Graines de *Trigonella foenum-graecum L.* (photo anonyme)

II.1.1.1. Préparation des extraits

II.1.1.2. Extraction de mucilage

Le but de cette étape est d'extraire les mucilages contenus dans les graines de *Trigonella foenum-graecum L.* L'extraction de mucilage a été réalisée selon le protocole décrit par **Verma et al., (2014)** avec quelques modifications.

Dans un Erlenmeyer il faut,

- Mélanger 25 g de matériel végétale (graines) avec 200 ml d'eau distillée.
- Chauffer le mélange à 70°C pendant 15 min.
- Filtrer le mélange sur une mousseline et récupérer le filtrat.
- Laisser le filtrat récupéré se refroidir au réfrigérateur pendant 24 h.
- Ajouter 121 ml d'éthanol à 121 ml de filtrat. L'éthanol permet de précipiter le mucilage.
- Centrifuger le mélange à 3500 tours/min pendant 10min afin de récupérer le culot.
- Sécher le culot à 45°C.

La poudre obtenue est l'extrait brut de mucilage. Le rendement est calculé par la formule suivante:

$$\text{Rendement \%} = \frac{m_0}{m_1} \times 100$$

m_0 : Masse en gramme de l'extrait brut séché;

m_1 : Masse en gramme de la matière végétale initiale sèche.

Un schéma général du procédé d'extraction réalisé est présenté en figure suivante :

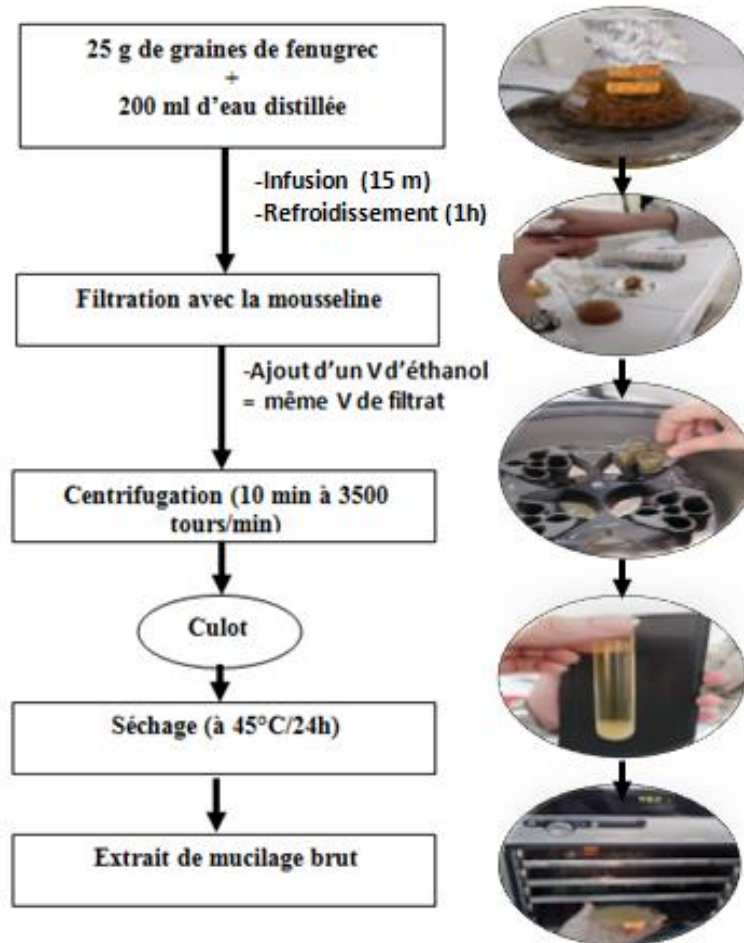


Figure 03. Représentation schématique des étapes de l'extraction des mucilages (Verma *et al.*, 2014)

Afin de caractériser les mucilages obtenus, une série de tests qualitatifs est réalisée.

II.1.2. Tests de caractérisation des mucilages

II.1.2.1. Dosage des sucres

Pour le dosage des sucres, on a utilisé la méthode de **Dubois *et al.*, (1956)** en utilisant le phénol et l'acide sulfurique concentré. Les oses donnent une couleur jaune-orange en contact avec ces deux réactifs dont l'intensité est proportionnelle à la concentration des glucides. La densité optique (DO) est déterminée entre 450 à 550 nm.

Le protocole du dosage se fait comme suite : les extraits obtenus sont solubilisés dans de l'eau. On mélange 1ml de la solution obtenue avec 1ml de phénol à 5% et 5ml d'acide

sulfurique pur. On le laisse agir pendant 30mn et on fait la lecture du DO devant un blanc contenant 1ml d'eau distillée et 1ml de phénol avec 5ml d'acide sulfurique. Une droite d'étalonnage de glucose est tracée afin d'estimer les concentrations des sucres dans les extraits analysés. L'expression des résultats se fait par la fonction suivante :

$$\text{ST (\%)} = [(C \times V) / P] \times 100$$

C : concentration en sucres de l'extrait en « mg/ml » (déterminée graphiquement).

V : volume de l'eau distillée en « ml ».

P : la prise d'essais (mg).

ST : sucres totaux.

II.1.2.2. Dosage des protéines

Le dosage des protéines se fait par la méthode de Biuret selon **Henry et al., (1964)**. Les protéines en solution alcaline forment avec les ions cuivriques un complexe colore d'absorbance mesurée a 540 nm. La détermination des différentes concentrations se fait a l'aide d'une droite d'étalonnage du sérum albumine bovine (SAB).

Pour le dosage des protéines on réalise les étapes suivantes :

Étape 1 : on prépare le réactif de biuret pour 250 ml d'eau distillée.

- on solubilise 11,5g de NaOH dans 150ml d'eau distillée.
- on ajoute les réactifs suivant successivement au mélange précédent : 0,28g de CuSO₄, 0,25g de KI et 1,48g de tartrate double sodium potassium.
- on ajuster le volume a 250ml par l'eau distillée.

Étape 2 : on prépare de la SAB.

- on pèse 0,2g de la SAB dans 20ml d'eau distillée.
- on réalise des dilutions en cascade.

Étape 3 : on prépare des extraits.

- on solubilise 0,01g de chaque extrait (brut ; purifié) dans 10ml d'eau distillée.

Étape 4: dosage.

- on prépare une série de tubes, extraits, blanc et SAB. On prévoit 3 tubes (essais) pour chaque extrait ou la SAB.

- Dans les tubes, on met 100µl de la solution à doser (extrait ou SAB) et 1ml du réactif de biuret.

Le réactif de biuret est utilisé comme blanc pour calibrer le spectrophotomètre.

Les tubes sont incubés à l'ombre pendant 30min puis l'absorbance est lue à 540nm.

L'expression des résultats se fait par la fonction suivante :

$$\mathbf{Pr\ (\%)} = [(C \times V) / P] \times 100$$

C : concentration en protéines de l'extrait en « mg/ml » (déterminée graphiquement).

V : volume de l'eau distillée en « ml ».

P : la prise d'essais (mg).

Pr : taux de protéines.

II.1.2.3. Tests phytochimiques

a. Flavonoïdes

On mélange 5 ml de chaque extrait (brut, purifié) avec des gouttes de HCl concentré. Puis, on ajoute une quantité de tournures de Magnésium et on laisse le mélange agir. La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition d'une couleur rouge orange (**Karumi et al., 2004**).

b. Tanins

On ajoute 2 à 3 gouttes de solution de FeCl₃ (2%) à 2ml de chaque solution testée et on laisse reposer quelques minutes. La présence de tanins donne une coloration bleue-noire et un précipité (**Karumi et al., 2004**).

c. Amidon

Tout d'abord, il faut préparer le réactif d'amidon pour cela on mélange 1,2g d'I₂ et 2,5g de KI dans 500ml d'eau distillée. On traite les extraits, brut et on les purifie avec le réactif d'amidon. L'apparition d'une couleur bleue violacée indique la présence d'amidon (Benmehdi, 2000).

d. Acides aminés

Pour chaque ml d'extrait à tester on ajoute 1ml de la solution de ninhydrine préparée dans l'acétone ou l'éthanol dont la concentration est de 1%. On chauffe dans un bain marie et observe le changement de couleur. La présence des acides aminés donne une couleur violette (Harbone, 1998).

II.1.3. Évaluation de l'activité antibactérienne

On désire évaluer l'activité antibactérienne de mucilage extrait à partir des graine de *Trigonella foenum-graecum L.*

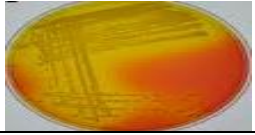





II.1.3.1. Souches utilisées

L'étude de l'activité antibactérienne de mucilage extrait à partir de graines de fenugrec, est réalisée vis-à-vis six souches bactériennes (tableau 01). Ce sont des bactéries à Gram positifs et négatifs causant plusieurs maladies infectieuses. Les six souches bactériennes qui seront testées sont fournies par le laboratoire « LAMAABE » de l'Université de Tlemcen.

Les bactéries utilisées sont les suivantes:

- **Trois souches à Gram positifs** : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Listeria monocytogenes* ATCC 15313 et *Bacillus cereus* ATCC 10876.
- **Trois souches à Gram négatifs** : *Escherichia coli* ATCC 25912, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

Tableau 01. Principales caractéristiques des souches microbiennes utilisées pour l'étude de l'activité antibactérienne

<i>Espèce</i>	<i>Origine</i>	<i>Gram</i>	<i>Forme et mobilité</i>	<i>Caractère biochimique</i>	<i>Habitat</i>	<i>Pouvoir pathogène</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	Positif	Cocci immobile 	Aérobie facultatif, Catalase +, Oxydase -, Coagulase +.	Peaux muqueuses	Infection pyogène grave, infections nosocomiales et cutanés
<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC 15313		Mobile à 20 °C 	Aéro-anaérobie facultatif, Oxydase -, Catalase +,	Sol, lacs, rivières, eaux d'égouts, végétation	Listériose
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 10876		Bacille mobile 	Aéro-anaérobie facultatif, Oxydase -, Catalase +.	Sol, poussières, eau, air et plantes.	Toxi-infections Alimentaires Collectives (TIAC)
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25912	Négatif	Bacille mobile 	Aéro-anaérobie facultatif, Oxydase -, Catalase +.		Colite hémorragique
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 700603		Bacille immobile 	Aérobie facultatif, Oxydase -, Uréase +.	Sol, eau, commensal de tube digestif et voies respiratoires supérieures.	Infections pulmonaire, urinaires, Angines.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027		Bacille mobile 	Aérobie facultatif, Oxydase +, Catalase +, Uréase +.	Sols humides, milieux hospitalier	Infections oculaires et pulmonaires, septicémie.

II.1.3.2. Préparation des suspensions bactériennes

Après l'obtention des souches, un repiquage est pratiqué. La procédure de revivification est faite successivement sur bouillon nutritif et sur gélose nutritive.

Pour s'assurer de la validité des résultats obtenus, un contrôle de qualité a été effectué par la réalisation d'un antibiogramme des souches vis-à-vis de des antibiotiques de référence. Les résultats sont interprétés par mesure du diamètre en mm de la zone d'inhibition autour du

disque et comparés aux limites acceptables des diamètres d'inhibition de la société française de microbiologie (Ca-SFM, 2013).

II.1.4. Recherches de l'activité antimicrobienne

L'activité antibactérienne est analysée par la méthode des puits ou cylindres contre les six bactéries. Les méthodes utilisées pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne sont inspirées de celles écrites par les recommandations du comité européen des tests de sensibilité antimicrobienne et de la société française de microbiologie (Ca-SFM, 2017).

Le criblage des extraits des graines de *Trigonella foenum-graecum L* réalisé par la technique de diffusion en puits. Les produits qui semblent être actifs, résultat révélé par l'apparition de zones d'inhibitions.

II.1.4.1. Inoculum

Chaque espèces bactérienne est mise en culture séparément à 37°C/24 h sur un bouillon nutritif puisensemencées par écouvillonnage sur une boîte de pétri contenant la gélose nutritive à 37°C pendant 24h d'incubation, afin d'obtenir une culture jeune des bactéries et des colonies isolées.

L'étape suivante vise à préparer l'inoculum en prélevant à l'aide d'une pipette pasteur une à deux colonies bien isolées et parfaitement identiques, et les suspendre dans 9 ml d'eau physiologique stérile (9g NaCl/l). (OMS, 2005).

La densité de l'inoculum est fixée entre 0,08 à 0,1 à une longueur d'onde de 625 nm correspondant au standard 0,5 Mc Farland équivalent à 10^8 UFC/ml. L'inoculum peut être ajusté en ajoutant de la culture si la DO est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile si elle est trop forte (Aboun *et al.*, 2008). L'inoculum ainsi préparé est ensuite dilué au $1/100^{\text{ème}}$ dans l'eau physiologique. La densité finale de colonie obtenue est équivalente à 10^6 UFC/ ml par la technique de diffusion des disques sur milieu solide. La technique utilisée pour étudier l'effet des extraits est celle de la diffusion sur milieu solide (par puits : contact direct).

II.1.4.2. Ensemencement des milieux de cultures sur boîtes de Pétri et réalisation des puits

Cette méthode suit pratiquement le même principe de l'antibiogramme décrit par Kirby-Bauer (1960) et standardisée par le comité national des normes pour laboratoires cliniques. Elle peut prévoir avec certitude l'efficacité *in vivo* du produit en question (**Prescott et al., 2005 ; NCCLS, 2003**). Elle est basée sur la diffusion des substances à tester qui sont imprégnées dans des puits sur un milieu solide ensemencé avec création d'un gradient de concentration après un certain temps de contact entre ces substances et le microorganisme ciblé. L'effet du produit antibactérien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition (**Hellal, 2011**).

II.1.4.3. Mode opératoire

Après préparation et stérilisation du milieu Mueller Hinton, 20 ml du milieu sont coulés dans des boîtes de pétri de 90 mm de diamètre et l'épaisseur doit être impérativement de 4 mm. Le milieu est laissé se solidifier sur une surface froide dans des conditions aseptiques. Il faut éviter que des gouttelettes d'eau se forment à la surface de la gélose, phénomène pouvant altérer les qualités de diffusion sur le milieu. L'ensemencement est fait par écouvillonnage en stries sur toute la surface du milieu en 3 reprises en faisant tourner la boîte de pétri de 60° après chaque application. L'inoculum doit être bien réparti sur la surface de la gélose afin d'obtenir une bonne reproductibilité des diamètres de la zone d'inhibition.

Avec les bactéries à Gram négatif, les inoculums trop lourds sont à éviter en prenant soin d'essorer l'excès de liquide sur l'écouvillon en le pressant légèrement à l'intérieur du tube avant l'ensemencement (**Pfaller et al., 2010**).

Après l'ensemencement et le séchage des boîtes de pétri, les puits sont comblés avec l'extrait de *Trigonella foenum-graecum L.* Et les semences sont mises à incuber à 37°C pendant 18 heures, voir (**Figure 04**). Il est recommandé de ne pas la raccourcir ou l'allonger mais souvent des résultats satisfaisants peuvent être obtenus dès la 6^{ème} heure (**Pfaller et al., 2010**). Les concentrations seront déterminées en se basant sur des études précédentes.

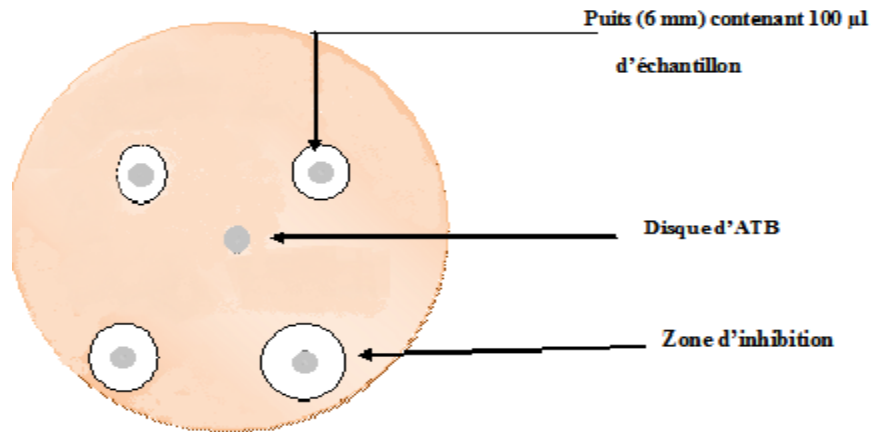
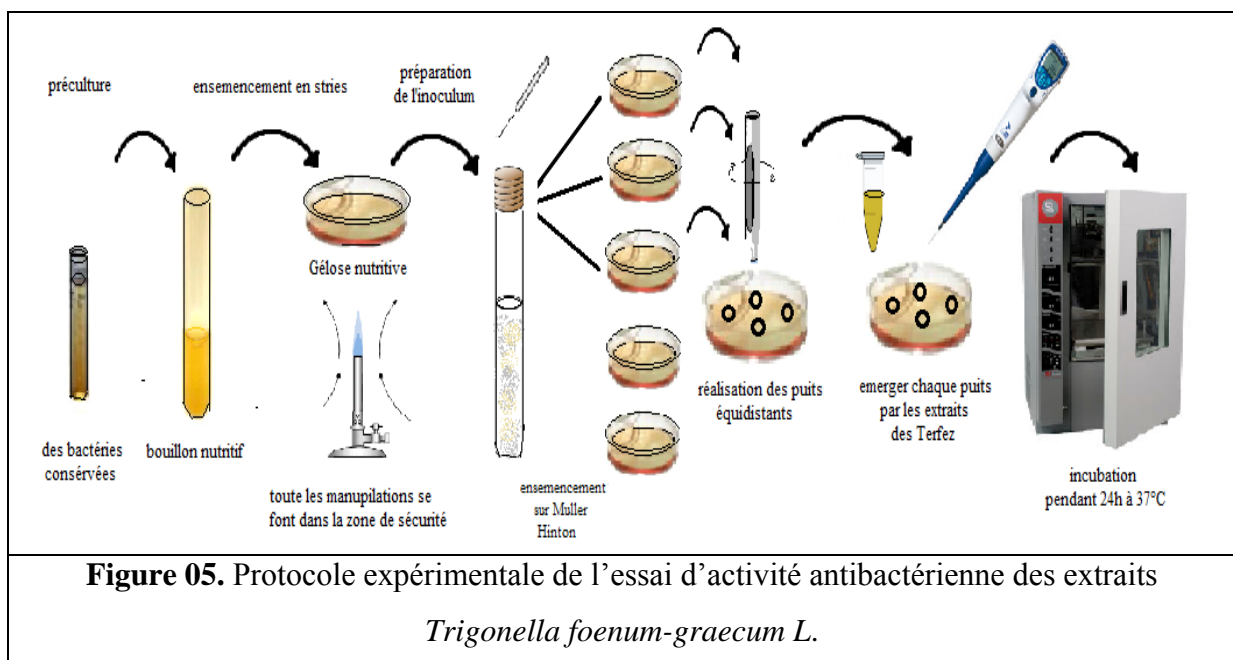


Figure 04. Évaluation de l'activité antimicrobienne

Pour la lecture, la bordure de la zone d'inhibition correspond à une inhibition complète de la culture observée à l'œil nu (Janakat et al., 2005). Lire les géloses Mueller Hinton à l'envers sur un fond noir avec une lumière réfléchissante (Pfaller et al., 2010). La mesure du diamètre d'inhibition est la moyenne de trois mesures.



II.1.4.4. Lecture des résultats

L'activité antibactérienne est considérée comme positive à partir d'un diamètre supérieur à 6 mm (Nath et al., 2008 ; Rahmoun, 2009). Ce produit peut avoir :

- Très forte activité : diamètre = 30 mm ; forte activité diamètre 21-29 mm

Partie II. Matériel et Méthodes

- Moyenne activité : diamètre 16-20 mm ; faible activité diamètre 10-15mm
- Petite ou pas d'activité : diamètre =9 mm

Partie III. Résultats et discussions

III.1. Extraction

Dans le présent travail, on s'intéresse à étudier les mucilages, la caractérisation et l'activité biologique de *Trigonella foenum-graecum L.* Les mucilages sont des polysaccharides hétérogènes comprenant du D-mannose dans leur structure qui assurent plusieurs fonctions pour la plante. Les mucilages interviennent dans les réponses aux interactions hôte-pathogène les blessures, le transport de l'eau et dans la réponse aux stress abiotiques (Ghanem *et al.*, 2010).

L'extraction a été effectuée selon le protocole décrit par Verma *et al.*, (2014), il s'agit d'une extraction avec de l'eau chaude suivie d'une précipitation à l'éthanol. Après centrifugation et séchage, on a obtenu un extrait brut de couleur marron, le rendement d'extraction obtenu est de 1.2% (tableau 02). L'utilisation de la poudre à la place de la plante entière à pour but d'améliorer l'extraction, de rendre l'échantillon plus homogène, augmenter la surface du contact avec le solvant et faciliter sa pénétration à l'intérieur des cellules qui ne sont pas détruites après le broyage.



Figure 06. Extrait des mucilages bruts (Photo anonyme)

L'extrait brut de mucilage préparé à partir des graines de *Trigonella foenum-graecum L.* par la méthode d'infusion présente un aspect cristallisé (Figure 06), l'observation des résultats obtenus nous a permis de conclure que l'extrait brut de la présente étude est faible en molécules polaires. Dans une étude menée par Ben Aissi (2019), l'extrait aqueux des graines de *Trigonella foenum-graecum L.* a présenté un aspect marron foncé riche en molécules polaires et le rendement de l'extrait aqueux est plus élevé 55.24%, ce qui permet de dire que les molécules existantes sont fortement polaires.

Tableau 02. Aspect, couleur et rendement de l'extrait mucilagineux

Extrait	Aspect	Couleur	Rendement %
Mucilage	Poudre	Marron	1.2 %

Plusieurs études ont démontré un pourcentage de rendement plus élevé, on utilisant autre mode d'extraction et autres solvants. Dans une étude réalisée par **Valliappan et al. (2015)**, ils ont démontré que l'extrait hydroalcoolique de *Trigonella foenum-graecum L.* présent un rendement élevé de 29,19%. **Bukhari et al., 2008** ont noté un rendement de l'extrait méthanolique de 25.89%. **Mishra et al. (2016)** ont donné un rendement de 9,2 % pour un extrait méthanolique préparé par Soxhlet.

Une technique d'extraction assistée par micro-ondes a été développée pour optimiser l'extraction du mucilage des fruits de la plante *Trigonella foenum graecum L.* Cette méthodes d'extraction nécessitent un temps plus court, moins de solvants, un taux d'extraction plus élevé et à moindre coût (**Fulzale et al., 2005**). Dans une étude rapporté par **Desai et al., (2014)**, la standardisation micro-ondes a été effectuée à plusieurs intensités et durées. L'utilisation d'une intensité de 320 W et d'une durée de 20 minutes pour le chauffage a donné une augmentation de 61,53% du rendement en mucilage, tandis qu'à 30 min, une augmentation de 76,92% du rendement en mucilage par rapport à une méthode de chauffage conventionnelle d'une heure. Le processus des micro-ondes est l'une des méthodes simples, rapides, propres, économise d'énergie, de carburant et d'électricité. Le temps de réponse est très court et de meilleurs rendements des produits. Cette technique permis l'accélération de la réaction organique et la destruction des cellules végétales et des tissus végétaux (**Desai et al., 2014**).

Le taux de rendement observé dans cette étude (1,2%) peut être influencé par la technique d'extraction, la nature des solvants utilisés, et la variété de la matière première (**Fedeniuk et Biliaderis, 1994**) et les conditions climatiques dures (la température élevée, exposition solaire, sécheresse, salinité). Dans notre étude on a utilisé comme solvant l'eau, qui est un solvant fortement polaire connu pour extraire une large gamme de molécules (**Bonnailie et al., 2012**). Néanmoins l'extraction aqueuse est faite à température élevée provoque la perturbation des cellules facilitant la pénétration du solvant et la solubilisation des molécules et augmente le rendement des extractions (**Albano et Miguel, 2011**), c'est la raison pour laquelle, l'infusion a été effectuée pendant un temps réduit (15 min). Selon **Barbary et al., (2009)**, le taux de rendement en mucilage peut aller de 3,0% à 5,2% après un temps d'extraction de 1 à 8h à 25°C, mais elle augmente jusqu'à 8,0% si l'extraction a été réalisée pendant 8 h à 100°C.

III.2. Tests de caractérisation des mucilages

III.2.1. Dosage des protéines et des sucres

Le tableau 03 représente les résultats de dosages des protéines et des sucres effectués sur les différents extraits de *Trigonella foenum-graecum L.* On a constaté que les protéines sont absentes et les sucres sont présents.

Tableau 03. Caractérisation des protéines et sucres dans les extraits de mucilage

Mucilage brute	
Protéines	Absent
Sucres	Présent

Ces résultats sont différents avec ceux obtenus par *El-Mahdy* et *El-Sebaiy*, 1984 où les protéines ont été présentes avec un taux de 16%. Cette différence est explicable par la technique d'extraction utilisée, et l'utilisation de la centrifugation au lieu de la filtration.

III.2.2. Tests phytochimiques

Le screening phytochimique de mucilage a révélé la présence de tanins et absence de flavonoïdes, d'acides aminés et l'amidon.

Tableau 04. Résultats de quelques tests phytochimiques

Métabolites	Résultats
Flavonoïdes	Absent
Amidon	Absent
Tanins	Présent
Acide aminées	Absent

Les tests phytochimiques (tableau03) des mucilages obtenus dans ce travail ont révèlè l'absence des flavonoïdes et des acides aminées, l'amidon et la présence des tannins dans les extraits de mucilage préparés. Selon **Verma et al., (2014)**, ces résultats sont considérés comme une preuve de la pureté des mucilages. Les résultats obtenu dans cette étude ne sont pas en accord avec ceux de **Verma et al., (2014)**, qui ont constaté une absence de tanins. Par contre l'étude menée par **Kumari et al. (2016)** a démontré la présence des flavonoïdes, de tanins, des sucres réducteurs et même d'autres molécules bioactives telles que les glycosides et les stéroïdes. Plusieurs autres études ont démontré aussi la présence des flavonoïdes et des tanins (**Sumayya et al. 2012 ; Mishra et al. 2016**). La diversité de la composition phytochimique entre les études menées et la notre peuvent être expliquées par l'origine de la plante, sa maturation, la période et l'origine de la récolte et aussi la nature des composés recherchés dans chaque étude.

En raison des circonstances actuelles (Covid 19), nous n'avons pas pu continuer les étapes de la première partie expérimentale, le dosage de certains paramètres phytochimique et les calculs de ces rendements des sucres et de tanins.

III.3. Évaluation de l'activité antibactérienne

Dans cette partie on a souhaité tester l'activité antibactérienne de l'extrait brut de mucilage de *Trigonella foenum-greacum L.* vis-à-vis trois souches bactériennes à Gram positifs : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Listeria monocytogenes* ATCC 15313 et *Bacillus cereus* ATCC 10876 et trois souches à Gram négatifs : *Escherichia coli* ATCC 25912, *Klebsiella pneumonia* ATCC 700603 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 via la méthode de diffusion en puits. Toujours les circonstances actuelles ont empêché la réalisation de cette deuxième partie expérimentale, ce travail reste préliminaire et mérite d'être reconduits. Pour cela dans cette partie on va essayer justifier notre choix de cette étude, en discutant les résultats de quelques travaux antécédents.

Les résultats rapporté par **Ben Aissi, 2019** révèlent que de l'extrait aqueux (EAQ) exerce un effet antibactérien très fort sur *Staphylococcus aureus* et *Bacillus Subtilus* avec des zones d'inhibition compris entre 25 à 29,5 mm et 26 à 28,5 mm respectivement, en trois concentration différents (200 mg/ml, 600 mg/ml, 900mg/ml). Mais aucun effet sur *E. Coli*. L'extrait aqueux (EAQ) de *Trigonella foenum-greacum L.* obtenue par **Mawahib et al., 2015**

possède une forte activité antibactérienne avec *S. aureus* et *Bacillus* et ne présente aucune effet sur l'*E. Coli*. Le dépistage de l'activité antimicrobienne rapporté par **Kumari et al., 2016** a montre également de bons résultats chez *Bacillus subtilis* et *Candida parapsilosis* à des concentrations plus faibles.

L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux des graines *Trigonella foenum-graecum* L pourrait être expliquée par la présence dans celles-ci de substances hydrosolubles dotées d'une action inhibitrice sur la croissance bactérienne car ces graines contiennent divers composés chimiques : des polyphénols, flavonoïdes, alcaloïdes, terpénoïdes, saponines, stérols et tanins (**Djellouli et al., 2013**). L'activité antibactérienne des l'extraits dépend d'un certain nombre de facteurs : la période de récolte, les conditions climatiques, la méthode d'extraction, la composition chimique, la solubilité dans d'autres solvants organiques, ainsi que les types de microorganismes testés et les conditions de la réalisation des tests (**Al-Reza et al., 2010; Obeidat et al., 2012**). Ces bioprocédés phytochimiques et antimicrobiens confirment que les graines de *Trigonella Foenum gracum L.* ont de bons composés médicinaux et thérapeutiques. En observant les récentes études de recherche, il peut également être utilisé pour réduire le niveau de glucose et peut être utilisé comme l'un des meilleurs composants antidiabétiques (**Geberemeskel et al., 2019**).

D'autre part l'étude de l'activité antibactérienne de mucilage des différente plantes a fait l'objectif de plusieurs études. L'activité antibactérienne du mucilage d'extrait du *Spathodia campanulata* (P. Beauv) sur diverses souches bactériennes a été étudiée par **Alvikar Annapurna et al., 2017**. Les résultats ont montré que le mucilage des tubercules avait un effet antibactérien contre diverses souches bactériennes telles que *E. coli*, *K. pneumonia*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* et *S. pyogens*. En général, les extraits étaient les plus actifs contre les bactéries à Gram positif. L'étude rapportée par **Begum et Anbazhakan (2013)** a montré que les extraits de mucilage de *Dioscorea esculenta* (Lour.) testé in vitro des cinq souches bactériennes : *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus pyogens* ont montré une activité antibactérienne contre *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* alors aucune activité n'a été montrée par cet extrait contre *Klebsiella pneumonia* et *Streptococcus pyogens*.

De même, des travaux menés par **Barek (2015)** ont montré l'efficacité de mucilage extrait de graines de Lin vis-à-vis de quelques souches responsables d'infections bactériennes chez l'homme.

Conclusion

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Une étude des propriétés antimicrobienne a concerné une plante appartient à la famille des légumineuse, employée en Algérie grâce à ses propriétés thérapeutiques. Les graines de *Trigonella foenum-greacum L.* Elles sont constituées de près de 50% de fibres dont 20% de mucilage.

Dans le présent travail, nous nous sommes intéressés à l'extraction de mucilage de graines de *Trigonella foenum-greacum L.* et sa caractérisation.

D'après les résultats obtenus, on peut conclure que ce mucilage est riche en sucres, tannins. D'autres molécules testées sont absentes (protéine, flavonoïde, acides aminés et amidon).

Compte tenu aux conditions actuelles, on n'a pas pu continuer la deuxième partie de ce travail : l'évaluation de l'activité antimicrobienne de ces extraits bruts, donc on peut rien conclure concernant cette partie. Les travaux antécédents ont confirmé que les extrait des gaine de *Trigonella foenum-greacum L.* possède une activité antibactérienne très importante, grâce à leurs constituants à activité biologique, qui sont considères comme des agents inhibiteurs et peuvent être employés pour des applications médicinales.

Pour enrichir ce travail, il est recommandé d'approfondir les travaux en essayant de :

- déterminer la composition exacte de mucilage par des méthodes physico-chimiques ;
- procéder à une purification de mucilage ;
- effectuer d'autres tests d'ordre qualitatif et quantitatif pour les métabolites secondaires contenus dans ce mucilage ;
- et évaluer son activité antibactérienne vis-à-vis des souches bactériennes responsables d'infection.

Références

Bibliographiques

1. **Aboun. A., Ammari. H., Belazouz. T., Benslimani. A., Rahal. K., Tali M.H., (2008).**Standardisation de l'antibiogramme en médecine vétérinaire à l'échelle nationale. Selon les recommandations de l'OMS. Ministère de l'Agriculture et du développement rural, Ministère de la santé, de la population et de la réforme hospitalière. 4ème Ed., Algérie, 98p.
2. **AFSSA. (2009).** Avis du 10 avril 2009 de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à la demande d'avis complémentaire concernant les références applicables aux denrées alimentaires en tant que critères indicateurs d'hygiène des procédés.
3. **Alarcon-Aguilara, F. J., Roman-Ramos, R., Perez-Gutierrez, S., Aguilar-Contreras, A., Contreras-Weber, C. C., & Flores-Saenz, J. L. (1998).** Study of the antihyperglycemic effect of plants used as antidiabetics. *Journal of ethnopharmacology*, 61(2), 101-110.
4. **Albano, S. M., Miguel, M. G. (2011).** Biological activities of extracts of plants grown in Portugal. *Industrial Crops and Products*, 33(2), 338-343.
5. **Ali-Shtayeh MS, Yaghmour R, Faidi, y, Salem K et Al-Nuri M. (1998).** Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. *J Ethnopharmacol*, 60, 265-271.
6. **Al-Reza, S.M., Rahman, A., Ahmed, Y. and Kang, S.C., (2010).**Inhibition of plant pathogens in vitro and in vivo with essential oil and organic extracts of *Cestrum nocturnum* L. *Pestic Biochem Physiol*, 96, 86–92.
7. **Alvikar Annapurna, R., Bhuiambar, M., Bhagvat, P., Dandge, P., Gaikwad, D. K. (2017).** Antibacterial activity of ethenolic extract of mucilage from various plant parts. *Journal of Pharmacy Research*, 11(6), 700-702.
8. **Andrade D. Gil C., Brietenfeld L., Domingues F. et Duarte A.P. (2009).** Bioactive extracts from citrus Iadamifer and *Arbutus unedo* L. *Industrial corp and products journal*,(30): 165-167.
9. **Baba Aissa F. (1999).** Encyclopédie des plantes utiles (Flore d'Algérie et du Maghreb). Substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident, Ed. Edas, 178 p.

10. **Badiaga M. (2011).** Étude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* (smith). Une plante médicinale africaine récoltée au Mali, Thèse de Doctorat, Université de Bamako, 137 p.
11. **Bahorum T. (1997).** Substances naturelles actives, la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle, Amas ; Food and agricultural research Council, Reduit Mauritins. France ; Universite de Lille I, p150.
12. **Baouche, M., Touati, A. E. (2015).** Etude du portage digestif des souches de bacilles à Gram négatif productrices de carbapénèmases isolées aux CHU Khelil Amrane.
13. **Barbier, F., Wolff, M. (2010).** Multirésistance chez *Pseudomonas aeruginosa*-Vers l'impasse thérapeutique. *médecine/sciences*, 26(11), 960-968.
14. **Begum, A. T., Anbazhakan, S. (2013).** Evaluation of antibacterial activity of the mucilage of *Dioscorea esculenta* (Lour.) Burkill. *Int. J. Mod. Biol. Med*, 4, 140-146.
15. **Ben Aissi, H. A. L. I. M. A. (2019).** *Evaluation des activités biologiques de l'extrait aqueux de Trigonella foenum-greacum* (Doctoral dissertation, Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila).
16. **Benmehdi, H. (2000).** Valorisation des plantes médicinales à activité hypoglycémiantes comme la coloquinte (Doctoral dissertation, Thèse de Magister. Chimie organique appliquée. Université de Tlemcen).
17. **Bermejo, J. E. H., León, J. (Eds.). (1994).** *Neglected crops: 1492 from a different perspective* (No. 26). Food & Agriculture Org.
18. **Bhanger, M. I., Bukhari, S. B., Memon, S. (2008).** Antioxidative activity of extracts from a Fenugreek seeds (*Trigonella foenum-graecum*). *Pakistan Journal of Analytical & Environmental Chemistry*, 9(2), 6.
19. **Bonnaillie, C., Salacs, M., Vassilova, E., Saykova, I. (2012).** Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide (*Arachis hypogaea* L.).

- 20. Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., Dakka, N. (2017).** Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*, 1-11.
- 21. Ca-SFM. (2017)** .Comite de l'atibiogramme. In : Société Française de Microbiologie. Ed ; 2017: p.XX-XX.
- 22. CA-SFM. (2013).** Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Sur le lien : <http://www.sfm.asso.fr/>.
- 23. Desai, R. V., Shah, B. N., Patel, A. P. (2014).** Microwave assisted isolation of mucilage from the *Trigonella foenum graecum* seeds. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review & Research*, 25(2), 80-82.
- 24. Diallo D. (2000).** Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Mali and Phytochemical study of four of them : *Glinus oppositifolius* (Aizoaceae), *Diospyros* Thèse de doctorat, Lausanne, 148-176.
- 25. Djellouli, M., Moussaoui, A., Benmehdi, H., Ziane, L., Belabbes, A., Badraoui, M., Slimani, N. and Hamidi, N. (2013).** Ethnopharmacological study and phytochemical screening of three plants (Asteraceae family) from the region of South West Algeria. *Asian journal of natural & applied sciences*, 2, 59-65.
- 26. Dobignard A. et Chatelain C. (2010-2013).** Index synonymique de la flore d'Afrique du Nord (4 vol.), Genève, C.J.B.G.
- 27. Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. T., Smith, F. (1956).** Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*, 28(3), 350-356.
- 28. Epifano F., Genovese S., Menghini I. And Curini M. (2007).** Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites. *Phytochemistry*; 68: 939-953.
- 29. Pfaller, M. A., Castanheira, M., Diekema, D. J., Messer, S. A., Moet, G. J., Jones, R. N. (2010).** Comparison of European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) and Etest methods with the CLSI broth microdilution method for echinocandin susceptibility testing of *Candida* species. *Journal of clinical microbiology*, 48(5), 1592-1599.

- 30. Fulzale DP, Satdive RK. (2005).** Comparison of technique for the extraction of the anticancer drug camptothecin from *Nothapodytes foetida*, *J Chromatogr-A*, 1063, 2005, 9-13.
- 31. Geberemeskel, G. A., Debebe, Y. G., Nguse, N. A. (2019).** Antidiabetic Effect of Fenugreek Seed Powder Solution (*Trigonella foenum-graecum* L.) on Hyperlipidemia in Diabetic Patients. *Journal of diabetes research*, 2019.
- 32. Ghanem, M. E., Han, R. M., Classen, B., Quetin-Leclerq, J., Mahy, G., Ruan, C. J., Lutts, S. (2010).** Mucilage and polysaccharides in the halophyte plant species *Kosteletzkya virginica*: localization and composition in relation to salt stress. *Journal of plant physiology*, 167(5), 382-392.
- 33. Ghedira, K., Goetz, P. L. J. R., Le Jeune, R. (2010).** Fenugrec: *Trigonella foenum-graecum* L.(Fabaceae ex. Leguminosae). *Phytothérapie*, 8(3), 180-184.
- 34. Oueslati, H. A., Ghédira, K. (2015).** Notes ethnobotanique et phytopharmacologique sur *Trigonella foenum-graecum*. *Phytothérapie*, 13(4), 234-238.
- 35. Hammiche V. et Gueyouche R. (1988).** Plantes médicinales et thérapeutiques, 1ère partie : Les plantes médicinales dans la vie moderne et leur situation en Algérie, Annales de l'INA El Harrach, Alger, 12 :(1), 419-433.
- 36. Harborne, A. J. (1998).** *Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis*. springer science & business media.
- 37. 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.
- 38. Hartmann, T. (2007).** From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*, 68(22-24), 2831-2846.
- 39. Hellal Z., 2011.** Des propriétés antibactériennes et antioxydants de certaines huiles essentielles extraites des Citrus Application sur la sardine (*Sardina Pilchardus*). Magistère, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. pp1-8-45-78

40. Henry, R. J. *Clinical Chemistry, Principles and Techniques*. Hoeber Medical, Harper-Row, 190, 1964.
41. Janakat, S. M., Al-Fakhiri, S. M., Sallal, A. K. (2005). Evaluation of antibacterial activity of aqueous and methanolic extracts of the truffle *Terfezia clavaryi* against *Pseudomonas aeruginosa*. *Saudi medical journal*, 26(6), 952-955.
42. Kaper, J. B., Nataro, J. P., Mobley, H. L. (2004). Pathogenic *escherichia coli*. *Nature reviews microbiology*, 2(2), 123-140.
43. Karumi, Y. O. V. O., Onyeyili, P. A., Ogugbuaja, V. O. (2004). Identification of active principles of *M. balsamina* (Balsam Apple) leaf extract. *J Med Sci*, 4(3), 179-182.
44. Kor, N. M., Didarshetaban, M. B., & Pour, H. S. (2013). Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) as a valuable medicinal plant. *Int. J. Adv. Biol. Biomed. Res*, 1(8), 922-931.
45. Kumar G.P., T. Anand, D. Singsit, F. Khanum et K. R. Anilakumar (2013). Evaluation of antioxidant and anti-fatigue properties of *Trigonella foenum-graecum* L. in rats subjected to weight loaded forced swim test. *Pharmacognosy Journal*, 5, 66-71.
46. Kumari, O. S., Rao, N. B., Gajula, R. G. (2016). Phytochemical analysis and anti-microbial activity of *Trigonella foenum-graecum* (Methi seeds). *Journal of Medicinal Plants Studies*, 4(4), 278-281.
47. Leclerc H, Gaillard J-L, Simonet M (1995). *Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien*. Doin Editeurs, Paris.
48. Lipipun, V., Nantawanit, N., Pongsamart, S. (2002). Antimicrobial activity (in vitro) of polysaccharide gel from durian fruit-hulls. *Songklanakarinn J Sci Technol*, 24(1), 31-8.
49. Madhava-Naidu M., B. Shyamala, J. Pura, Naik, G. Sulochanamma et P. Srinivas (2011). Chemical composition and antioxidant activity of the husk and endosperm of fenugreek seeds. *LWT-Food Science and technology*, 44, 451-456.

- 50. Marc t.; Gerard W.; Denis L (2001).** Classification des anti-inflammatoires in Guide pharmacologie. Etudiants et professionnels paramédicaux. 4ème Edition. P 426.
- 51. Matthews, M. L., Endress, P. K. (2006).** Floral structure and systematics in four orders of rosids, including a broad survey of floral mucilage cells. *Plant Systematics and Evolution*, 260(2-4), 199-221.
- 52. Mawahib, E.M. E., Ammar, M.A .A. and BadrEldin A.E.S., (2015).** Antimicrobial Activities and Phytochemical Screening of Callus and Seeds Extracts of Fenugreek (*Trigonellafoenum-graecum*). *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*, 4(2), 147-157.
- 53. Mehrafarin, A., Ghaderi, A., Rezazadeh, S. H., NAGHDI, B. H., Nourmohammadi, G., Zand, E. S. K. A. N. D. A. R. (2010).** Bioengineering of important secondary metabolites and metabolic pathways in fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.).
- 54. Mishra, R., Mandloi, S., Yadav, N., Choithani, J. (2016).** phytochemical analysis of trigonella foenum graecum and its antibacterial activity against staphylococcus aureus.
- 55. Mokhtari, I. (2016).** Recherche d'effet inhibiteur des extraits bruts des graines de *Trigonella foenum-graecum* L vis à vis de l'alpha amylase (Doctoral dissertation).
- 56. Mukthamba, P., Srinivasan, K. (2016).** Protective effect of dietary fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) seeds and garlic (*Allium sativum*) on induced oxidation of low-density lipoprotein in rats. *Journal of basic and clinical physiology and pharmacology*, 27(1), 39-47.
- 57. Kaper, J. B., Nataro, J. P., Mobley, H. L. (2004).** Pathogenic escherichia coli. *Nature reviews microbiology*, 2(2), 123-140.
- 58. Nath M., Song x., Eng g. et Kumar A.,(2008).** Synthesis and spectral studies of Organotin (IV) 4-amino-3-alkyl-1,2,4-triazole-5-thionates: In vitro antimicrobialactivity. *Spectrochimica Acta Part A* ;70 : 766–774.

- 59. NCCLS. (2003). National Clinical Committee Laboratory Standards.** Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests ; Approved Standard-Eight Edition; 23.M2-A8
- 60. Obeidat, M., Shatnawi, M., Al-alawi, M., Al-Zu'bi, E., Al- Dmoor, H., Al-Qudah M., El-Qudah, J. and Otri, I., (2012).**Antimicrobial activity of crude extracts of some plant leaves. *Res JMicrobiol*, 7, 59–67.
- 61. OMS. (2004).** Organisation mondiale de la santé 2004. Risk Assessment of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat Foods: Interpretative summary.
- 62. OMS. (2005).** Organisation mondiale de la santé 2004. Risk Assessment of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat Foods: Interpretative summary.
- 63. Öner A. C., U. Mercan, H. Öntürk, N. Cengiz, R. Erten et H. Özbek (2008).** Antiinflammatory and hepatoprotective activities of *Trigonella foenum graecum* L. *Pharmacologyonline*, 2, 126-132.
- 64. Prescott, L. M., Harley, J. P., Klein, D. A. (2005).** Microbiology. *ke-6. Mc. Grow-Hill. New York.*
- 65. Priya V., Jananie K . et Vijayalakshmi K (2011).** Studies on antioxidant activity of *Trigonella Foenum Graecum* seed using in vitro models.
- 66. Rahmani, M., Toumi-Benali, F., Hamel, L., Dif, M. M. (2015).** Aperçu ethnobotanique et phytopharmacologique sur *Trigonella foenum-graecum* L. *Phytothérapie*, 1-3.
- 67. Rahmoun Mohamed .Nadjib.(2009) .**Evaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des produits dérivés de la *LAWSONE* .thèse de doctorat .p 104.PP14
- 68. Ramulu, P., Giridharan, N. V., Udayasekhararao, P. (2011).** Hypolipidemic effect of soluble dietary fiber (galactomannan) isolated from fenugreek seeds in WNIN (GR-Ob) obese rats. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(19), 4804-4813.
- 69. Renaud M., Belgacem M. N., Rinaudo M., 2005.** Rheological behaviour of polysaccharide aqueous solutions. *Polymer*, vol. 46: 12348–12358
- 70. Sauvaire Y., Baissac O., Petit P. et Ribes G. (1996).** Steroid saponins from Fenugreek and some of their biological properties. Pages .37-46 in G.R. Waller et

Yamasaki K, eds. Saponins used in food and agriculture;Advances in experimentamedecine and biology.Vol.405. Plenum press, New york.

71. **Sheicklar, A. (2013).** *Trigonella foenum-graecum L.* (Fenugrec) as a Medicinal Herb in Animals Growth and Health. *Science international*, (1) 6,194-198.
72. **Shirani, G., Ganesharane, R. (2009).** Extruded products with Fenugreek (*Trigonella foenum-graecium*) chickpea and rice: Physical properties, sensory acceptability and glycaemic index. *Journal of food engineering*, 90(1), 44-52.
73. **Verma, S., Kumar, N., Sharma, P. K. (2014).** Extraction and Evaluation of *Trigonella Foenum graecum* Linn & *Linum usitatissimum* Seed Mucilage. *Global Journal of Pharmacology*, 8(4), 510-514.
74. **Snehlata H. et Payal D. (2011).** Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum L.*): An Overview.
75. **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.
76. **Surveswaran S, Cai YZ, Corke H, Sun M. (2007).** Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants. *Food chemistry*, 2007; 102(3), 938-953.
77. **Takır, S., Altun, I. H., Sezgi, B., Süzgeç-Selçuk, S., Mat, A., Uydeş-Doğan, B. S. (2015).** Vasorelaxant and blood pressure lowering effects of *alchemilla vulgaris*: A comparative study of methanol and aqueous extracts. *Pharmacognosy magazine*, 11(41), 163.
78. **Tabuti J.R.S., Lye K.A., Dhillon S.S. (2003).** Traditional herbal drugs of Bulamogi Uganda : plants, use and administration, *Journal of Ethnopharmacology*, 88: 19-44.
79. **Thomas J., S. Basu et S. Acharya (2006).** Identification of *Trigonella* accessions which lack antimicrobial activity and are suitable for forage development. *Canadian journal of plant science*, 86, 727-732.

- 80. 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.
- 81. Verma, S., Kumar, N., Sharma, P. K. (2014).** Extraction and Evaluation of *Trigonella Foenum graecum* Linn & *Linum usitatissimum* Seed Mucilage. *Global Journal of Pharmacology*, 8(4), 510-514.
- 82. Volpé J-S., Sergeant P., Fakler A., Kanny G (2009).** Fenugrec: Aliment.
- 83. Wani, S. A., Kumar, P. (2018).** Fenugreek: A review on its nutraceutical properties and utilization in various food products. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 17(2), 97-106.
- 84. Warrand, J. (2004).** Etude structurale et propriétés en solution des polysaccharides constitutifs du mucilage de lin (*Linum Usitatissimum* L.) (Doctoral dissertation, Amiens).
- 85. Yacoubi L., Rabaoui L., HédiHamdaoui M., Fattouch S., Serairi R., Kourda N., Ben Khamsa S (2011).** Anti-oxidative and anti-inflammatory effects of *Trigonella foenum-graecum* Linnaeus, 1753 (Fenugreek) seed extract in experimental pulmonary fibrosis.
- 86. Yadav, U. C., Baquer, N. Z. (2014).** Pharmacological effects of *Trigonella foenum-graecum* L. in health and disease. *Pharmaceutical biology*, 52(2), 243-254.

ملخص

هذا العمل هو جزء من التقييم المختبري للنشاط المضاد للميكروبات في الصمغ المستخرج والمميز سابقًا من حيوب *Trigonella foenum-graecum L.* ضد بعض البكتيريا : *Staphylococcus aureus ATCC 25923* ، *Listeria monocytogenes ATCC 15313* و *Bacillus cereus ATCC 10876* ، *Escherichia coli ATCC 25912* ، *Klebsiella pneumonia ATCC 700603* و *Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027*. تم إستخلاص بذور *Trigonella foenum-graecum L.* باستخدام طريقة التسريب. أوضحت النتائج أن حصىلة المستخلصات الخام من بذور الحلبة الناشئة في تلمسان تبلغ 1.2%. وهو مصدر موثوق للمكونات النشطة المعروفة بخصائصها العلاجية. سمح لنا اختبار توصيف خلاصة الصمغ بمعرفة وجود السكريات وتغيب البروتينات. كشف الفحص الكيميائي النباتي للصمغ أن أعماد *Trigonella foenum-graecum L.* غنية بالمستقلبات الثانوية : التانينات والنشا وكان هناك غياب تام للفلافونويد والأحماض الأمينية. بالنظر إلى الظروف الحالية ، لم يتم إجراء اختبار النشاط المضاد للميكروبات على ستة سلالات بكتيرية. أكدت الدراسات السابقة أن مستخلص غمد *Trigonella foenum-graecum L.* له نشاط مهم جدًا مضاد للجراثيم ، وذلك بفضل مكوناته ذات النشاط البيولوجي ، والتي تعتبر عوامل مثبطة ويمكن استخدامها للتطبيقات الطبية. ستكون هناك حاجة إلى مزيد من الدراسات المتعمقة لفهم الفائدة العلاجية لهذه المركبات بشكل أفضل.

الكلمات المفتاحية: *Trigonella foenum-graecum L.* ، الصمغ ، التانينات ، النشا ، النشاط المضاد للبكتيريا.

Résumé

Ce travail s'inscrit dans le cadre d'évaluer in vitro l'activité antimicrobienne de mucilage préalablement extraits et caractérisé, des grains de *Trigonella foenum-graecum L.* contre quelques bactéries à Gram positives : *Staphylococcus aureus ATCC 25923*, *Listeria monocytogenes ATCC 15313* et *Bacillus cereus ATCC 10876* et à Gram négatives *Escherichia coli ATCC 25912*, *Klebsiella pneumonia ATCC 700603* et *Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027*. L'extraction des graines de *Trigonella foenum-graecum L.* a été réalisée par la méthode d'infusion. Les résultats démontrent que le rendement en extraits bruts des graines de l'helba originaire de Tlemcen est de 1,2%. C'est une source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Le test de caractérisation de l'extraits de mucilage nous a permis de savoir que les sucres sont présents et les protéines absentes. Le screening phytochimique de mucilage a révélé que les gaines de *Trigonella foenum-graecum L.* sont riches en métabolites secondaires : tanins, et l'amidon et on a noté une absence totale des flavonoïdes et des acides aminés. Compte tenu aux conditions actuelles, le test d'activité antimicrobienne sur six souches bactériennes n'a pas été réalisé. Les études antécédentes ont confirmé que les extrait des gaine de *Trigonella foenum-graecum L.* possède une activité antibactérienne très importante, grâce à leurs constituants à activité biologique, qui sont considères comme des agents inhibiteurs et peuvent être employés pour des applications médicinales. D'autres études approfondies seront nécessaires pour mieux comprendre l'utilité thérapeutique de ces composés.

Mots clés: *Trigonella foenum-graecum L.*, mucilage, tanins, amidon, activité antibactérienne.

Abstract

This work is part of the in vitro evaluation of the antimicrobial activity of previously extracted and characterized mucilage from *Trigonella foenum-graecum L.* grains against some Gram-positive bacteria: *Staphylococcus aureus ATCC 25923*, *Listeria monocytogenes ATCC 15313* and *Bacillus cereus ATCC 10876* and Gram-negative *Escherichia coli ATCC 25912*, *Klebsiella pneumonia ATCC 700603* and *Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027*. The seeds of *Trigonella foenum-graecum L.* were extracted using the infusion method. The results show that the yield of crude extracts from the seeds of the helba originating in Tlemcen is 1.2%. It is a reliable source of active ingredients known for their therapeutic properties. The characterization test of the mucilage extract allowed us to know that the sugars are present and the proteins absent. Phytochemical screening of mucilage revealed that the sheaths of *Trigonella foenum-graecum L.* are rich in secondary metabolites: tannins, and starch and there was a total absence of flavonoids and amino acids. Given current conditions, the antimicrobial activity test on six bacterial strains has not been carried out. Previous studies have confirmed that the extract of the sheath of *Trigonella foenum-graecum L.* has a very important antibacterial activity, thanks to their constituents with biological activity, which are considered as inhibiting agents and can be used for medicinal applications. More in-depth studies will be needed to better understand the therapeutic usefulness of these compounds.

Key words: *Trigonella foenum-graecum L.*, mucilage, tannins, starch, antibacterial activity.