

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE
& BIOCHIMIE



DOMAINE : SCIENCES DE LA
NATURE ET DE LA VIE
FILIERE : SCIENCE BIOLOGIQUE
OPTION : BIOCHIMIE APPLIQUEE

N° :

Mémoire présenté pour l'obtention
Du diplôme de Master Académique

Par :

BEN AISSI HALIMA

Intitulé

**Evaluation des activités biologiques de l'extrait
aqueux de *Trigonella foenum-greacum***

Soutenu devant le jury composé de :

Mme. RABAH N	Université de M'sila	Présidente
Mme. BENCHEIKH D	Université de M'sila	Rapporteur
Mr. REGGAMI Y	Université de M'sila	Examineur

Année universitaire : 2018 /2019

REMERCIEMENT

Avant tout je remercie Dieu le tout puissant qui a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

*Merci infiniment à mon encadreur **M^{me}. BENCHEIKH D** qui a dirigé ce travail et veillé à ce qu'il soit mené à terme. Je tiens surtout à vous remercier pour vos conseils qui m'ont été de grande utilité.*

*Grand et respectueux remerciement va au **M^{me}. RABAH N** d'avoir accepté de présider le jury de mon mémoire et aussi au membre du jury **M^r. REGGAMI Y** pour leur présence nécessaire et utile au sein du jury.*

*Je remercie **Dr. BENKHALED A**, Chef de Département de Biochimie et Microbiologie, et tous les enseignements pour son travail accompli et les efforts qu'ils n'ont cessé de fournir durant toute notre Scolarité.*

Je n'oublie pas de remercier le responsable et toute l'équipe du laboratoire. Je remercie aussi tous mes collègues de la promotion 2018-2019 et les étudiants de master et je leur souhaite beaucoup de réussite.

DEDICACE

*Je dédie ce travail à mes **Parents** qu'ils trouvent ici toute ma
gratitude*

Pour leur soutien tout le long de mes études

*A mes **Sœurs** et mes **Frères***

*À mes **Amis***

A ceux qui m'ont tout donné sans rien en retour

Table des matières

Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	01

Partie I : Synthèse bibliographique

1. Présentation de la plante	03
1.1. Généralité sur la phytothérapie	03
1.2. Nomenclature, description de <i>Trigonella foenum-graecum L</i>	03
1.3. Systématique de <i>Trigonella foenum-graecum L</i>	04
1.4. Distribution géographique de <i>Trigonella foenum-graecum L</i>	04
1.5. Composition chimique de <i>Trigonella foenum-graecum L</i>	04
1.6. Effets thérapeutiques de <i>Trigonella foenum-graecum L</i>	04
2. Stress oxydant	05
2.1. Généralité	05
2.2. Définition des radicaux libres	05
2.3. Implications pathologiques du stress oxydatif	06
2.4. Les antioxydants	06
2.4.1. Sources des antioxydants	07
3. Activité antibactérienne	08
3.1. Généralité	08
3.2. Mode d'action des antibiotiques	08
3.3. Résistance aux antibiotiques	09
3.4. Les bactéries	09
4. Les composés phénoliques	10
4.1. Généralité	10
4.2. Classification	10
4.2.1. Les acides phénoliques	10
4.2.2. Les flavonoïdes	11
4.2.3. Les tanins	11
4.3. Activité antibactériennes des polyphénols	11

Partie II : Partie Expérimentale

I. Matériel et Méthodes

1. Matériel	12
1.1. Matériel végétal	12
1.2. Appareillage et verrerie	12
1.3. Réactifs	12
1.4. Les souches microbiennes utilisées	12
2. Méthodes	12
2.1. Préparation de l'extrait	12
2.1.1. Le Rendement	12
2.2. Dosage des polyphénols totaux	13
2.2.1. Principe	13
2.2.2. Mode opératoire	13
2.3. Dosage des flavonoïdes totaux	14
2.3.1. Principe	14
2.3.2. Mode opératoire	15
2.4. Test au DPPH	15
2.4.1. Principe	15
2.4.2. Mode opératoire	16
2.5. Évaluation de l'activité antibactérienne	16
2.5.1. Principe	16
2.5.2. Mode opératoire	17
2.6. Analyse statistique	17

II. Résultat et Discussion

1. Rendement d'extraction	18
2. Taux des polyphénols totaux et flavonoïdes	19
3. Activité antioxydante	20
3.1. Test du DPPH	20
4. Activité antibactérienne	21
4.1. Test antibactérien	21
4.2. L'antibiogramme	22
Conclusion	25
Références bibliographiques	
Résumé	

Résumé

L'objectif de cette étude est d'évaluer les activités antioxydante et antibactérienne de l'extrait aqueux (E. Aq) des grains de *Trigonella foenum-greacum L* (El holba), une plante médicinale de la pharmacopée traditionnelle de l'Algérie. L'activité antioxydante a été évaluée en utilisant le test de DPPH. Dans un premier temps, la teneur en polyphénols totaux, et en flavonoïdes de l'extrait a été effectuée. Par ailleurs, l'effet antibactérien de l'E.Aq a été évalué selon la méthode de diffusion de disque vis-à-vis de trois souches bactériennes.

Les résultats obtenus ont montré la richesse de cet extrait aqueux en polyphénols totaux, en flavonoïdes avec des valeurs de $272,64 \pm 0,09 \mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait, $95,85 \pm 0,007 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait respectivement, à un rendement 55,24%. Par ailleurs l'extrait a montré une très forte activité anti-radicalaire vis-à-vis du radical DPPH même supérieure à celle du BHT (0.0057 ± 0.0012). Les résultats révèlent que l'extrait a exercé un effet antibactérien de trois concentration différents (200mg/ml ; 600 mg/ml; 900 mg/ml) considérable seulement sur *Staphylococcus aureus*, *Bacillus Subtilus* avec des zones d'inhibition de proche (25 mm et 29,5 mm, respectivement).

En conclusion, l'E.Aq de *Trigonella foenum-greacum L* possède une excellente activité antioxydante et un puissant effet antibactérien.

Mots clés : Activité antibactérienne et activité antioxydant, Polyphénols, *Trigonella foenum-greacum L*.

Abstract

The objective of this study is to evaluate the antioxidant and antibacterial activities of the aqueous extract (E.Aq) of the seeds of *Trigonella foenum-greacum L* (El holba), a medicinal plant of the traditional of Algeria. Antioxidant activity was assessed using the DPPH test. At first, the content of total polyphenols, and flavonoids in the extract was carried out. Moreover, the antibacterial effect of E.Aq was evaluated according to the disk diffusion method against three bacterial strains.

The obtained results showed the richness of this aqueous extract in total polyphenols, and in flavonoids with values of 272.64 ± 0.09 μg EAG / mg of extract, 95.85 ± 0.007 μg EQ / mg of extract respectively, with a yield of 55.24%. Furthermore the extract showed a very strong anti-radical activity against the radical DPPH even greater than that of BHT (0.0057 ± 0.0012). The results reveal that the extract exerted an antibacterial effect of three different concentrations (200 mg / ml, 600 mg / ml, 900 mg / ml) considerable only on *Staphylococcus aureus*, *Bacillus Subtilus* with near inhibition zones 25 - 29, 5 mm and 26 - 28,5mm, respectively.

In conclusion, E.Aq of *Trigonella foenum-greacum L* has excellent antioxidant activity and a strong antibacterial effect.

Key words: Antibacterial activity and antioxidant activity, Polyphénols, *Trigonella foenum-greacum L*.

,

الملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم الفعالية المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا في المستخلص المائي (E.Aq) لبذور *Trigonella foenum-greacum L* (الحلبة) ، وهي نبات مستعمل في الطب التقليدي في الجزائر. في بادئ الامر، تم تقدير محتوى المستخلص من المركبات متعددة الفينول، الفلافونويدات حيث أظهرت النتائج المتحصل عليها على ثراء هذا المستخلص المائي فيمتعددة الفينول، الفلافونويدات بقيم 0.09 ± 272.64 ميكروغرام / EAG مغ مستخلص، 0.007 ± 95.85 ميكروغرام مكافئ / مغ مستخلص على التوالي. في عائد 55.24 %.

من جهة أخرى، أظهر المستخلص المائينشأطييةإزاحية جد عالية لجذر DPPH أكبر من 0.0057 ± 0.0012 BHT. في هذه الدراسة تم أيضا تقييم الفعل المضاد للبكتيريا لثلاث سلالات بكتيرية حيث تكشف النتائج أن المستخلص بتركيزات مختلفة (200 مغ / مل ، 600 مغ / مل ، 900 مغ / مل) يثبط فقط سلالاتي *Staphylococcus aureus*, *Bacillus Subtilis*.

كخلاصة يمكن القول أن المستخلص المائي يملك فعالية كبيرة مضادة للأكسدة و مضادة للبكتيريا.

الكلمات المفتاحية: *Trigonella foenum-greacum L*، عديدات الفينول ، الإجهاد التأكسدي ، مضاداتالبكتيري

Liste des abréviations

BHT : Butylhydroxytoluène.

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.

EAG : Equivalent en acide gallique.

EQ : Equivalent en quercétine.

E AQ : Extrait aqueux

EMet : Extrait méthanolique

IC50 : Concentration d'inhibition 50 %.

ERO : Espèces réactifs de l'oxygène.

EOA : Espèces oxygénées activées

R² : Coefficient de corrélation.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

DO : Densité optique.

ROS : *Reactive oxygen species (Espèces réactifs de l'oxygène).*

GSH: Glutathion

GPx : Glutathion peroxydase

SOD: super oxyde dismutase

R (%) : Rendement.

ATCC : *American type culture collection (Collection américaine des cultures type).*

OMS : Organisation mondiale de santé.

Liste des figures

Figure 1 : Feuilles et graines de <i>Trigonella foenum-graecum L</i>	03
Figure 2 : La balance d'équilibre entre les systèmes pro-oxydants et antioxydants	05
Figure 3 : Aperçu des différentes espèces oxygénées activées (EOA) et des antioxydants régulateurs de leur production	06
Figure 4 : les antioxydants enzymatiques et non enzymatiques	08
Figure 5 : Squelette de base des flavonoïdes	11
Figure 6 : Principe de la réduction du réactif de Folin-Ciocalteu	13
Figure 7 : Courbe standard de l'acide gallique pour la détermination des polyphénols totaux	14
Figure 8 : Mécanisme de réaction du chlorure d'aluminium avec les flavonoïdes	14
Figure 9 : Courbe standard de la quercétine pour la détermination des flavonoïdes totaux.	15
Figure 10 : Réaction de réduction du DPPH •	16
Figure 11 : Photographies des zones d'inhibition de la croissance de <i>S.aureus</i> , <i>Bacillus Subtilis</i> et <i>E.Coli</i> induites par l'extrait aqueux de <i>Trigonella foenum-greacum L</i>	21
Figure 12 : L'antibiogramme de <i>S.aureus</i> , <i>Bacillus Subtilis</i> , <i>E.Coli</i>	23

Liste des tableaux

	18
Tableau 1 : Aspect, couleur et rendement de l'extrait aqueux	
Tableau 2 : Teneur de l'extrait aqueux de <i>Trigonella foenum- greacum</i> .Len polyphénols totaux et flavonoïdes.	19
Tableau 3 : Pouvoir antiradicalaire de l'extrait aqueux des graines de <i>Trigonella foenum-greacum L</i> vis-à-vis le radical DPPH	20
Tableau 4 : Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne induites par l'extrait aqueux de <i>Trigonella foenum-greacum L</i>	22
Tableau 5 : Diamètres des zones d'inhibition de l'antibiogramme de <i>S.aureurs</i> , <i>Bacillus Subtilus</i> , <i>E.Coli</i>	23

Introduction

INTRODUCTION :

La médecine traditionnelle demeure le recours principal d'une grande majorité des populations pour résoudre leurs problèmes de santé (**Ladoh et al., 2014**). Selon l'organisation mondiale de la santé, près de 80% des populations dépendent de la médecine traditionnelle pour des soins de santé primaire (**OMS, 2002**).

Les plantes médicinales sont utilisées comme traitement traditionnel de nombreuses maladies humaines depuis de nombreuses années dans de nombreuses régions dans le monde (**Chaban et al., 2013**). La phytothérapie par les plantes riches en polyphénols et principalement en flavonoïdes a connu un grand regain. Grâce à leurs propriétés biologiques qui sont très importantes et très vastes (**Ngene et al., 2015**).

Les polyphénols sont des substances naturellement présentes dans les fruits, les légumes, les graines, les fleurs et aussi les herbes où ils contribuent à la couleur et aux propriétés sensorielles (**Ojeil et al., 2010**).

Les Radicaux libres, espèces oxygénées activées (EOA), le stress oxydant et les antioxydants sont devenus des termes familiers tant dans le monde médical que dans le grand public. Au début des années 2000, ces notions n'étaient généralement évoquées que dans les congrès scientifiques. Mais ces dernières années, l'industrie pharmaceutique, les laboratoires d'analyses médicales et la presse grand public ont massivement diffusé des informations relatives aux antioxydants, sans parfois l'esprit critique nécessaire (**Defraigne et Pincemail, 2008**).

Les propriétés antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20^{ème} siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser (**Athamena et al., 2010**). Elles permettent le traitement ou la prévention de maladies chroniques et/ou graves, et résoudre le problème de la résistance bactérienne vis-à-vis des agents antibactériens actuels (**Sqalli et al., 2007**).

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer *in vitro* l'activité antimicrobienne d'extrait aqueux des grains de *trigonella foenum-graecum L* contre quelques bactéries gram positives et gram négatives et aussi d'évaluer son pouvoir antioxydant par la méthode

de piégeage du radical DPPH (2, 2 diphényl-1-picrylhydrazyl). Le dosage des polyphénols et des flavonoïdes sont déterminés donc pour démontrer la relation entre les composants et les activités étudiées.

Partie I :
Synthèse
bibliographique

1. Présentation de la plante

1.1. Généralités sur la phytothérapie

La phytothérapie correspond à l'utilisation des plantes et de leurs extraits à titre thérapeutiques. La médecine traditionnelle correspond à l'utilisation de substances diverses, dont les plantes selon des règles issues de la tradition (**Boukhobza et Goetz, 2014**). Les plantes médicinales ont été employées pendant des siècles comme remèdes pour les maladies humaines parce qu'elles contiennent des composants de valeurs thérapeutique (**Nostro et al., 2000**).

1.2. Nomenclature et description de *Trigonella foenum-graecum L*

Fenugrec (*Trigonella foenum-graecum*L) (en anglais : fenugreek, en français : fenugrec et en arabe al holba) est une plante annuelle de la famille des *Fabaceae* (*légumineuses*) (**Mabrouk et al., 2017**).

Plante herbacée annuelle (**fig.1**), poilue ou glabre selon les variétés, peut atteindre 50 cm de haut, a tige dressée, rameuse, feuilles pétiolées, alternes, composées a trois folioles ovales dentées. Les fleurs sont axillaires, solitaires ou groupées par deux, de type papilionacé, jaune pâle à violet clair de forme triangulaire (d'où le nom de trigonelle). 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 a brun rougeâtre, marquées par un sillon qui délimite les deux parties inégales (**Ghedira et al., 2010**).



Figure 1 : Feuilles et graines de *Trigonella foenum-graecum L* (**Ghédira et Oueslati, 2015**).

1.3. Systématique de *Trigonella foenum-graecum*

Cette plante présente la systématique suivante :

Regne : *Plantae*

Sous-regne : *Tracheobionta*

Embranchement : *Magnoliophyta*

Sous-embranchement : *Magnoliophytina*

Classe : *Magnoliopsida*

Sous-classe : *Rosidae*

Ordre : Fabales

Famille : *Fabaceae*

Genre : *Trigonella* L.

Espèce : *Trigonella foenum-graecum* L (Ghedira *et al.*, 2010).

1.4. Distribution géographique de *Trigonella foenum-graecum* L

Le fenugrec est répandu autour du bassin méditerranéen et sur la côte Ouest de la mer Noire. Il est cultivé en Afrique du Nord (Tunisie), en Ukraine, en Inde et en Chine (Ghedira *et al.*, 2010)

1.5. Composition chimique de *Trigonella foenum-graecum* L

C'est une plante d'intérêt pharmaceutique parce qu'elle contient divers composés polyphénoliques (stéroïdes, flavonoïdes et alcaloïdes) (Marzougui *et al.*, 2010). La graine de fenugrec est riche en protéine (20 à 30%), les acides aminés tels que la 4-hydroxy-isoleucine (0,1 à 0,3% du poids de la drogue sèche), les glucides (20 à 45%) principalement des fibres mucilagineuses, les lipides (7 à 10%). Elle renferme des stérols (cholestérol, sitostérol, etc.), les sapogénines (0,1-2,2%), la trigonelline (méthylbétaine, 0,37%), du phosphore, du calcium, du fer, du β -carotène et une huile essentielle (environ 0,015%) mais aussi à des constituants volatils (sesquiterpènes, lactones, etc.) (Ghédira et Oueslati, 2015).

1.6. Effets thérapeutiques de *Trigonella foenum-graecum* L

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 :

traiter (l'asthénie, l'œdème des jambes, les problèmes rénaux, les brûlures et les enflures, la bronchite, la fièvre, déséquilibres hormonaux) ; soigner (les furoncles, l'urticaire et

l'eczéma) ; augmente (la lactation, la taille de la poitrine chez les femmes) ; stopper la diarrhée et l'anémie; stimuler la prise de poids (**Ghédira et Oueslati, 2015**).

Ces graines sont aussi employées comme épice et sa matière fraîche est employée comme fourrage (**Marzougui et al., 2010**). Les feuilles et les graines de Fenugrec sont utilisées comme (antioxydant, antidiabétiques, antimicrobien, anti-inflammatoire ...) (**Mabrouk et al., 2017**).

2. Stress oxydant

2.1. Généralités

Le stress oxydant est communément défini comme un déséquilibre entre les systèmes oxydants et les capacités anti-oxydantes d'un organisme, d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire. Cette définition ne rend pas justice à la notion de stress qui est avant tout une réponse à une modification des conditions habituelles de vie cellulaire (**Robert, 2006**).

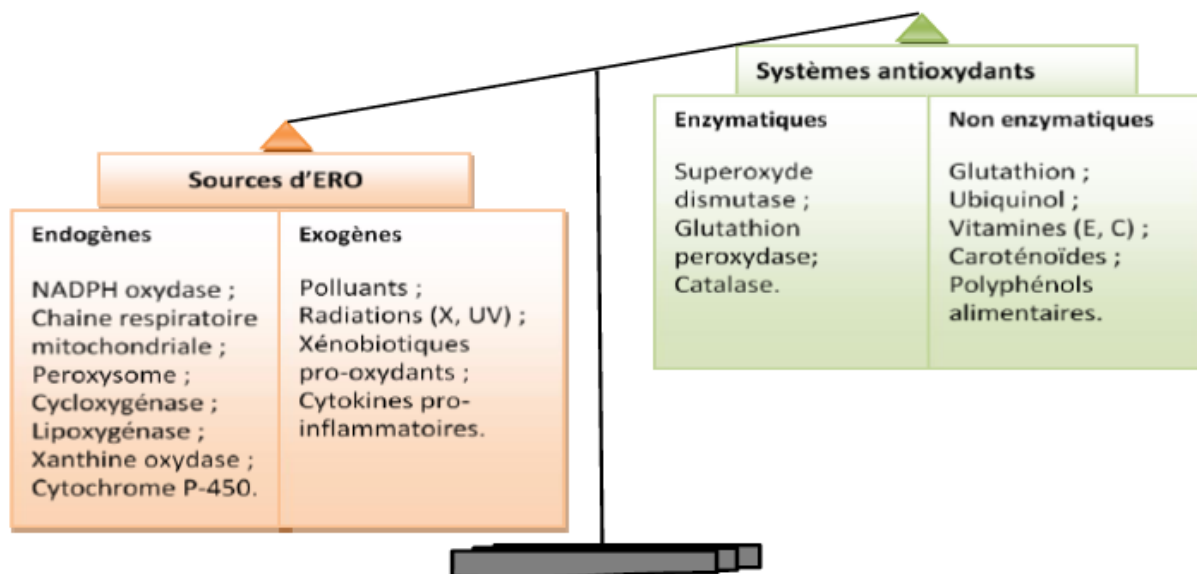


Figure 2. La balance d'équilibre entre les systèmes pro-oxydants et antioxydants (**Nkhili, 2009**).

2.2. Définition des radicaux libres

Les radicaux libres sont des molécules ou des atomes ayant un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui le rend extrêmement réactif. L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé : espèces réactives de l'oxygène (**Merouane et al., 2014**).

L'oxydation représente un processus indispensable dans le métabolisme des cellules aérobies de l'organisme. Elle met en jeu la molécule d'oxygène dont la production par des voies métaboliques non contrôlées engendre la formation d'espèces réactives de

l'oxygène (ERO) tels que les radicaux libres superoxyde $O_2^{\cdot-}$, hydroxyle HO^{\cdot} , alkoxyyl RO^{\cdot} et peroxyyl RO_2^{\cdot} (Sarr *et al.*, 2015).

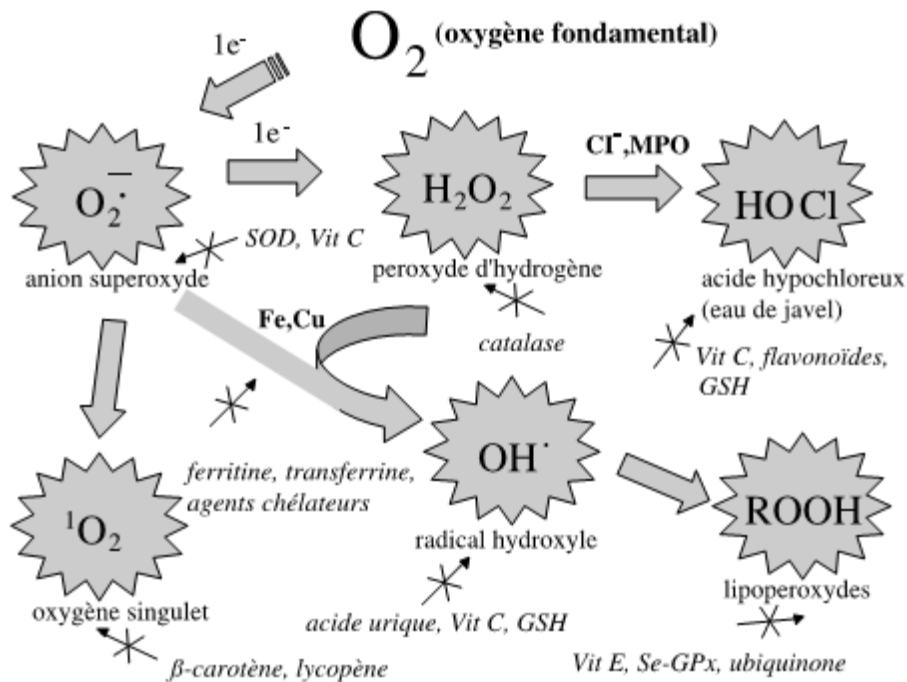


Figure3 : Aperçu des différentes espèces oxygénées activées (EOA) et des antioxydants régulateurs de leur production (Haleng *et al.*, 2007)

2.3. Implications pathologiques du stress oxydatif

Le stress oxydatif est impliqué dans diverses pathologies telles que les maladies cardiovasculaires, les cancers, le diabète, les maladies neurodégénératives (Alzheimer, Parkinson) et le processus de vieillissement (Ladogh *et al.*, 2014). Il peut être associé à l'athérosclérose, l'asthme, l'arthrite, la cataractogénèse, l'hyperoxie, l'hépatite, l'attaque cardiaque, les vasospasmes, les traumatismes, les accidents vasculaires cérébraux, les pigments d'âge, les dermatites, les dommages de la rétine, les parodontites (Cohen *et al.*, 2000; Packer et Weber, 2001).

2.4. Les antioxydants

Lorsque des ERO commencent à s'accumuler dans la cellule, ils peuvent être neutralisés par des molécules de défense antioxydantes présentes dans la cellule comme le glutathion, les vitamines E et C, la bilirubine, l'acide lipoïque, et des enzymes comme la catalase, la superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase, les peroxyrédoxines (Robert, 2006).

Les antioxydants sont toutes les substances capables, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats. De nombreuses études ont montré que les plantes possèdent des propriétés antioxydantes dues en grande partie à leurs composés phénoliques (Ladoh *et al.*, 2014).

2.4.1. Sources des antioxydants

Pour se protéger des effets délétères des EOA, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses antioxydantes (fig. 3). On distingue deux sources d'antioxydants :

*Source exogènes :

L'une est apportée par l'alimentation sous forme de fruits et légumes riches en vitamines C, E, caroténoïdes, ubiquinone, flavonoïdes, glutathion ou acide lipoïque;

*Source endogène :

L'autre est endogène et se compose d'enzymes (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase), de protéines (ferritine, transferrine, céruléoplasmine, albumine) et de systèmes de réparation des dommages oxydatifs comme les endonucléases. A cela s'ajoutent quelques oligoéléments comme le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs d'enzymes antioxydantes (Haleng *et al.*, 2007).

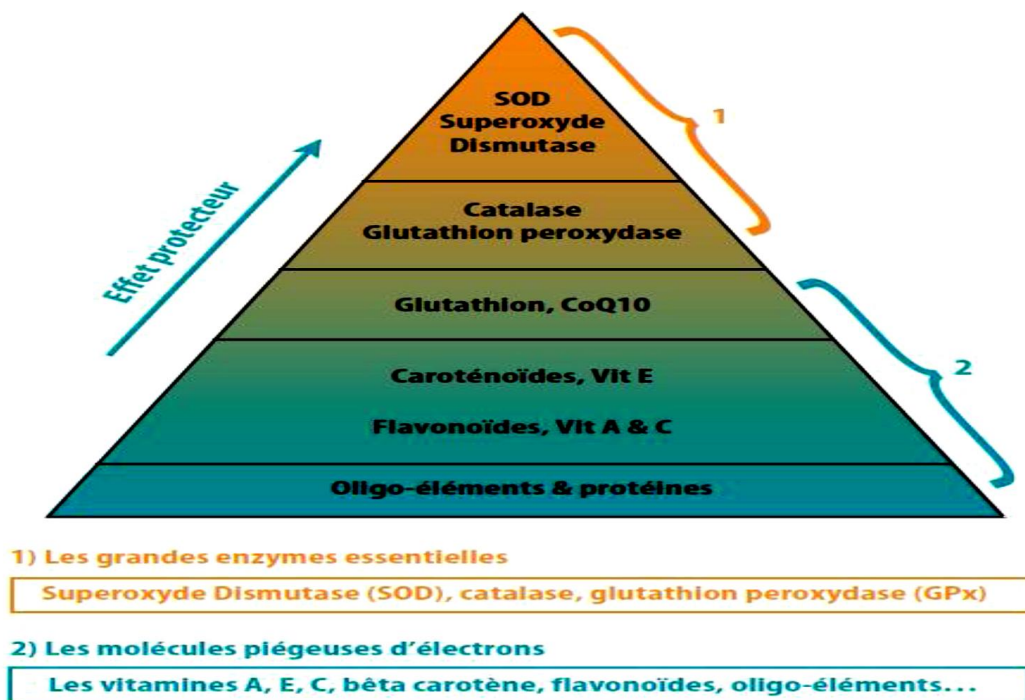


Figure 4 : les antioxydants enzymatiques et non enzymatiques (Menvielle-Bourg, 2005).

3. Activité antibactérienne

3.1. Généralités

Au cours des décennies, la résistance microbienne a évolué jusqu'au point où elle est présentement un grand problème dans le domaine de la santé publique à l'échelle mondiale. Il n'y a que quelques agents antimicrobiens pouvant être utilisés contre certains pathogènes et ce nombre continue à diminuer (**Mitscher et coll, 1999**).

La résistance aux antibiotiques est cause une crise dans beaucoup d'hôpitaux autour du monde. La recherche des agents anti-infectieux s'avère un besoin incontournable (**Bouyahya et al ., 2017**).

3.2. Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques agissent habituellement soit comme bactéricides (ils tuent les bactéries) soit comme bactériostatiques (ils inhibent la croissance bactérienne et détruisent les bactéries). Par exemple, une bêta-lactamine est bactéricide parce qu'elle inhibe la synthèse de la paroi bactérienne. Sans cette paroi, la bactérie meurt. D'autres antibiotiques interfèrent avec les processus chimiques internes de la cellule, ce qui entraîne la mort de la bactérie. Les nouveaux types d'antibiotiques, comme les quinolones, provoquent le déroulement de l'ADN de la bactérie en interférant avec une enzyme bactérienne qui permet à la longue à la molécule d'ADN de se loger dans une petite cellule (**Chetley, 2000**).

3.3. Résistance aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques est un phénomène aussi ancien que l'apparition des antibiotiques. Aujourd'hui, souvent d'origine synthétique et produits par l'homme, les antibiotiques sont au départ des substances naturelles générées par certaines bactéries pour se "défendre" contre les autres bactéries.

Les bactéries n'étant pas suicidaires, les premières qui ont appris à synthétiser des antibiotiques ont développé dans le même temps les moyens de s'en protéger. Il s'agit là de résistance naturelle aux antibiotiques.

La résistance naturelle ou intrinsèque est un caractère d'espèce qui touche toutes les bactéries de l'espèce considérée. Elle est stable, transmise à la descendance (elle a pour support génétique le chromosome bactérien) mais elle n'est pas ou peu transmissible sur un mode horizontal (d'une bactérie à l'autre au sein d'une même espèce ou entre espèces différentes). Exemple de résistances naturelles :

1/ *Klebsiella* spp. produit naturellement des bêta-lactamases. Cette enzyme est alors présente dans l'espace périplasmique de la bactérie et conduit à la destruction

d'antibiotiques comme les pénicillines A, avant que ceux-ci ne puissent atteindre leur cible bactérienne.

2/ les bactéries anaérobies sont naturellement résistantes aux aminosides car le passage des aminosides à travers la membrane cytoplasmique nécessite un système de transport actif absent chez les anaérobies.

A côté de la résistance naturelle existe aussi des résistances acquises ; il s'agit d'un caractère qui ne concerne alors que quelques (ou parfois de nombreuses) souches d'une espèce donnée. La résistance acquise est moins stable, mais elle se propage souvent de façon importante dans le monde bactérien. La résistance acquise résulte d'une modification du capital génétique de la bactérie, lui permettant de tolérer une concentration d'antibiotique plus élevée que celle qui inhibe les souches sensibles de la même espèce. La résistance acquise a été observée dès le début de l'antibiothérapie mais sa fréquence était initialement faible. La généralisation de l'utilisation des antibiotiques a conduit à une sélection des souches résistantes. Ce phénomène a atteint une telle ampleur que la seule identification bactérienne ne permet plus de prédire le comportement d'une souche isolée vis-à-vis des antibiotiques d'où l'intérêt et la nécessité de réaliser des antibiogrammes (**Lozniewski et al., 2010**)

3.4. Les bactéries

***Escherichia coli :**

Une bactérie du genre *Escherichia* est un bacille à coloration de Gram négative, aérobie-anaérobie facultatif (AAF), possédant une nitrate réductase et une catalase, dépourvue d'oxydase et non halophile. *E. coli* est une bactérie immobile ou mobile avec une structure flagellaire péritriche et non-sporulée. Sa température optimale de croissance est de 37°C. Bactérie non exigeante, elle est capable de croître sur des milieux ordinaires tels que le milieu TSA (trypticase-caséine-soja) (**King et al., 2014**).

***Bacillus subtilis :**

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

***Staphylococcus aureus :**

Ce sont des microorganismes sphériques qui se divisent sur plusieurs plans se présentant sous forme de grappe de raisin à Gram positif. Une observation à l'état frais confirme leur incapacité de mobilité ainsi que l'absence de cellules sporulées (Yves et Michel, 2009). Les souches de *S.aureus* ont un pouvoir de résistance dans les milieux hostiles, elles ont la capacité de pousser à des températures allant de 7°C jusqu'à 48°C avec un optimum de croissance de 37°C et une salinité de 75% et à un pH allant de 4 jusqu'à 10 (Grace et Fetsch, 2018).

4. Les composés phénoliques**4.1. Généralité**

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits. Les plus représentés sont les anthocyanes, les flavonoïdes et les tannins (Boizot et Charpentier, 2006).

4.2. Classification**4.2.1. Les acides phénoliques**

Sont les principaux polyphénols alimentaires (Watson *et al.*, 2013), ils sont présents dans tous les fruits et les légumes et représentent environ un tiers de la teneur totale de l'alimentation en polyphénols (Sharma *et al.*, 2015). Les acides phénoliques constituent un groupe important de composés organiques naturels avec un large spectre d'activités pharmacologiques, ils possèdent des propriétés non seulement antioxydantes, mais également des propriétés antivirales et antibactériennes (Cazes, 2005).

Les acides phénoliques existent sous deux formes: dérivés de l'acide benzoïque et dérivés de l'acide cinnamique (Watson *et al.*, 2013).

4.2.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes rassemblent une très large gamme de composés poly-phénoliques formés par un squelette de base à 15 atomes de carbones ayant une structure commune en C6-C3-C6 de type phényl-2-benzopyrane. Leur fonction principale chez les plantes est attribuée aux colorations qu'ils sont à même d'induire chez celles-ci. Les plantes à flavonoïdes ont des propriétés biologiques très importantes et très vastes (Ngene *et al.*, 2015).

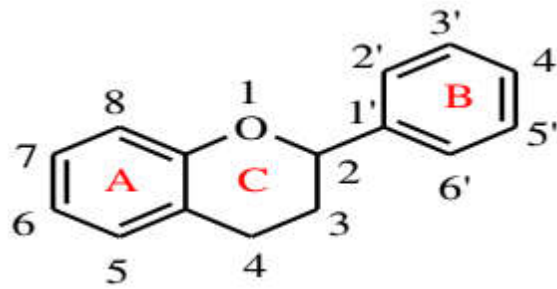


Figure 5 : Squelette de base des flavonoïdes (Erlund, 2004).

4.2.3. Les tanins

Les tanins sont des composés poly-phenoliques, hydrosolubles, de masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 (Gazengel et Orecchioni, 2013). Ce sont des molécules fortement hydroxylés et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux glucides, aux protéines et aux enzymes digestives, réduisant ainsi la digestibilité des aliments. Ils peuvent être liés à la cellulose et aux nombreux éléments minéraux (Alkurd *et al.*, 2008).

4.3. Activité antibactériennes des polyphénols

Les polyphénols sont doués d'activité antibactériennes importantes et diverses, probablement dû à leurs diversités structurales (Cowan, 1999).

Ces composés jouent un rôle inhibiteur, ils n'agissent pas sur la paroi bactérienne mais plutôt sur un mécanisme interne. Ces composés sont supposés agir sur l'ADN, l'ARN et la synthèse protéique (Ulanowska *et al.*, 2008). Ils possèdent une capacité de supprimer un nombre de facteurs de virulence microbienne telle que l'inhibition de la formation de biofilms, la réduction de l'adhésion aux ligands de l'hôte et la neutralisation des toxines bactériennes ainsi qu'à leur capacité d'établir une synergie avec certains antibiotiques (Daglia, 2011).

Partie II :

Partie Expérimentale

***I. Matériel
et Méthodes***

1. Matériel

1.1. Matériel végétal

La plante "*Trigonella foenum-graecum*L" a été récoltée durant le mois d'Avril et Mai dans la région de Ras- El- Oeud à Sétif. Les graines de la plante ont été séchées à l'obscurité dans un endroit bien aéré, puis le broyage et la conservation de la plante séchée.

1.2. Appareillage et verrerie

Spectrophotomètre, Balance de précision, Bain-marie, Étuve, Vortex, Centrifugeuse, Plaque chauffante, Éprouvette, Entonnoir, Erlenmeyer, Béchers, Fiole.

1.3. Réactifs

Acide gallique, réactif de Folin-Ciocalteu, Quercétine, BHT, DPPH, carbonate de sodium (Na_2CO_3), trichlorure d'aluminium (AlCl_3),

1.4. Les souches microbiennes utilisées

Escherichia coli ATCC 87393, *Bacillus Subtilis* ATCC 6633 et *Staphylococcus aureus* ATCC 6536. Ces souches fournies par le laboratoire de microbiologie de SNV, université de M'sila.

2. Méthodes

2.1. Préparation de l'extrait

L'extrait aqueux de *Trigonella foenum-graecum* L a été obtenu par décoction de 100 g de broyat des graines de la plante dans 1 L d'eau distillée. La suspension est laissée sur la plaque chauffante à 100 °C sous agitation constante avec un agitateur magnétique pendant 10 min. le mélange est d'abord filtré par un filet de nylon et ensuite sur papier Whatman N°1. Des aliquotes du filtrat sont placées dans une étuve à 40 °C pendant 24 h pour sécher. L'extrait sec est conservé au réfrigérateur (-18 °C) jusqu'à leur utilisation (**Bentahar et al., 2016**).

2.1.1. Le Rendement

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

$$R (\%) = (\text{Masse de l'extrait sec} \times 100) / \text{Masse du matériel végétal utilisé} \quad (\text{Harborne, 1998})$$

2.2. Dosage des polyphénols totaux

2.2.1. Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et phosphomolibdique ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$), il est réduit par les phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}), (**Ribéreau-Gayon *et al.*, 1972**). La coloration produite, dont l'absorption maximum à 765nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (**Boizot et Charpentier, 2006; Ardestani et Yazdanparast, 2007**).

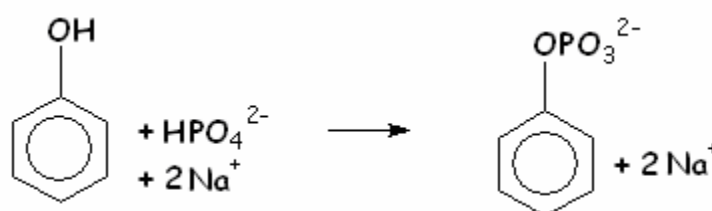


Figure 6 : Principe de la réduction du réactif de Folin-Ciocalteu (**Fkih, 2007**).

2.2.2. Mode opératoire

Mettre 0,1 ml de l'extrait aqueux de *Trigonella foenum-graecum L* dans des tubes à essais ; ajouter 0,1 ml d'eau distillée et 0,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois dans de l'eau distillée). Après 4 minutes d'incubation à la température ambiante, 0,4 ml de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à concentration de 75 g / l est ajoutés. Après une incubation du mélange réactionnel pendant 90 min à température ambiante et à l'obscurité. L'absorbance de tous les échantillons est mesurée à 765 nm. La courbe d'étalonnage est effectuée par l'acide gallique dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage. Les résultats sont ainsi exprimés en g d'équivalent d'acide gallique par 1 mg d'extrait (mg EAG/g d'extrait) (**Bentahar *et al.*, 2016**).

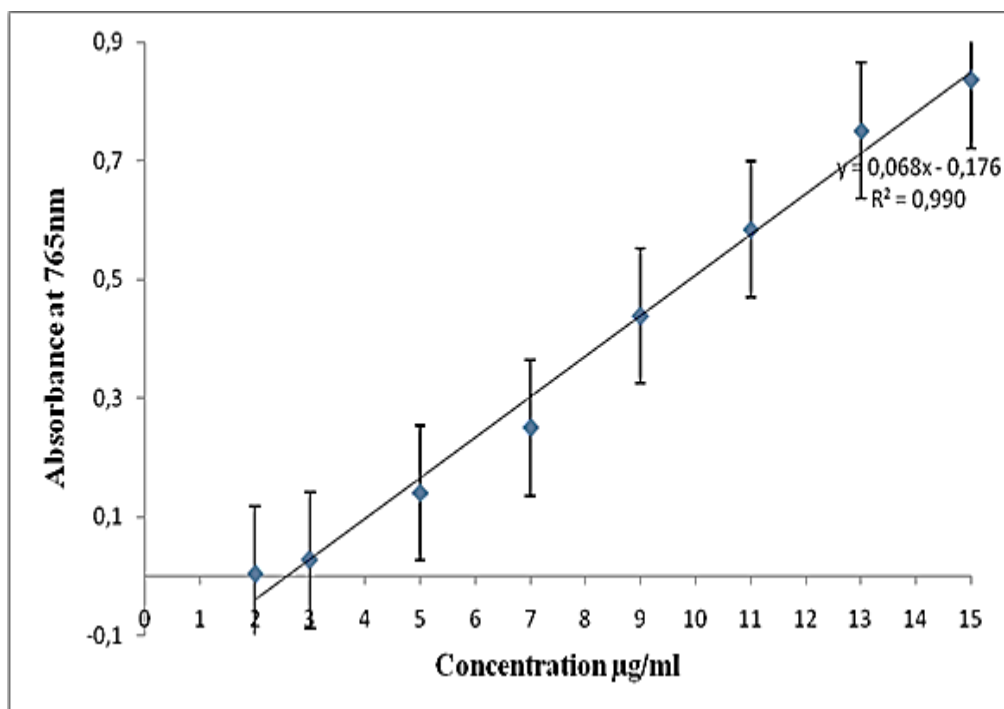


Figure 7: Courbe standard de l'acide gallique pour la détermination des polyphénols totaux. (moyenne \pm SD).

2.3. Dosage des flavonoïdes totaux

2.3.1. Principe

La teneur en flavonoïdes dans l'extrait a été déterminée en utilisant la méthode au trichlorure d'aluminium (AlCl_3). Cette méthode basée sur la fixation des ions Al^{3+} sur les atomes d'oxygène, présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes qui donne des complexes de couleur jaune (**Bahorun et al., 1996**).

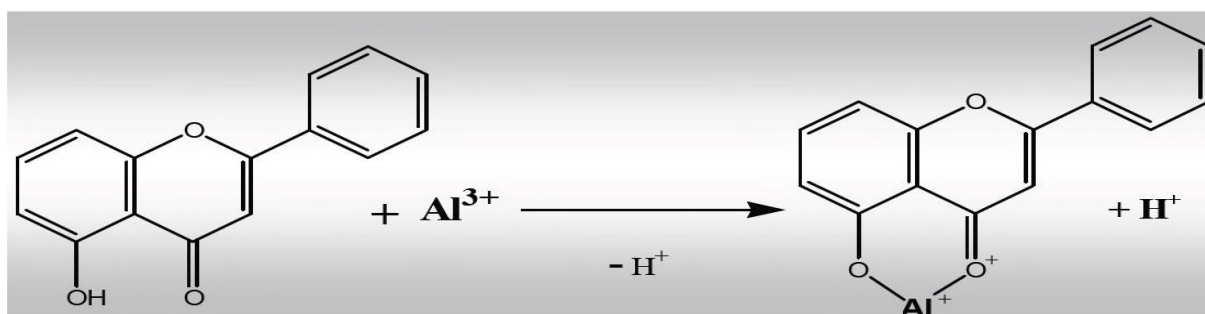


Figure 8 : Mécanisme de réaction du chlorure d'aluminium avec les flavonoïdes (**Ribereau-Gayon, 1968**).

2.3.2. Mode opératoire

Chaque 1 ml d'échantillon est mis à réagir avec 1 ml de AlCl_3 2 %, puis laissé 10 minutes dans l'obscurité. L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 430 nm. La teneur en flavonoïdes totaux de chaque extrait a été calculée et exprimé en mg équivalent de quercétine par 1g d'extraits (mg EQ/g d'extrait) (Bentahar *et al.*, 2016).

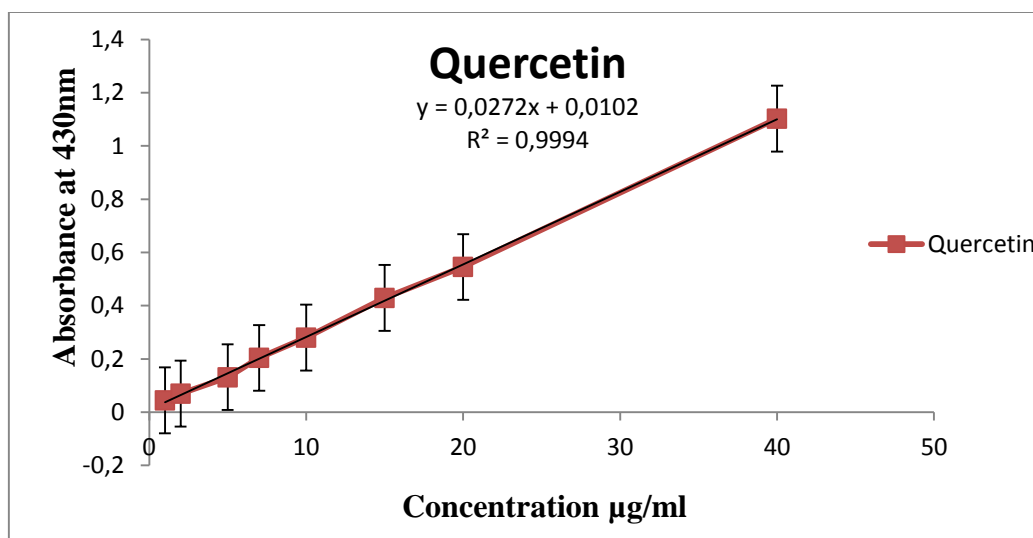
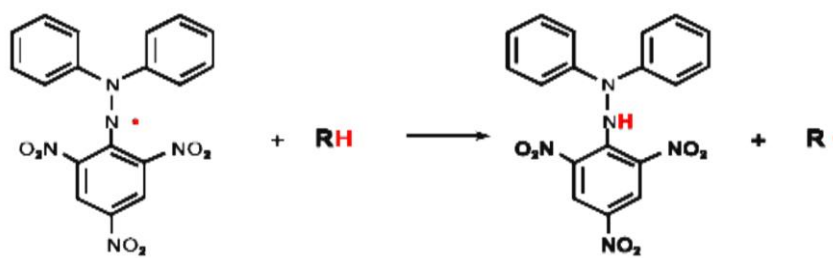


Figure 9: Courbe standard de la quercétine pour la détermination des flavonoïdes totaux. (moyenne \pm SD de trois mesures).

2.4. Test au DPPH

2.4.1. Principe

Le DPPH est un radical libre stable de couleur violette, il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm, cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényl picrylhydrazine par un composé à propriété antiradicalaire, entraînant ainsi une décoloration. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Fadili *et al.*, 2017).



1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl

(violet)

1,1-diphenyl-2-picrylhydrazine

(jaune)

Figure 10 : Réaction de réduction du DPPH[•] (Molyneux, 2004).

2.4.2. Mode opératoire

La mesure de l'activité du piégeage du radical DPPH était déterminée selon la méthode décrite par Burits et Bucar (2000). Brevement, 50 µl de différentes dilutions des extraits ont été ajoutés à 5 ml de 0,004% solutions méthanoliques de mélange de DPPH. Parallèlement, la lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 517 nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante. Le BHT (Butylatedhydroxytoluene) a été employé comme standard (Bentahar *et al.*, 2016).

2.5. Évaluation de l'activité antibactérienne

Les tests de sensibilité et résistance antimicrobienne ont été effectués selon la méthode de diffusion à partir des disques.

2.5.1. Principe

Le principe de l'activité antimicrobienne des extraits de plantes consiste à réaliser une culture microbienne sur milieu gélose nutritive, en présence de disques imbibés d'extrait de plante. Si ces derniers ont une activité antimicrobienne, on observera une zone d'inhibition autour du disque due à la diffusion des échantillons dans le milieu (Parekh *et al.*, 2007; Dulger *et al.*, 2004; Rota *et al.*, 2008).

Le support microbien est composé de souches ATCC : *Staphylococcus aureus* ATCC 6536, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 87393

2.5.2. Mode opératoire :

L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de *Trigonella foenum-graecum* Lest évaluée par la technique de diffusion sur l'agar (méthode des disques) selon la méthode décrite par (Falleh *et al.*, 2008) vis-à-vis de trois souches bactériennes (à Gram- : *Escherichia coli* et à Gram+ : *Staphylococcus aureus* , *Bacillus subtilis*). Les différentes espèces bactériennes sont d'abord repiquées par la méthode des stries dans des boîtes de Pétri contenant le milieu de gélose nutritive, puis incubées à 37 °C pendant 24 h. Une ou plusieurs colonies de chaque culture pure sont prélevées et transférées dans l'eau physiologique à une turbidité équivalente à 0,5 McFarland ou à une DO de 0.08 à 0.10 à 625 nm. Un prélèvement à partir de cet inoculum sert à ensemercer de nouvelles boîtes de Pétri contenant le milieu de gélose nutritive par technique d'écouvillonnage. Des disques de papier filtre de 6 mm de diamètre, stériles, sont chargés de 10 µl de l'extrait aqueux (200mg/ml, 600mg/ml, 900mg/ml) et placés à la surface de ces boîtes. Les disques des contrôles négatifs sont imprégnés H₂O distillé. Des disques standards contenant les antibiotiques de référence (Gentamycine, Oxacilline, Ampicilline) servent de contrôles positifs. Les boîtes de Pétri sont incubées à 37°C pendant 24h. Les résultats sont exprimés en diamètres des zones d'inhibition produites autour des disques.

2.6. Analyse statistique

Les courbes et les histogrammes sont tracés par le Microsoft Excel 2007. Les résultats des tests effectués sont exprimés en moyenne ± écart-type, n =3. Les valeurs d'IC₅₀ (concentration inhibitrice à 50%) sont calculées par la méthode de régression linéaire à partir de la courbe [% inhibition = f(concentrations)].

II. Résultat et Discussion

1. Rendement d'extraction

L'extraction a été effectuée par l'eau distillée, ce qui a permis l'obtention de l'extrait aqueux (EAQ).

L'observation des résultats (**tab.1**) obtenus nous a permis de conclure la richesse de EAQ en molécules polaires, le rendement de l'extrait aqueux est plus élevé, ce qui permet de dire que les molécules existantes sont fortement polaires.

Tableau 1 : Aspect, couleur et rendement de l'extrait aqueux

Extrait	Aspect	Couleur	Rendement%
EAQ	Poudre fine	Marron foncée	55,24 %

Dans une étude réalisée par (**Bukhari et al., 2008**), les résultats ont montré que l'extrait méthanolique de *Trigonella foenum-graecum L.* présente un rendement faible 25.89% par rapport à notre extrait aqueux 55,24%. La différence entre les deux extraits est due aux techniques d'extraction utilisées, qui sont totalement différentes et à la composition chimique qui diffère d'un extrait à l'autre. Par ailleurs cette différence en rendement est liée aux conditions climatiques dures (température élevée, exposition solaire, sécheresse, salinité) (**Falleh et al., 2008**).

Cela peut s'expliquer par le simple fait que l'eau 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, 2010**), c'est la raison pour laquelle, la décoction a été effectuée pendant un temps réduit (15 min)

L'utilisation de la poudre à la place de la plante entière a pour but d'améliorer l'extraction du fait de rendre l'échantillon plus homogène, augmenter la surface de contact avec le solvant et faciliter sa pénétration à l'intérieur des cellules qui ne sont pas détruites après le broyage.

2. Taux des polyphénols totaux et flavonoïdes

Dans cette étude, le contenu des polyphénols et flavonoïdes est déterminée en utilisant les méthodes de Folin-Ciocalteu et de trichlorure d'aluminium. Les résultats montrent que l'extrait aqueux est plus riche en ces composées avec les valeurs suivants : $272,64 \pm 0,094 \mu\text{g EAG/mg d'extrait}$; $95,85 \pm 0,007 \mu\text{g EQ/mg d'extrait}$, respectivement (**Tab.2**).

Tableau 2. Teneur de l'extrait aqueux de *Trigonella foenum- greacum* Len polyphénols totaux et flavonoïdes

Extrait	Polyphénols ^(a)	Flavonoïde ^(b)
aqueux	$272,64 \pm 0,094$	$95,85 \pm 0,007$

^(a) : $\mu\text{g EAG/mg d'extrait}$.

^(b) : $\mu\text{g EQ/mg d'extrait}$.

Le dosage quantitatif des polyphénols totaux et des flavonoïdes d'EAQ a donné une teneur très importante par rapport à l'EMet de celle trouvée par (**Bukhari et al., 2008**) dans son étude sur le *Trigonella foenum-greacum* L avec une valeur enregistrée de $5.75 \pm 0.002(\text{mg/g d'extrait})$ et $607 \pm 3.6 (\mu\text{g/g d'extrait})$ respectivement . Il parait clairement que l'eau chaude est le solvant qui permet d'avoir un rendement en polyphénols totaux et en flavonoïdes plus élevé par rapport au méthanol, ce qui peut être expliqué par la lyse des cellules dans l'eau chaude et la libération d'un maximum de molécules poly-phénoliques.

Ce résultat peut être expliquée par les facteurs génétiques des plantes ainsi qu'à l'origine géographique, aux conditions climatique et à la durée de stockage, de la récolte et aussi aux méthodes d'extraction appliquées. La nature et le volume du solvant, la masse de la poudre et le temps de contact avec le solvant (**Hadjadj, 2017**).Et aussi à la distribution des métabolites secondaires, peut changer pendant le développement de la plante (**Falleh et al., 2008**).

Cette différence peut être due à la faible spécificité du réactif de « Folin-Ciocalteu » qui est l'inconvénient principal de ce dosage colorimétrique. Le réactif est extrêmement sensible a la réduction de tout les groupe d'hydroxyles non seulement celles des composes phénoliques, mais également de certain sucres et protéines...etc (**Vuorela, 2005; Gomez-Caravaca et al., 2006**). Le solvant d'extraction élu des substances non phénoliques comme

les sucres, les protéines et les colorants qui peuvent interférer pendant toute évaluation phénolique (Djeridane *et al.*, 2007). Le dosage par ce réactif donne donc une évaluation brute de tous les composés phénoliques d'un extrait. Il n'est pas spécifique aux polyphénols, mais beaucoup de composés peuvent réagir avec le réactif, donnant un taux phénolique apparent élevé (Tawaha *et al.*, 2007). Les flavonoïdes comme composés les plus intéressants des polyphénols sont aussi déterminés dans ce travail par la méthode du trichlorure d'aluminium.

3. Evaluation de l'activité antioxydant

3.1. Test du DPPH

Les activités antioxydants obtenues par la méthode de DPPH pour l'extrait aqueux sont affichées dans le (Tab.3). Cette activité a été comparée avec BHT comme antioxydant synthétique. Les résultats indiquent que l'extrait aqueux de *Trigonella foenum-greacum L* présentait la plus forte activité antioxydante ($IC_{50} = 0,0034 \pm 0,0003$ mg/ml), ce qui est comparable à celle du BHT standard ($IC_{50} = 0,0057 \pm 0,0012$ mg/ml).

Tableau 3 : Pouvoir antiradicalaire de l'extrait aqueux des graines de *Trigonella foenum-greacum L* vis-à-vis le radical DPPH.

Extrait	IC50 (mg /ml)	Pourcentage d'inhibition %
aqueux	0,0034 \pm 0,0003	75,66 \pm 1,17
BHT	0,0057 \pm 0,0012	8,4 \pm 3,7

L'IC₅₀ de l'EAQ des graines de *Trigonella foenum-greacum L* 0,0034 \pm 0,0003(mg /ml) est plus faible par rapport à l'EMet obtenue par (Seasotiya *et al.*, 2014) a une valeur de 68.96 μ g /ml (0.068 mg /ml). Donc l'EAQ de est plus riche en polyphénols que l'EMet et sa capacité de piéger les radicaux DPPH est plus élevée. Cela montre qu'il y a une corrélation entre le contenu en polyphénols et l'activité antioxydante de l'extrait de *Trigonella foenum-greacum L*, et pourrait indiquer que les polyphénols sont responsables de cette activité

Les composés polyphénoliques améliore clairement le statut des différents biomarqueurs du stress oxydatif (Boaziz *et al.*, 2014). Les mécanismes biologiques de ces effets possibles ont été attribués à leurs propriétés antioxydantes grâce à plusieurs mécanismes possibles, telles que leur capacité à piéger les radicaux libres, briser les réactions

radicalaires en chaîne, en réduisant directement les peroxydes, et de stimuler les activités enzymatiques de la défense anti-oxydantes (Lobo *et al.*, 2010).

La différence d'activité antioxydante entre les deux extraits peut être expliquée par de la nature physico-chimique des composés présents dans l'extrait et par la différence de sélectivité du solvant pour extraire certains groupes d'antioxydants (Djeridane *et al.*, 2006). Et aussi lié à l'espèce, les conditions environnementales, la technique d'extraction, le séchage, la période, le milieu de récolte et l'âge du matériel végétal (El oualilalami *et al.*, 2013).

4. Activité antibactérienne

4.1. Test antibactérien

L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de *Trigonella foenum-graecum L* est testée vis-à-vis de trois souches bactériennes via la méthode de diffusion en disque. Les résultats révèlent que EAQ exerce un effet antibactérien très fort sur *S.aureus* et *Bacillus Subtilus* avec des zones d'inhibition comprises entre 25 à 29,5 mm et 26 à 28,5 mm respectivement, en trois concentrations différentes (200 mg/ml, 600 mg/ml, 900mg/ml). Mais aucun effet sur *E. Coli* (tab.4) (fig.7)

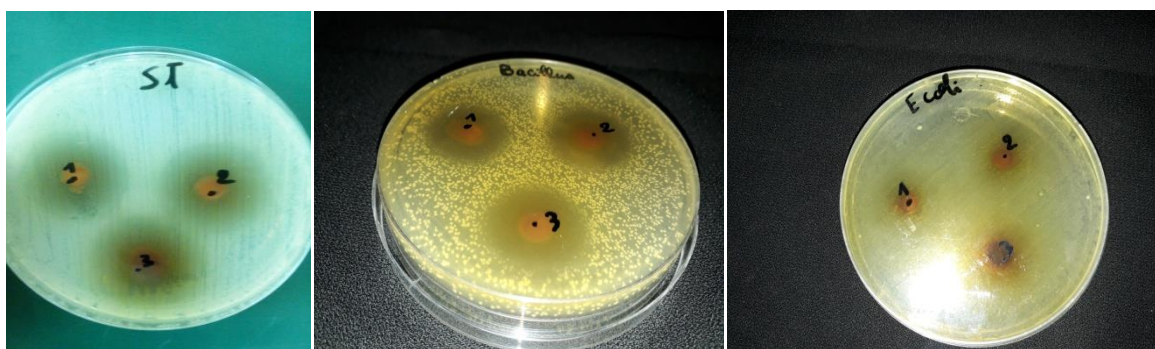


Figure 11 : Photographies des zones d'inhibition de la croissance des *S.aureus*, *Bacillus Subtilus* et *E.Coli* induites par l'extrait aqueux de *Trigonella foenum-graecum.L*

Tableau 4. Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne induites par l'extrait aqueux de *Trigonella foenum-greacum L*

Les souches	Diamètre des zones d'inhibition (mm)		
	200(mg/ml)	600(mg/ml)	900(mg/ml)
<i>S.aureus</i> ATCC 6633	25	28	29,5
<i>Bacillus Subtilus</i> ATCC 6633	26	28	28,5
<i>E.Coli</i> ATCC 87393	0	0	0

L'EMet de *Trigonella foenum-greacum L* obtenue par (Mawahib *et al.*, 2015) et l'EAQ testé, les deux extraits ne présente aucune effet sur l'*E. Coli*. Mais avec *S. aureus*, *Bacillus Subtilus* sont comme suit :

- L'EAQ testé possède une forte activité antibactérienne.
- L'EMet aucune activité.

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

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

4.2. L'antibiogramme

Les souches de bactéries (*S.aureus*, *Bacillus Subtilus*, *E.Coli*) ont montré des sensibilités différentes aux antibiotiques standards testés : Gentamicine (G), Oxacilline (OX), Ampicilline (Amp). Les résultats des zones d'inhibition sont présentent dans la (fig.8) et (tab.5)

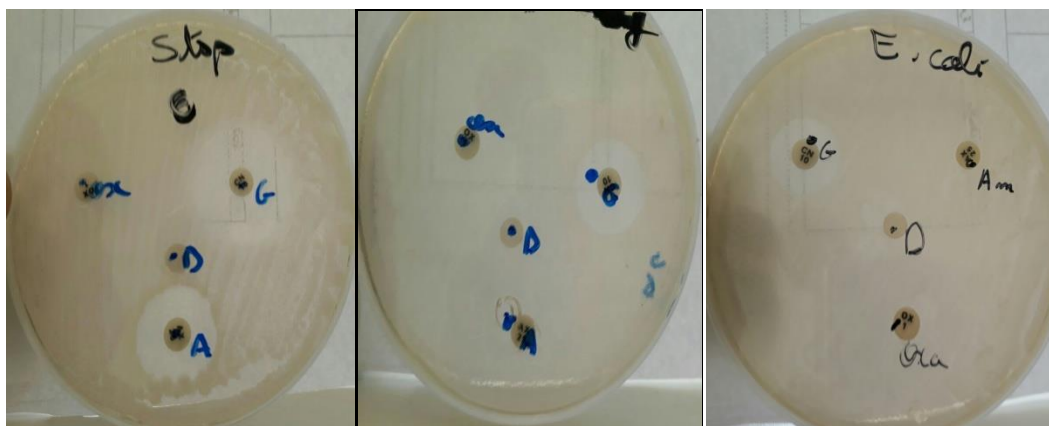


Figure 12 : L'antibiogramme de *S.aureurs*, *Bacillus Subtilis*, *E.Coli*

Tableau 5 : Diamètres des zones d'inhibition de l'antibiogramme de *S.aureurs*, *Bacillus Subtilis*, *E.Coli*

Les souches	Diamètre des zones d'inhibition (mm)			
	Contrôle négative (H ₂ O distillé)	gentamicine (G)	oxacilline (OX)	Ampicilline (Amp)
<i>S.aureurs</i> ATCC 6633	0	23	0	20
<i>Bacillus Subtilis</i> ATCC 6633	0	18	0	0
<i>E.Coli</i> ATCC 87393	0	16	0	0

Pour cela le H₂O distillé a été testé comme solvant, les résultats montrent que le solvant est approprié et ne présente aucun effet sur la croissance normale des souches microbiennes.

La bactérie *E.coli* est sensible à la gentamicine avec de diamètre de zone d'inhibition 16mm, alors qu'elle est résistante à l'oxacilline et l'Ampicilline.

Bacillus subtilis est une bactérie à Gram+, elle est sensible à la gentamicine avec de diamètre de zone d'inhibition 18 mm, alors qu'elle a montré résistante à l'oxacilline et l'Ampicilline.

Staphylococcus aureus est une bactérie à Gram +, elle est sensible à la gentamicine (23mm) et à l'Ampicilline (20mm), mais résistante à l'oxacilline.

Dans l'étude de (Mawahib *et al.*, 2015) , ont montré que *E.coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* sont des souches sensible à la gentamicine (17mm ,25mm,17 mm) et à l'Ampicilline (20mm ,20mm,11mm) , respectivement.

En vue des résultats obtenus pour l'antibiogramme et tenant compte des concentrations des disques d'antibiotiques, le pouvoir inhibiteur de *Trigonella foenum-greacum.L* sur *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* est très satisfaisant en comparaison à la gentamicine ce qui est très encourageant pour développer des préparations médicamenteuses à base de *Trigonella foenum-greacum L.*

Cela est interprété par le fait que les plantes produisent une variété énorme de petites molécules antibiotiques ayant un large spectre de structures telles que les térapénoïdes, les glycostéroïdes, les flavonoïdes et les polyphénols. Cependant, la plupart de ces petites molécules ont une faible activité antibiotique par rapport aux antibiotiques communs produits par les bactéries.

Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Une étude des propriétés antioxydante et antimicrobienne a concerné une plante appartenant à la famille des légumineuse, employée en Algérie grâce à ses propriétés thérapeutiques.

Le dosage des poly-phénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu, et des flavonoïdes en utilisant la méthode au trichlorure d'aluminium, nous a permis d'évaluer la richesse de notre extrait en ces composés: la teneur en poly-phénols totaux est de 272,64 (μg EAG /mg) et la teneur en flavonoïdes est de 95,85(μg EQ /mg). Il ressort de ces analyses que *Trigonella foenum-greacum* Lest très riche en composé poly phénolique.

L'évaluation des propriétés antioxydantes *in vitro* de l'extrait a été effectuée par la méthode le piégeage du radical libre DPPH. Les résultats ont montré que l'extrait aqueux de *Trigonella foenum-greacum* L possède une activité antioxydante et antiradicalaire très importante, grâce à leurs constituants (composés polyphénoliques), qui sont considérées comme des agents antioxydants de première classe et peuvent être employées pour des applications thérapeutiques, sachant que les antioxydants contribuent de manière très efficace à la prévention des maladies telles que le cancer, et les maladies cardiovasculaires.

Au cours de cette étude nous avons réalisé également un test antibactérien de *Trigonella foenum-greacum* L vis-à-vis 3 bactéries, les résultats microbiologiques ont montré quel'extrait a exercé un effet antibactérien sur le *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, mais sans activité avec *Escherichia coli*.

Cela nous a permis d'établir une corrélation entre le contenu poly phénolique de notre extrait et les activités biologiques testées.

Trigonella foenum-greacum L est un agent antioxydant naturel prometteur et non toxique, ayant un large spectre de fonctions biologiques et devrait trouver une application en tant que ancien médicament, indiqué notamment pour les désordres diabétique, inflammatoires, et les pathologies causées par le stress oxydatif.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

A

Albano, S. M., Miguel, M.G., (2010). Biological activities of extracts of plants grown in Portugal. *Industrial Crops and Products*, 1-6.

Alkur, A., Hamed, T. R. and Al-Sayyed, H., (2008).Tannin contents of selected plants used in Jordan. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, 4, 265 – 274.

Al-Reza, S.M., Rahman, A., Ahmed, Y. and Kang, S.C., (2010).Inhibition of plant pathogens in vitro and in vivo with essential oil and organic extracts of *Cestrum nocturnum* L. *PesticBiochemPhysiol*, 96, 86–92.

Ardestani, A., Yazdanparast, R., (2007). Flavonoids as potential therapeutic agents for type 1 diabetes. *Medical hypotheses*, 69(4), 955.

Athamena, S., Chalghem, I., Kassah-Laouar, A., Laroui, S. and Khebri S., (2010). Activite anti-oxydante et antimicrobienne d'extraits de *cuminumcyminum*L. *Lebanese Science Journal*, 11(1).

B

Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., Vasseur, J., Cazin, M., Cazin, J. C. and Pinkas, M., (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arznei. Forschung*, 46, 1086-1089.

Bentahar, A., Khennouf, S., Bouaziz, A., Baghiani, A., Dahamna, S., Amira, S. and Arrar, L., (2016). Polyphenols Content and Antioxidant Activities of Selected Algerian Plants Used for Gastro-duodenal Ulcers. *Der Pharma Chemica*, 8 (12) ,88-99.

Boizot, N., Charpentier, J.P., (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier des Techniques de l'Inra*, 79-82.

Bouaziz, A., Khennouf, S., Abdalla, S., Djidel, S., Abu Zarga, M., Bentahar, A., Dahamna, S., Baghiani, A., Amira, S., (2014). Phytochemical analysis, antioxidant activity and hypotensive effect of Algerian azarole (*CrataegusazarolusL.*) Leavesextracts. *Res J PharmBiolChemSci*, 5(2), 286-305.

Bonnaillie, C., Salacs, M., Vassiliova, E., Saykova, I., (2012). Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide (*ArachishypogaeaL.*). *Revue de génie industriel*, 35-45.

Boukhobza, F. and Goetz, P., (2014).Phytothérapie en odontologie. *Edition CDP*.

Bouyahya, A., Abrini, J., Bakri, Y., Dakka, N., (2017). Screeningphytochimique et évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'*Origanumcompactum*.*Phytothérapie*.

Bukhari, S. B., Bhanger, M. I. and Memon, S., (2008). Antioxidative Activity of Extracts from a Fenugreek Seeds (*Trigonella foenum-graecum*).*Pak. J. Anal. Environ. Chem*, 9 (2).

C

Cazes, J., (2005). Encyclopedia of chromatograph. Second Edition. *Edition Taylor & Francis*, 1250.

Chabane, D., Saidi, F., Rouibi, A. and Azine, K., (2013).Activité hypoglycémique de l'extrait aqueux d'*Ajugaiva L. schreber* chez les ratsdiabétiques induite par l'alloxane.*AfriqueSCIENCE*, 09 (1), 120– 127.

Chetley, A., (2000).Médicaments à problèmes. *Paris: edition Re Med*, p 405.

Cohen, J. H., Kristal, A .R. and Stanford, J. L., (2000). Fruit and vegetable intakes and prostate cancer risk. *Journal of the National Cancer Institute*, 92, 61-68.

Cowan, M. M., (1999). Plant Products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564 – 582.

D

Daglia, M., (2011). Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 23, 1 – 8.

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.

Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N., (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food chemistry*, 97(4), 654-660.

Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Vidal, N., Lesgards, J. F. and Stocker P., (2007). Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic compounds and their antioxidant activity. *Eur. Food Res. Technol*, 224, 801-809.

Dulger, B., Gonuz, A., (2004). Antimicrobial activity of some Turkish medicinal plants. *Pakistan journal of biological sciences*, 7 (9), 1559-1562.

E

El oualilalami, A., EL-Akhal, F., Ouedrhiri, W., Ouazzani Chahdi, F., Guemmouh, R., Greche, H., (2013). Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de deux plantes aromatiques du centre nord marocain : *Thymus vulagris* et *Thymus satureioidis*. *Les technologies de laboratoire*, 8(31), 27-33.

Erlund, I., (2004). Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. *Nutrition Research*, 24, 851-874.

F

Fadili, K., Zerkani, H., Amalich, S., Zair, T., (2017). Phytochemical study and evaluation of antioxidant activity of leaves and fruits of *Capparis Spinosa L.* *American journal of innovativeresearch and applied sciences*, 5(2), 108-118.

Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M. and AbdellyC., (2008). Phenolic composition of *Cynaracardunculus L.* organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, 331, 372-379.

FKIH, S., (2007). Etude de l'effet de l'irradiation ionisante sur certains polyphenols alimentaires et résidus pesticides.

G

Ghedira, K., Goetz1, P., Le Jeune, R., (2010). Fenugrec: *Trigonellafoenum-græcumL.* (Fabaceae ex. Leguminosae). 8, 180-4.

Gazengel, J. M. and Orecchioni, A. M., (2013). Le préparateur en pharmacie, Guide théorique et pratique. 2^{ème} édition. *Edition Lavoisier TEC & DOC, Paris*, 1174.

Grace, D. and Fetsch, A., (2018). "Staphylococcus aureus—A Foodborne Pathogen: Epidemiology, Detection, Characterization, Prevention, and Control: An Overview." In *Staphylococcus aureus. Elsevier*, 3–10.

Gomez-Caravaca, A.M., Gomez-Romero, M., Arraez-Roman, D., Segura-Carretero, A., Fernandez-Gutierrez, A., (2006). Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *J. Pharmaceutical and BiomedicalAnalysis*, 41,1220-1234.

H

Hadjadj, S., (2017). Analyses phytochimiques et activités biologiques des extraits de deux plantes médicinales du Sahara septentrional Est Algérien. *Thèse pour l'obtention du diplôme de doctoratès Sciences. Universite Kasdi Merbah- Ouargla*, 99.

HARBORNE, J. B., (1998). Phytochemical Methods: A guide to moderne techniques of plant analysis. *Ed 3. CHAPMAN & HALL*, 202-209.

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.

Haleng, J., Pincemailj., Defraigne, J.O., Charlier, C., Chapelle, J.P., (2007). Le stress oxydant. *Rev Med Liege*, 62 (10), 628-638.

K

King,L.A., Loukiadis, E., Mariani-Kurkdjian, P., Haeghebaert, S., Weill, F. X., Baliere,C., Ganet, S., Gouali, M., VaillantV., Pihier, N., Callon,H., Novo,R., Gaillot, O.,Thevenot-Sergentet,D., Bingen,E., Chaud,P. and. de Valk, H., (2014). Foodborne transmission of sorbitol-fermenting *Escherichia coli* 150 O157: [H7] via ground beef: an outbreak in northern France, 2011. *ClinicalMicrobiology and Infection*, 20 (12), 1136-1144.

Kunst, F.N., Ogasawara et al., (1997)."The complete genome sequence of the grampositive bacterium *Bacillus subtilis*. " *Nature*, 390(6657), 249-56.

L

Lobo,V., Patil, A., Phatak, A., Chandra, N., (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev*, 4(8), 118-126.

LadohYemeda, C.F., Dibong, S.D., Nyegue, M.A., DjembissiTalla, R.P., LentaNdjakou, B.,MpondoMpondo, E., Yinyang, J., Wansi, J.D., (2014). Activité antioxydante des extraits méthanoliques de *Phragmantheracapitata(Loranthaceae)* récoltée sur *Citrus sinensis*. *Journal of Applied Biosciences*, 84,7636– 7643.

Lozniewski, A., Rabaud C., Nancy., (2010). Résistance bactérienne aux antibiotiques : Infections associées aux soins. *CCLIN Sud-Est*.

M

Mabrouk, B., D'Araujo, M. E. M., Gouia, H., Bettaieb, B. K. L., (2017). Effets de l'acide salicylique sur l'activité antioxydante de Fenugrec (*Trigonella-foenum-graecum*L). Cultivé en présence d'Arsenic et de Zinc. *Revue des Régions Arides*, (43).

Marzougui, N., Elfalleh, W., Boubaya, A., Guasmi, F., Ferchichi, A., Lachieheb, B .and BeJi M., (2010). Répercussion de la polyploïdie sur le profil moléculaire ISSR et sur les contenus en vitamines et en protéines chez *Trigonella foenum-graecum L.* *Acta Bot. Gallica*, 157(1), 89- 99.

Mawahib, E.M. E., Ammar, M.A .A. and BadrEldin A.E.S., (2015). Antimicrobial Activities and Phytochemical Screening of Callus and Seeds Extracts of Fenugreek (*Trigonellafoenum-graecum*). *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*, 4(2), 147-157.

MEROUANE, A., NOUI, A., MEDJAHED, H., NEDJARI BENHADJ ALI, K . and SAADI, A., (2014). Activité antioxydante des composés phénoliques d'huile d'olive extraite par méthode traditionnelle. *Int. J. Biol. Chem. Sci*, 8(4), 1865-1870.

Menvielle-Bourg, F. J., (2005). La superoxydedismutase , puissant antioxydant naturel, désormais disponible par voie orale. *Phytothérapie*, 118 – 121.

Mitscher, L. A., Segaran, P. P., Gentry, E. J. and Shankel, D. M., (1999). “Multiple Drug Resistance”. *Medicinal Research Reviews*, 19(6), 477-496.

Molyneux, P., (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) forestimating antioxydant activity. *Journal of Science Technology*, 26(2), 211-219.

Nastro, A., Germano, M.P., D'Angelo, V., Marino, A. and Cannatelli, M.A., (2000). Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity, 30(5), 79 – 384.

Nkhili, E., (2009). Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. *Diplôme de Doctorat. Université Cadi Ayyad- Marrakech.*

Ngene, J-P., Ngoule, C. C., Pouka, K. C-M., Mvogo, O. B., Ndjib, R. C., Dibong., S. D., Mpondo, M. E., (2015) .Importance dans la pharmacopée traditionnelle des plantes à flavonoïdes vendues dans les marchés de Douala est (Cameroun).*Journal of Applied Biosciences*, 88, 8194– 8210.

O

Obeidat, M., Shatnawi, M., Al-alawi, M., Al-Zu'bi, E., Al- Dmoor, H., Al-Qudah M., El-Qudah, J. and Otri, I., (2012).Antimicrobial activity of crude extracts of some plant leaves. *Res JMicrobiol*, 7, 59–67.

Ojeil, A., El Darra, N., El Hajj, Y., BouMouncef, P., Rizk, T.J. and Maroun, R.G., (2010). Identification et caractérisation de composés phénoliques extraits du raisin chateausara. *Lebanese Science Journal*, 11(2).

Organisation Mondiale de la Santé (OMS), (2002). Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002- 2005, *Genève*. p 78.

Oueslati, H .A ., Ghédira, K ., (2015).Notes ethnobotanique et phytopharmacologique sur *Trigonella foenumgraecum*. *Phytothérapie*, 13, 234-238.

P

Packer, L. and Weber, S. U., (2001). The role of vitamin E in the emerging field of nutraceuticals. *In: Kramer K, Hoppe P P and Packer L. Nutraceuticals in health and disease prevention. New York (Marcel Dekker), 27-43.*

Parekh, J., Chanda, S.V., (2007). In vitro antimicrobial activity and phytochemical analysis of some Indian medicinal plant. *Turkish journal of biology*, 31, 53-58.

R

Ribéreau-Gayon, P., (1968). Les tannins, les composés phénoliques des végétaux. *Paris. Ed Dunod*, 173-201.

Ribéreau-Gayon, J., Peynaud, M., Ribéreau-Gayon, P. and Sudraud, P ., (1972). Sciences et techniques du vin. Tome 1, analyse et controle des vins. *Ed. Dunod, Paris*,p 671.

Robert, B., (2006). Stress oxydant et vieillissement. *Medecine/ sciences*, 22, 266-72.

Rota, M.C., Herrera, A., Martinez, R.M., Sotomayor, J.A., Jordan, M.J., (2008). Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. *Food control*, 19, 681-687.

S

Sarr, S.O., Fall, A.D., Gueye, R ., Diop, A., Diatta, K., diop N ., Ndiaye, B. and DIOP Y. M ., (2015). Etude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Vitex doniana*(Verbenacea). *Int. J. Biol. Chem. Sci*, 9(3), 1263-1269.

Sharma, S., Sheehy, T., Kolahdooz, F. and Barasi, M., (2015). Nutrition at a Glance. *Second Edition Wiley Backwell*, p 162.

Seasotiyal., Siwachp., Bais., Malika., Bharti1p., Sunita, D., (2014). Free radical scavenging activity, phenolic contents and phytochemical analysis of seeds of *trigonellafoenumgraecum*.*Asian Pac. J. Health Sci*, 1(3), 219-226.

Sqalli, H., EL Ouarti, A., Ennabili, A ., Ibsouda, S., Farah, A., Haggoud, A ., Houari A., Iraqui, M., (2007).Evaluation de l'effet antimycobactérien de plantes du centre-nord du maroc.*Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 146, 271-288.

T

Tawaha, K., Alali, F. Q., Gharaibeh, M., Mohammad, M. and El-Elimat, T., (2007). Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food Chem*, 104, 1372-1378.

U

Ulanowska, K., Traczyk, A., Konopa, G. and Wegrzyn, G., (2008). Differential antibacterial activity of genistein arising from global inhibition of DND, RNA and protein synthesis in some bacterial strains. *Arch. Microbiol*, 184(5), 271 –278.

V

Vuorela, S., (2005). Analysis, isolation, and bioactivities of rapeseed phenolics. *université Helsinki*.

W

Waston, R. R., Preedy, V. R. and Zibadi, S., (2013). Polyphenol in Human Health and Disease. *Edition Academic Press is an Imprint of Elsevier*. p 643.

Y

LE Loir, Y. and Gantier, M., (2009) .Staphylococcus aureus. *Lavoisier*.

Résumé

L'objectif de cette étude est d'évaluer les activités antioxydant et antibactérienne de l'extrait aqueux (E.Aq) des grains de *Trigonella foenum-greacum L* (El holba), une plante médicinale de la pharmacopée traditionnelle de l'Algérie. L'activité antioxydant a été évaluée en utilisant le test de DPPH. Dans un premier temps, la teneur en polyphénols totaux, en flavonoïdes de l'extrait a été effectuée. Par ailleurs, l'effet antibactérien de l'E.Aq a été évalué selon la méthode de diffusion de disque vis-à-vis de trois souches bactériennes.

Les résultats obtenus ont montré la richesse de cet extrait aqueux en polyphénols totaux, en flavonoïdes avec des valeurs de $272,64 \pm 0,09 \mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait, $95,85 \pm 0,007 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait respectivement, à un rendement 55,24%. Par ailleurs l'extrait a montré une très forte activité anti-radicalaire vis-à-vis du radical DPPH même supérieure à celle du BHT (0.0057 ± 0.0012). Les résultats révèlent que l'extrait a exercé un effet antibactérien de trois concentration différents (200mg/ml ; 600 mg/ml; 900 mg/ml) considérable seulement sur *Staphylococcus aureus*, *Bacillus Subtilis* avec des zones d'inhibition de proche (25 mm et 29,5 mm, respectivement).

En conclusion, l'E.Aq de *Trigonella foenum-greacum L* possède une excellente activité antioxydante et un puissant effet antibactérien.

Mots clés : activité antibactérienne, activité antioxydant, polyphénols, *Trigonella foenum-greacum L*,

Abstract

The objective of this study is to evaluate the antioxidant and antibacterial activities of the aqueous extract (E.Aq) of the seeds of *Trigonella foenum-greacum L* (El holba), a medicinal plant of the traditional of Algeria. Antioxidant activity was assessed using the DPPH test. At first, the content of total polyphenols, flavonoids of the extract was carried out. Moreover, the antibacterial effect of E.Aq was evaluated according to the disk diffusion method against three bacterial strains.

The results obtained showed the richness of this aqueous extract in total polyphenols, in flavonoids with values of $272.64 \pm 0.09 \mu\text{g EAG / mg}$ of extract, $95.85 \pm 0.007 \mu\text{g EQ / mg}$ of extract respectively, with a yield of 55.24%. Furthermore the extract showed a very strong anti-radical activity against the radical DPPH even greater than that of BHT (0.0057 ± 0.0012). The results reveal that the extract exerted an antibacterial effect of three different concentrations (200 mg / ml, 600 mg / ml, 900 mg / ml) considerable only on *Staphylococcus aureus*, *Bacillus Subtilis* with near inhibition zones 25 - 29, 5 mm and 26-28,5mm, respectively.

In conclusion, E.Aq of *Trigonella foenum-greacum L* has excellent antioxidant activity and a strong antibacterial effect.

Key words: antibacterial activity, antioxidant activity, polyphenols, *Trigonella foenum-greacum L*,

المخلص

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم الفعالية المضادة للأوكسدة والمضادة للبكتيريا في المستخلص المائي (E.Aq) لبذور *Trigonella foenum-greacum L* (الحلبة) ، وهي نبات مستعمل في الطب التقليدي في الجزائر. في بادئ الامر، تم تقدير محتوى المستخلص من المركبات متعددة الفينول، الفلافونويدات حيث أظهرت النتائج المتحصل عليها على ثراء هذا المستخلص المائي في متعددة الفينول، الفلافونويدات بقيم 272.64 ± 0.09 ميكروغرام / EAG مغ مستخلص، 95.85 ± 0.007 ميكروغرام مكافئ / مغ مستخلص على التوالي. في عائد 55.24 %.

من جهة أخرى، أظهر المستخلص المائي نشاطية إزاحية جد عالية لجزر DPPH أكبر من BHT (0.0057 ± 0.0012). في هذه الدراسة تم أيضا تقييم الفعل المضاد للبكتيريا لثلاث سلالات بكتيرية حيث تكشف النتائج أن المستخلص بتركيزه المختلفة (200 مغ / مل ، 600 مغ / مل ، 900 مغ / مل) يثبط فقط سلالتى *Staphylococcus aureus*, *Bacillus Subtilis*.

كخلاصة يمكن القول أن المستخلص المائي يملك فعالية كبيرة مضادة للأوكسدة و مضادة للبكتيريا.

الكلمات المفاتيح: *Trigonella foenum-greacum L*، عديدات الفينول ، الإجهاد التأكسدي ، مضادات البكتيري