

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

FACULTE : SCIENCE

DEPARTEMENT : SNV

N° :.....



DOMAINE : SCIENCE DE LA NATURE
ET DE LA VIE

FILIERE : BIOLOGIE

OPTION : BIOTECHNOLOGIE
VEGETALE

**Mémoire présenté pour l'obtention
Du diplôme de Master Académique**

Par :

BATTA Hafsa et BOUZIDI Naima

Intitulé

Contribution à l'étude de protéines de fenugrec

Trigonella foenum-graecum L. (Fabacées)

et évaluation de leur fonctionnalité alimentaire.

Soutenu devant le jury composé de :

Président : Dr. L.BENDERRADJI

Université de M'sila

Rapporteur : Dr. S.FRIHA

Université de M'sila

Examineur : Dr. M.GHADBANE

Université de M'sila

Année universitaire : 2017 /2018



Remerciements

Tout d'abord, nous remercions Dieu « Tout Puissant » de nous avoir accordé la force, le courage et les moyens à fin de pouvoir accomplir ce modeste travail.

Nous remercions chaleureusement Dr.Friha Samira d'avoir proposé ce thème et accepté de nous encadrer et pour son aide, ses orientations, ses conseille et ses corrections sérieuse pour ce travail.

Nous tenons à remercier Dr Ghadban Moloud a acceptée d'examiner notre travail.

Nous remercions également Dr Benderradji Laide a d'avoir accepté de jurer ce travail.

Un merci tout particulier s'adresse au Mr Ayadi Malik, chercheure au Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBT) a Constantine pour son grand aide dans ce travail.

Un très merci, à l'ensemble du personnel de laboratoire.

Enfin, un grand merci, à toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.





Dédicace

Avant tout je remercie Allah pour les tout, Je dédie ce modeste travail :

A ma mère khadidja

Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

A mon père Abdelhamid

*Je ne peux pas décrire tous vos sacrifices pour moi
Tu es le père merveilleux, qui m'a enseigné l'amour de la science et la persévérance pour cela.*

A mes chères frères : Kawider, Abdeldjabar, Farid et Kamel.

A mes chères sœurs : Zeineb, Nacira, Houda, Hafida et Rebiha.

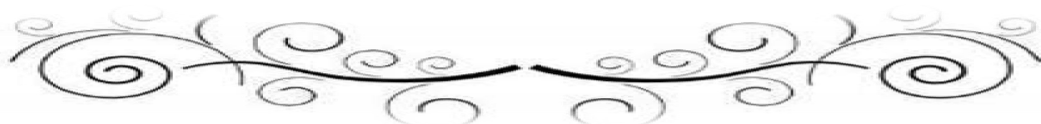
A ma chère sœur: l'écrivaine Nour Mustafa Tawfik de Hijaz.

A mon binôme : Naima bouzidi.

A ma belle et chère amie : Zahra Batta .

A toute les familles : Batta Kouider , Batta Ramdan et Berbakh Ahmed.

Hafsa





Dédicace

Avant tout je remercie Allah pour les tout,

Je dédie ce travail à

Ma famille BOUZIDI . Et en particulier a mes très chers

Parents : AISSA et NACIRA;

Qui ont su me comprendre, ont pu m'aider et qui n'ont

épargné aucun effort pour mon satisfaire ;

Mes frères Haytham, Farouk, Djaber, Oussama;

A mes grands-pères et a mes grands-mères chacun son nom ;

A tout la famille BOUZIDI et Gouz.

A mon mari :Mustapha .

A mon binome : Hafsa;

A mes chères amies : Ahlam ,fatna ,kheira ,Nora ,Souhila

A tout la promotion de 2^{ème}année Master Biotechnologie

végétale LMD.

NAIMA



SOMMAIRE

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

INTRODUCTION

CHAPITRE(I) SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I-1- les fabacées	(03)
I-2- Le fabacée <i>Trigonella foenum-graecum L.</i>	(03)
I-2-1- Historique	(04)
I-2-2- Distribution	(05)
I-2-3- Dénominations internationales.....	(05)
I-2-4- Morphologie de la plante	(05)
I-2-5-Classification	(07)
I-2-6- La croissance de la plante	(07)
I-2-7- Propriétés symbiotiques de la plante	(09)
I-2-7-1- Nodulation	(09)

CHAPITRE(II) FONCTIONNALITE ALIMENTAIRE

II-1-Généralité	(13)
II-1-1Fonctionnalité alimentaire positive	(13)
II-1-1Fonctionnalité alimentaire négative.....	(14)
II-2- Fonctionnalité alimentaire du fenugrec	(14)
II-2-1- Effets anti-diabétiques.....	(14)
II-2-2-Effet hypocholestérolémiant.....	(15)
II-2-3- Effets anti-fertilité	(16)
II-2-3-1-Effets chez le mâle.....	(16)
II-2-3-2-Effets chez la femme	(17)
II-2-4- Ulcère gastrique et effets cicatrisants.....	(18)
II-2-5- Effets anticancéreux	(18)
II-2-6- Effets anti-microbiens	(18)
II-2-7- Propriétés antihelminthiques.....	(18)
II-2-8- Effets anti-nociceptifs.....	(19)

CHAPITRE(III) MATERIELS ET METHODES

I - Matériel végétal	(20)
II- Méthodes	(20)
II-1- Technique d'électrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence de SDS	(20)
II- 1-1 L'extraction	(20)
II-1-2- La dénaturation	(22)
II-2 Dosage des protéines totales	(26)

CHAPITRE(IV) RESULTATS ET DISCUSSION

I- Dosage des protéines totales	(27)
I-1-Concentration des protéines totale selon le tampon d'extraction	(27)
II- Détermination des profils protéiques par SDS-PAGE	(28)
III- L'analyse de profil de migration du fenugrec	(29)

CONCLUSION

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

LISTE DES ABREVIATIONS

EDTA: Ethylénediaminetétraacétique .

FSH: Hormone Folliculo-Stimulante.

g: gramme.

GH : Hormone de croissance.

HDL : Lipoprotéines de Haute Densité.

HbT: fenugrec+ tampon.

LDL : lipoprotéine de basse densité

LH: Hormone Lutéinisante.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé .

pH : potentiel Hydrogène

PRL : Hormone de lactation (prolactine)

PVP : Poly Vényl Pyrrolidone.

SDS : Dodécyl Sulfate de Sodium

STZ : Streptozotocine

LISTE DES FIGURES

- Figure 1 :** (a) : Trigonella fleurissante,(b) : pied de Trigonella,(c) : feuilles ,(d) : gousses,(e) : graines.....(6)
- Figure 2:** Les étapes de croissance d'un semis de fenugrec.....(7)
- Figure 3:** Structures des principaux constituants de la graine(8)
- Figure 4:** Un nodule typique de Rhizobium meliloti sur fenugrec(10)
- Figure 5:** Petits nodules éparpillés et inefficaces sur les racines secondaires du fenugrec.(11)
- Figure 6:** Degré de nodulation des plantes de fenugrec avec Rhizobium meliloti 2012 dans vierge(a)et(b) dans un sol non vierge.....(12)
- Figure7:** Effet de la nodulation avec Rhizobium meliloti 2012 sur le rendement en graines de plantes de fenugrec.....(12)
- Figure 8:** Composés anti-diabétiques ou hypocholestérolémiants putatifs dans les graines de fenugrec.....(16)
- Figure 9 :** Mise des billes dans les tubes(21)
- Figure 10:** Le tessulyser(21)
- Figure 11 :** Aspect le surnageant à la fin de l'étape de l'extraction(22)
- Figure 12 :**L'étape de la dénaturation :(a)l'ajoute de tampon de charge sous un l'hotte,(b)incubation 94c°(23)
- Figure 13 :** La séparation(25)
- Figure14:** Le nanodrope.....(26)
- Figure 15 :** La concentration des protéines totales :Hb :fenugrec, T :tampon.....(27)
- Figure 16 :**Les profils de migration obtenus.....(29)
- Figure 17:** Comparaison de profil de migration du fenugrec avec celui du blé dur.(30)

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : La composition chimique de la graine de fenugrec	(8)
Tableau 2 : Composition des tampons d'extractions	(21)
Tableau 3 : Les composants du gel SDS PAGE 12.....	(24)
Tableau 4 : Les composants du gel SDS Page 15%	(24)
Tableau 5 : les concentrations en protéines totales de fenugrec selon le tampon d'extraction ..	(28)
Tableau 6 : Poids moléculaire de chaque bande	(31)
Tableau 7 : Le poids moléculaire des protéines (www.wikipedia.com).....	(21)

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Le genre *Trigonella L.* est un membre de la famille fabaceae qui a été la deuxième grande famille des plants fleurissants avec 650 genres et 1800 espèces (Singh et al., 2008). *Trigonella foenum-graecum L.* du nom Arabe de Helba est un herbe annuelle connu sous le nom de fenugrec (Talip et al., 2011), il vient de foenum-graecum signifiant le foin de grec qui est un herbe séché pour être utilisée comme un fourrage dans le passé (Ionescu et al., 2013).

Le fenugrec est distribué dans la plus part des régions de monde Europe, Afrique de nord, Asie, Argentine, Canada, Amérique, Australie, (Ionescu et al., 2013).

La composition chimique de la graine est variée, elle est constituée par : des protéines (28–30 %), des glucides (20–45 %), des sapogénines et des saponosides stéroïdiques (4,5 %), et des acides aminés et Flavonoïdes (Ghidira et al., 2010). A partir de ça richesse en composants, le fenugrec est considéré comme une plante médicinale.

Selon des statistiques de 2003 de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 80% de la population mondiale a recours à la médecine traditionnelle pour satisfaire aux besoins en soins de santé primaire.

Plusieurs études ont prouvé que le fenugrec est un puissant aliment fonctionnel grâce à sa richesse en composés aromatiques : trigofenoside A, foenugraecine, trigonelline, et 4-hydroxyisoleucine.

L'utilisation des plantes aromatiques dans la thérapeutique ne datent pas d'aujourd'hui. Les Algériens en particulier et les arabes en général, ont utilisé depuis les temps les plus anciens les plantes comme source majeure de médicaments.

Notre présent travail va s'intéresser principalement à la fraction protéique dans les graines de cette plantes médicinales bien connues pour leur utilisation thérapeutique et leurs propriétés hormonales en médecine populaire. Cependant, il est important de signaler que l'usage répandu et les bienfaits décrits pour cette plante comme complément hormonale par la population Algérienne restent encore non supportés par des études scientifiques, d'où l'intérêt de notre travail. Ainsi, nous avons entrepris une étude sur la teneur en protéines suivi par une étude comparatif de ces derniers par rapport à ce qui est connue sur les hormones suspectées. Il s'agit de l'hormone de croissance (GH), l'hormone de lactation (PRL) et des hormones de régulation dans le tractus génital féminin (FSH, LH et Œstrogène)

L'objectif primordial de notre travail vise à étudier le profil électrophorétique des protéines de fenugrec à partir duquel on pourra penser à la contribution de cette plante dans le contrôle et la régulation hormonale du corps animal et surtout humain, en plus d'une étude sur l'effet de la composition de tampon d'extraction sur la quantité et la qualité des protéines extraites à partir de la farine des graines du fenugrec par la méthode d'électrophorèse SDS- page.

Le présent mémoire est structuré en deux parties ; Dans la première partie, nous allons passer en revue les données de littérature sur la présentation et la description de la plante et de sa fonctionnalité alimentaire. Puis, la deuxième partie, qui représente l'essentiel de notre travail, consistera en une étude électrophorétique sur les protéines de fenugrec avec un dosage des protéines totales où nous présenteront l'ensemble des données et des résultats obtenus sur les protéines séparés.

CHAPITRE (I)
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I-1- Les Fabacées

Les Fabacées constitue une immense famille de plantes dont le seul caractère commun est de produire des fleurs ayant un ovaire libre, constitué par un seul carpelle qui donne un fruit appelé gousse ou légume. on compte 475 genres et environ 16400 espèces se répartissant en trois familles : *Mimosoideae*, *Caesalpinioideae* et *Fabacées* (Come et al. 2006). Elles constituent le groupe le plus important de plantes participant a la fixation de l'azote avec des bactéries symbiotiques (Raven et al.,2007).Cependant il y a encore 40 des légumineuses qui ont des grains riches en amidon (Fève, Haricot, Lentille, Pois, Pois chiche),en huile (Arachide ,Soja) ou en protéine (Fenugrec, Lupin, Soja), les trèfles, les luzernes , le sainfoin et le lotier servent a l'alimentation du bétail (Come et al.,2006).

L'intérêt agronomique des légumineuses provient en premier lieu de leur aptitude a la fixation symbiotique de l'azote, qui leur permet de produire en abondance des protéines végétales même en l'absence de fertilisation azoté, d'où leur intérêt également dans le cadre d'une agriculture durable (réduction des intrants, préservation et enrichissement des sols en azote) (Chabbi.,2010).

De nombreuses espèces cultivées appartiennent aux légumineuses. Elles constituent une source très important de protéine et de lipides dans l'alimentation humaine et animale (Chabbi., 2010).Elle constituent un apport de protéines peu couteux mais néanmoins important (18% à 30% de la graine sèche) (Baudoin et al., 2001).

I-2-Le fabacée *Trigonella foenum-graecum L.*

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

La région méditerranéenne est connue pour être l'habitat naturel du genre *Trigonella*. Les espèces sauvages du genre existent dans les pays d'Europe, l'Afrique du Nord, les îles Canaries, l'Afrique du Sud, l'Asie centrale et de l'Australie. Fréquemment cultivée elle est souvent sub-spontanée en Algérie (Rahmani et al.,2015).

I-2-1-Historique

Les plantes du genre *Trigonella* et en particulier de l'espèce cultivée *T. foenum-graecum* (fenugrec) étaient connus et utilisées à des fins différentes dans les temps anciens, en particulier en Grèce et en Egypte (Rouk et Mangesha, 1963). En Afrique du Nord, le Fenugrec a été cultivé autour des oasis sahariennes depuis très tôt (Duke, 1986).

Hidvegi et al. (1984) rapportent que des références de l'utilisation du fenugrec sont trouvées remontent à 1578 ; Des informations détaillées sur la plante ont été données dans le célèbre *Herbier de Kolozsvar* compilé par Melius (1578). Dans cet herbier de Transylvanie. Les graines de fenugrec ont été trouvées dans le tombeau de Toutankhamon (Manniche, 1989). Antiochus Epiphane, roi de Syrie, et tous ceux qui est entré dans le gymnase pour assister aux jeux étaient consacrés aux parfums d'or des plats contenant du fenugrec et d'autres plantes aromatiques (Leyel, 1987). Les feuilles de fenugrec étaient l'une des composantes du célèbre encens égyptien *Kuphi*, une fumée sacrée utilisée dans les rites de fumigation et d'embaumement (Rosengarten, 1969).

Miller (1969) signale que le fenugrec était une plante d'épice mentionnée dans les textes classiques.

Le fenugrec est l'une des plus anciennes plantes médicinales connues et même Hippocrate en pensait beaucoup (Lust et al.,1986). Il y a une prescription pour les propriétés rajeunissantes du fenugrec dans la période pharaonique (Manniche, 1989). Le fenugrec était le premier introduit dans la médecine chinoise dans la dynastie Sung, (Jones, 1989).

Dioscorides, un médecin grec d'Anazarbus en Cilicie, père de la pharmacologie, dans son examen de la définition et la fonction des épices dans sa *Materia Medica*, écrit que le fenugrec est un composé actif des onguents (Miller, 1969). Il décrit également un mélange de graines de fenugrec pour traiter la vulve. Au XVIIe siècle, les graines de fenugrec ont été recommandées pour aider à expulser le placenta des femmes après l'accouchement (Howard, 1987). L'herbe longtemps été un favori des Arabes et elle a été étudiée à l'école de Salerno par les médecins arabes (Stuart, 1986). Le fenugrec était connu et cultivé comme fourrage dans la Grèce antique. Théophraste lui avait donné les noms grecs (*Voukeras*) et (*Tilis*) et l'huile produite à partir de celui-ci a été appelé (huile de *Tilis*).

I-2-2-Distribution

La région méditerranéenne est connue pour être l'habitat naturel du genre *Trigonella*. Les espèces de le genre existe sauvage dans les pays d'Europe, Macaronesia (îles Canaries) Nord et Sud Afrique, Asie centrale et Australie (Anonyme, 1994).

Des espèces indigènes de ce genre ont été signalées (Anonyme, 1994): six pour l'Asie (*T. caelesyriaca*, *T. calliceras*, *T. emodi*, *T. geminiflora*, *T. glabra*, *T. kotschy*), cinq pour l'Europe (*T. graeca*, *T. striata*, *T. polycerata*, *T. monspeliaca*, *T. procumbens*), un pour l'Afrique (*T. laciniata*) et un pour l'Australie (*T. suavissima*), où il s'est bien adapté à l'habitat humide marécageux (Allen et Allen, 1981). Le reste de l'espèce existe sur plus d'un continent, soit vingt-trois espèces de ce genre ont été signalées pour l'Europe (Ivimey-Cook, 1968), dont quinze se produisent dans la région des Balkans (Polunin, 1988), y compris les quatorze pour la Grèce (Kavadas, 1956), dont quatre se rencontrent dans la fameuse île de Céphalonie (Phitos et Damboldt, 1985).

Cependant, l'espèce la plus intéressante du genre est le *T. foenum-graecum* largement cultivé (fenugrec).

I-2-3-Dénominations internationales (Ghidira et al 2010).

Français : fenugrec, foin grec, sénégré, sénégrain, trigonelle

Anglais: fenugreek seed, greek hay-seed, greek-clover

Allemand: griechischer Bockshornklee, Bockhornsamen, griechischer Heusamen

Portugais : feno greco, fenacho, alforba

Espagnol : alholva, fenogreco

Italien : fieno greco

Arabe: holba, helba, حلبة

I-2-4-Morphologie de la plante

Le fenugrec est une plante annuelle de 30-60 cm d'hauteur, les feuilles mesurent 20-25 mm de longueur (Moradi Kor et al 2013). Les fleurs de *Trigonella foenum-gracaecum L.* sont

blanchâtres ou jaune pâle, les variétés sauvages et cultivés existent avec 1 à 2 fleurs axillaires, sessiles blanchâtres au jaune citron. (Moradi Kor et al 2013).

La gousse mesure 5-7cm de longueur avec un bec persistant, chaque gousse est portante de 10-20 petites graines de 5mm de long, dur et jaune brunâtre (Moradi Kor et al 2013).

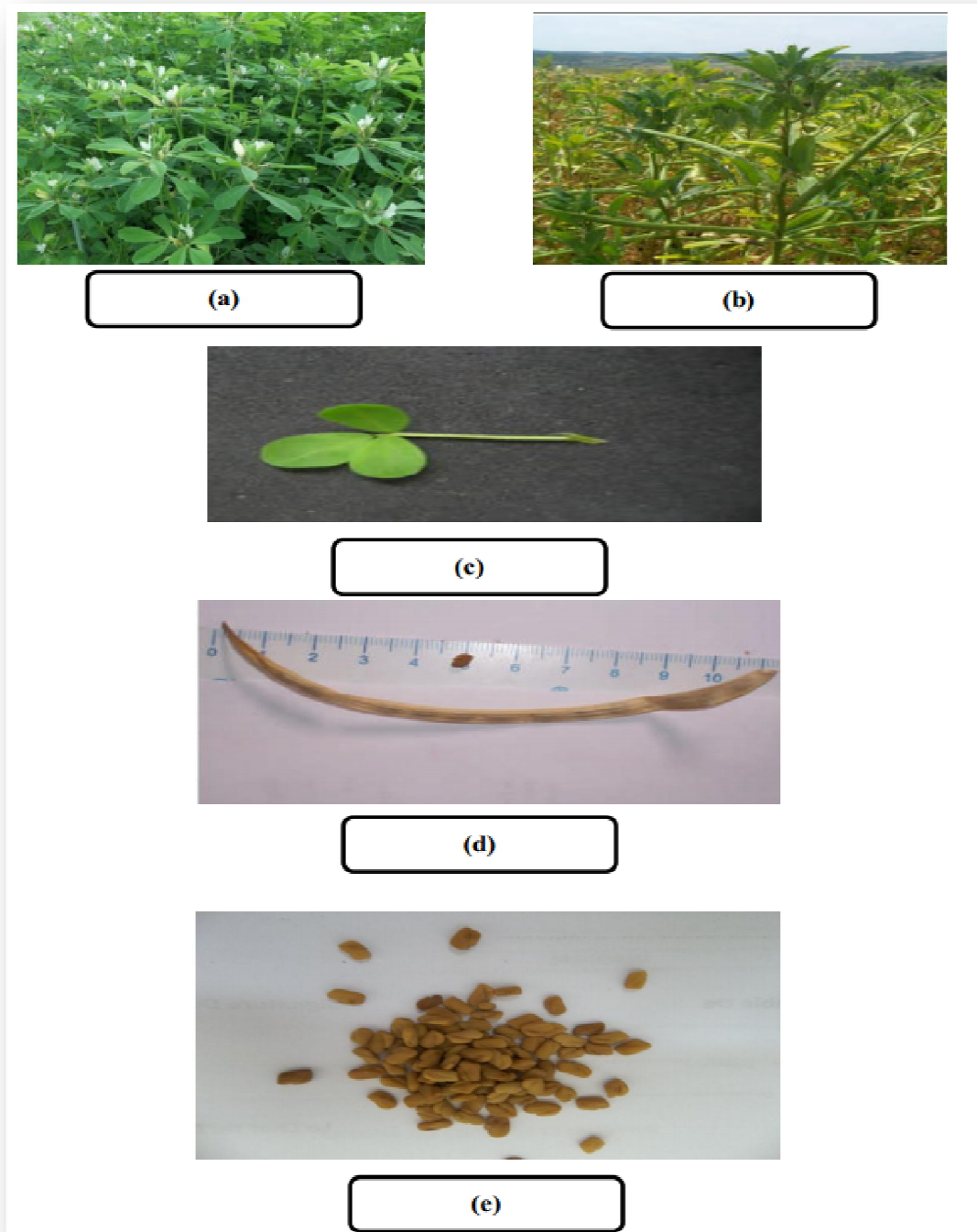


Figure 1: (a) : Trigonella fleurissante, (b) : pied de Trigonella, (c) : feuilles, (d) : gosses, (e) : graines. (Boudjnana et Mansour 2014) .

I-2-5-Classification (Ghidira et al 2010).

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Division :Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe :Rosidae

Famille : Fabaceae

Genre : Trigonella

Espèce :*Trigonella foenum-graecum L.***I-2-6-La croissance de la plante**

Après la germination des graines et la première croissance de la plantule, suit la croissance de la plante principale, qui comprend le développement des tiges, des fleurs, des gousses et des graines. Le fenugrec a une croissance indéterminée, ce qui signifie que la croissance se poursuit à partir des bourgeons terminaux et axiaux, tandis que la floraison et la formation des gousses sont en cours. (Georgios 2002).

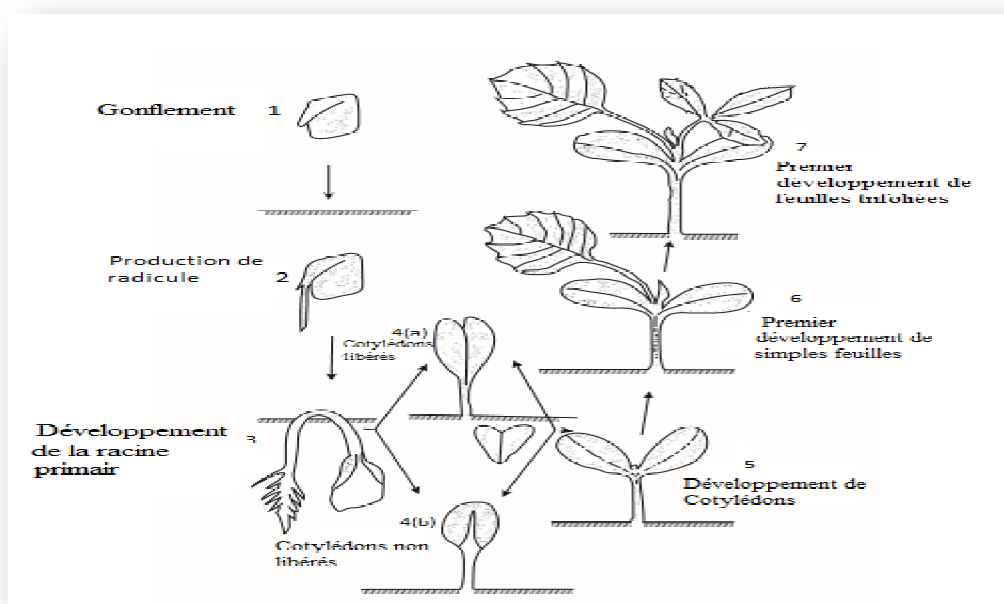
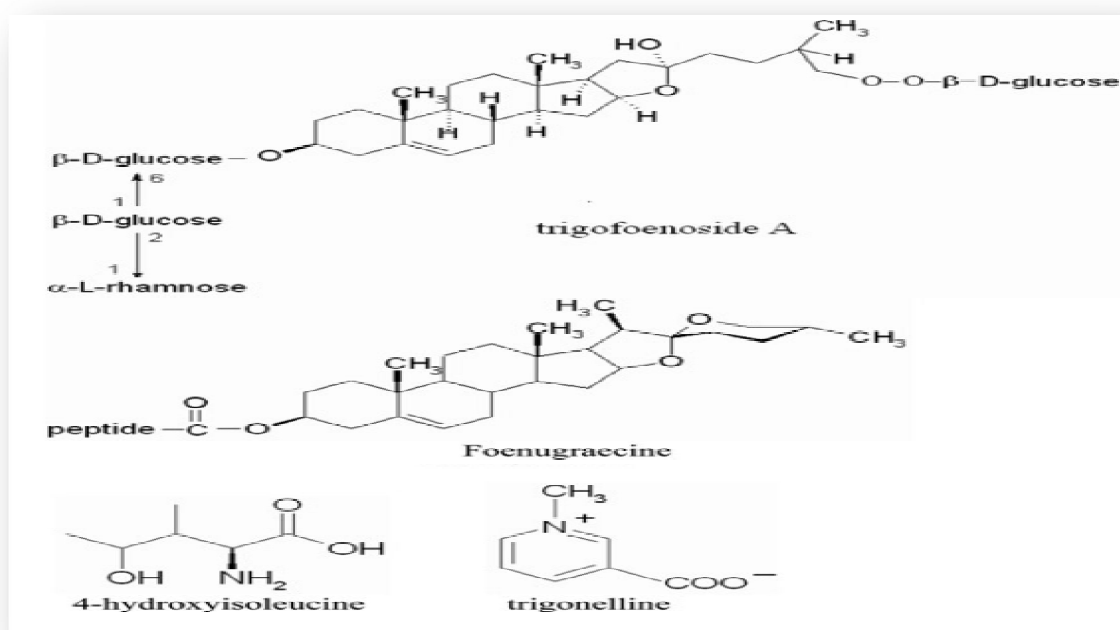


Figure2 : Etapes de croissance d'un semis de fenugrec (Georgios 2002).

Tableau1 : La composition chimique de la graine de fenugrec.

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

**Figure 3** : Structures des principaux constituants de la graine. (Georgios 2002).

I-2-7-Propriétés symbiotiques de la plante

I-2-7-1- Nodulation

L'extraordinaire propriété des légumineuses à fixer l'azote atmosphérique (N) par symbiose avec *Rhizobium* était connu des botanistes et des agronomes du siècle dernier (Hallsworth, 1958). Le fenugrec est cultivé principalement dans les zones subtropicales et tente d'étendre sa culture à de nouveaux sols comme une culture tempérée a souvent échoué. Il y a une bonne possibilité que beaucoup de ces échecs étaient directement attribuable au manque de bactéries nodulaires efficaces. Ainsi, lorsque le fenugrec est introduit dans une nouvelle zone, l'inoculation artificielle est couramment appliquée la ou les deux premières années de plantation (Anonymous, 1961). Il est bien connu qu'il existe plusieurs types de bactéries nodulaires, homologues et hétérologues, comme les différentes légumineuses ont leurs préférences (Fred et *al.*, 1932; Pattison, 1972) et *Rhizobium melilotis* homologue avec *Trigonella foenum-graecum* capable de former une association symbiotique avec le fenugrec (Subba-Rao et Sharma, 1968). Ce rhizobium nodule aussi la luzerne, le trèfle des champs, le burclover, le trèfle des boutons, le burrel medic et d'autres espèces de *Medicago*, *Trigonella* et *Melilotus*, mais aucune autre espèce de Leguminosae (Burton, 1975). *Rhizobium melilotis* l'une des six espèces désignées de bactéries nodulaires dans la famille Rhizobiaceae. C'est un *Rhizobium* à croissance rapide, aérobie, non sporulé, gram négatif, mobile avec une flagellation péritriche. Ces Rhizobia poussent mieux lorsqu'ils sont cultivés sur des extraits de levure, de malt ou d'autres matières végétales qui fournissent de l'azote facilement disponible et de facteurs de croissance. Les souches de *R. meliloti* sont les plus sensibles à l'acidité et poussent très mal à un pH 5,0. Ses nodules sont d'abord sphériques, puis se ramifient en deux lobes ou en éventail structurés dans les 4-5 jours de leur initiation (Burton, 1975).

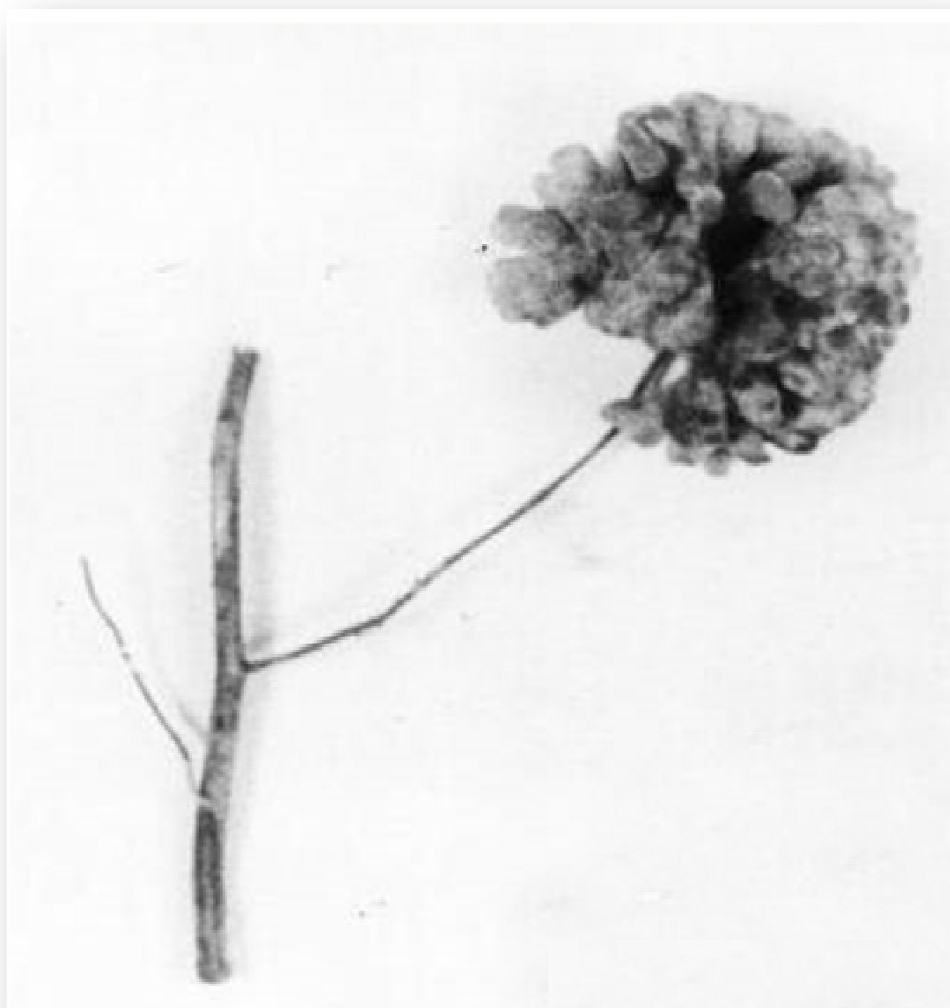


Figure 4 : Un nodule typique de *Rhizobium meliloti* sur fenugrec.(Georgios 2002).

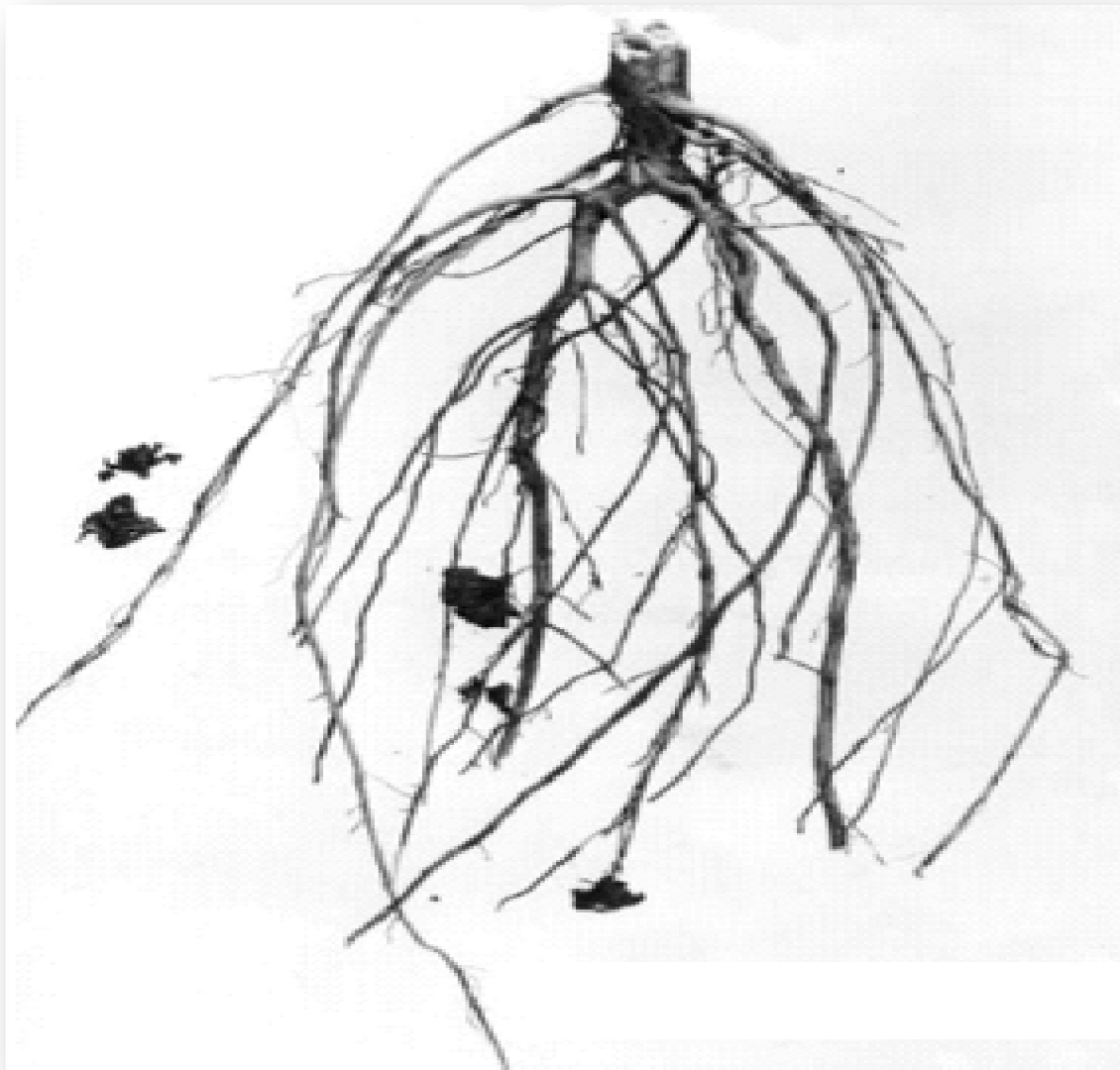


Figure 5 : Petits nodules éparpillés et inefficaces sur les racines secondaires du fenugrec. (Georgios 2002).

Le nodule est le point focal de la réaction entre Rhizobia et la plante de fenugrec. Il y a des nodules efficaces et d'autres inefficaces. Les premiers sont généralement grands, allongés, souvent groupés sur les racines primaires, tandis que les seconds sont généralement petits et dispersés sur les racines secondaires. Les deux nodules efficaces et inefficaces se produisent fréquemment simultanément sur le système racinaire de la plante. Burton (1975) a proposé que la susceptibilité d'une légumineuse à la nodulation est liée à ses caractéristiques de pollinisation et il a postulé que les espèces à pollinisation croisée portent des caractères génétiques qui les rendent proches de divers rhizobiums, alors que chez les espèces autogames, comme le fenugrec, les caractères permettant la nodulation sont limités ou portés

comme récessifs. Comme le fenugrec est cultivé dans différents environnements, il est très probable que certaines souches de rhizobiums sont mieux adaptées que d'autres dans ces diverses conditions. Donc, il est nécessaire de trouver les souches appropriées de Rhizobia par sélection ou manipulation génétique pour toutes ces conditions spéciales.

Hardman et Petropoulos (1975) ont trouvé que la souche *R. meliloti* 2012 La collection de Rothamsted et provenant de l'Université Sidney, nodule le fenugrec de manière satisfaisante (Pattison, 1972).

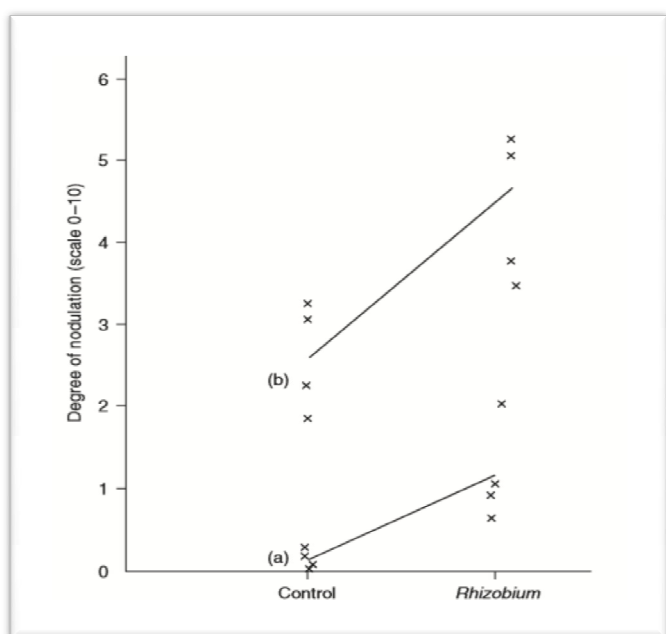


Figure 6 : Degré de nodulation des plantes de fenugrec avec *Rhizobium meliloti* 2012 dans (a) vierge et (b) un sol non vierge.

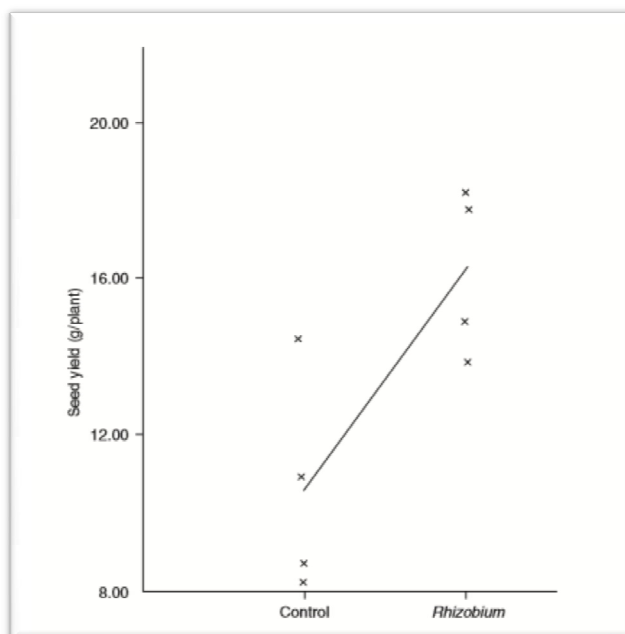


Figure 7: Effet de la nodulation avec *Rhizobium meliloti* 2012 sur le rendement en graines de plantes de fenugrec.

Hardman et Petropoulos (1975) ont testé des graines inoculées et non inoculées de quatre cultivars dans des sols vierges et non vierges et la conclusion tirée de cette expérience était que les plantes de fenugrec inoculées étaient plus grandes et bien nodulées, en particulier dans le cas de sol non vierge, avec un rendement en graines plus élevé, mais retardé en maturation. Les graines des plantes inoculées avaient une teneur en protéines brutes plus élevée et en accord avec indice de germe / enveloppe et une teneur en mucilage plus faible que celle des graines non inoculées et il n'y avait aucune indication d'interaction entre les cultivars testés et *Rhizobium meliloti*. La conclusion finale est que l'inoculation de la graine de fenugrec, avant le semis, aide le l'assurance de la fixation de l'azote, surtout lorsque le fenugrec n'a pas été cultivé dans la région auparavant. Cependant, l'efficacité de la nodulation est généralement améliorée avec *Rhizobia* supplémentaire.

CHAPITRE(II)
FONCTIONNALITE
ALIMENTAIRE

II-1-Généralités de la fonctionnalité alimentaire

Jean TREMOLIERE avait défini sous deux phrases le rôle de l'aliment pour couvrir les besoins physiologiques: « L'homme a besoin d'énergie pour croître, se réparer donc s'entretenir, se reproduire, se relier à l'extérieur, maintenir sa température stable ». « Il ne suffit pas que la machine humaine reçoive l'énergie nécessaire à son fonctionnement, il faut que les tissus se construisent puis se renouvellent et que les pièces usagées soient changées ». Cette capacité à apporter des carburants et des substances indispensables confère à l'aliment ses propriétés nutritionnelles.

Dès l'antiquité, Hippocrate affirmait « Que l'alimentation soit ta première médecine ! ». La notion de propriété fonctionnelle de l'aliment est un concept large dont la définition est liée à l'ensemble des fonctions physiologiques de l'organisme humain : de façon restrictive, ces propriétés fonctionnelles sont, le plus souvent, associées aux fonctions détériorées dans les pathologies à forte incidence sur la qualité de vie, la mortalité et les frais de santé publique. Leur intérêt les fait rechercher dans le cadre de la prévention des pathologies « dominantes », aujourd'hui les maladies cardio-vasculaires ou tumorales, demain, les troubles de la conduction nerveuse.

La fonctionnalité d'un aliment apparaît comme sa capacité à intervenir sur les fonctions de l'organisme, pour en moduler l'activité.

Tout aliment, mélange complexe d'ingrédients, eux-mêmes mélange de molécules variées, est susceptible d'exprimer une ou des fonctionnalités modulant la santé et l'état de bien être d'un individu. Les aliments représentent un facteur environnemental essentiel dans l'expression de la santé et du bien-être. Transformés en nutriments par le système gastro-intestinal qui sont véhiculés ensuite par le système sanguin et lymphatique vers les cellules cibles, ils peuvent potentiellement contribuer au fonctionnement de l'organisme du tissu de la cellule.

II-1-1Fonctionnalité alimentaire positive

Aucune définition de la fonctionnalité positive n'a encore été universellement acceptée. Cependant elle est reconnue comme génératrice de « tout bénéfice physiologique, que ce soit en terme de réduction du risque d'apparition de troubles chroniques ou d'optimisation de l'état de santé, observé après ingestion d'un aliment donné (Hasler, 2002;Sunram-Lea et *al.*,

2004) ». Des modifications directement visibles sur la santé ou le bien-être de l'individu peuvent en résulter et être évaluées pour en apporter la preuve scientifique et tangible.

II-1-2-Fonctionnalité alimentaire négative

La fonctionnalité négative des aliments peut potentiellement affecter elle aussi, n'importe quelle fonction de l'organisme. Néanmoins, celles les plus fréquemment mentionnées dans les études sont :

- le système immunitaire (avec pour conséquences des manifestations allergiques ou l'initiation et la promotion de processus cancéreux),
- le processus inflammatoire par perturbation du métabolisme de l'acide arachidonique (via l'acide benzoïque ou la tartrazine par exemple),
- le système cardio-vasculaire lors des phénomènes d'athérogénèse par excès de consommation de lipides,
- le métabolisme hépatique
- le système neurovégétatif (par action de certaines substances telles que les sulfites ou la caféine).

II-2- Fonctionnalité alimentaire du fenugrec :

II-2-1- Effets anti-diabétiques :

Les graines de fenugrec sont connues depuis longtemps pour leur action antidiabétique (Moissides, 1939, Mishkinisky et *al.*, 1967). Fourier (1948) a observé que la consommation de graines de fenugrec moulues grossièrement améliore le diabète chez les sujets humains. Cette propriété a été confirmée plus tard chez les rats alloxane-diabétiques, où l'extrait de pépins induit un effet hypoglycémiant significatif (Bever et Zahnd, 1979;. Khosla et *al.*, 1995a), tout comme son principal alcaloïde, trigonelline (Shani et *al.*, 1974) .

Ghafghazi et *al.* (1977) ont montré qu'un extrait de fenugrec prévenait l'hyperglycémie induite par le cadmium et l'alloxane chez le rat. Amin et *al.* (1988) ont également montré que les animaux diabétiques traités avec un régime à 20% de fenugrec 5 semaines avant une injection de streptozotocine (STZ) présentaient une amélioration générale de l'état clinique

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

II-2-2-Effet hypocholestérolémiant

Il a été démontré que les graines de fenugrec possèdent un effet hypocholestérolémiant chez les rats (Singhal et *al.*, 1982, Sharma, 1984, 1986a, Stark et Madar, 1993, Khosla et *al.*, 1995b) et chez les chiens (Valette et *al.*, 1984). L'élévation du taux de cholestérol chez le rat a été empêchée en ajoutant du fenugrec à 15-60 pour cent à un régime induisant l'hypercholestérolémie (Sharma, 1984). Il a été démontré que le fenugrec avait un effet plus important sur le cholestérol exogène (lorsqu'il est administré avec un régime hypocholestérolémiant contenant 1% de cholestérol) que sur le cholestérol endogène (fenugrec administré avec un régime alimentaire sans cholestérol) (Sharma, 1984). Le fenugrec dégraissé (100 g) incorporé dans le régime alimentaire expérimental de sujets hyperlipidémiques non diabétiques a significativement réduit les taux sériques de cholestérol total, de LDL et de lipoprotéines de très basse densité (VLDL) et de triglycérides (Sharma et *al.*, 1991). dans les lipoprotéines de haute densité (HDL) -cholestérol.

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

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

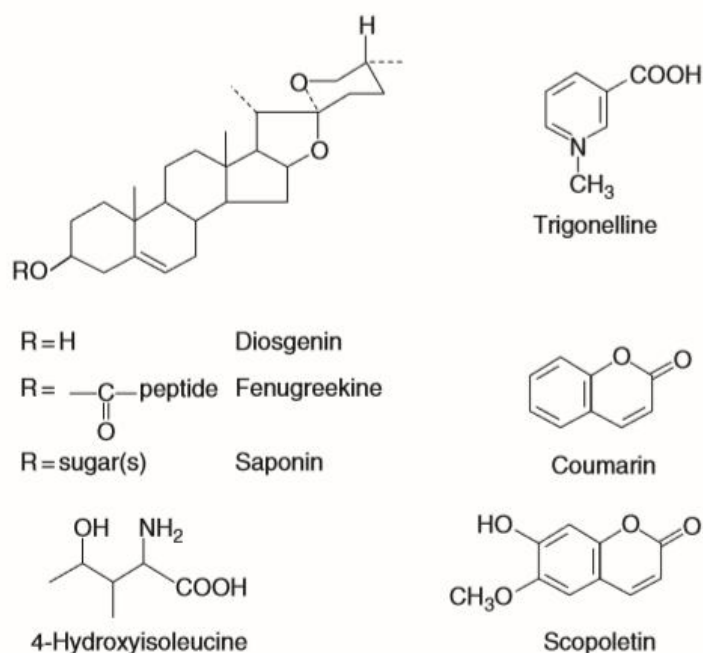


Figure 8 : Composés anti-diabétiques ou hypocholestérolémiants dans les graines de fenugrec.

II-2-3- Effets anti-fertilité :

Des efforts ont été faits pour étudier les effets contraceptifs et anti-fertilité des extraits bruts de plantes de nature diverse (Rao et *al.*, 1988, Sethi et *al.*, 1990, Desta, 1994). Un certain nombre d'études ont été menées sur l'utilisation potentielle du fenugrec dans la contraception.

II-2-3-1-Effets chez le mâle

Le fenugrec a été utilisé comme agent spermicide chez des rats albinos (Dhawan et *al.*, 1977) et du sperme humain in vitro (Setty et *al.*, 1976). L'extrait de n-butanol de fenugrec à un pourcentage d'activité spermicide a été signalé; ceci a été lié aux saponines (Setty et *al.*, 1976).

D'autres études sur les saponines de structure chimique connue a révélé que la puissance spermicide est associée à l' α -amyrine C-28 un type d'acide carboxylique de sapogénine (s) tel que l'hédéragène, l'acide oléanolique et les acides basiques

Kamal et *al.*, (1993) ont rapporté que l'extrait stéroïdien (sapogénine) de graines de fenugrec 100 mg / jour / rat administré par voie orale pendant 60 jours réduit significativement le poids

du testicule épидидyme, de la prostate ventrale et des vésicules séminales, sans différence de poids par rapport au groupe témoin. Un test de fertilité a donné des résultats négatifs à 100% groupe, alors que la libido est restée inchangée comme en témoignent les bouchons vaginaux chez les femelles gardées dans la même cage (Kamal *et al.*, 1993).. La réduction du poids des organes reproducteurs peut indiquer une diminution des taux circulants d'androgènes (Chinoy *et al.*, 1982). Ainsi les extraits fenugrec peuvent exercer une activité anti-fertilité et anti-androgénique chez des rats albinos mâles (Kamal *et al.*,1993).

II-2-3-2-Effets chez la femme

La consommation de graines de fenugrec par les femmes pendant l'allaitement est fortement recommandée en Inde (Nadkarni, 1954), alors que son utilisation pendant la grossesse est restreinte. Des études chez des rats femelles nourris avec des régimes contenant 5 ou 20% de poudre de graines de fenugrec pendant une période de 21 jours (Mital et Gopaldas, 1986) n'a montré aucun effet significatif sur le nombre d'implantations, le nombre de résorptions, ou le poids fœtal et placentaire par rapport aux groupes témoins. Une autre étude, où des rats traités par le fenugrec ont été autorisés à poursuivre la grossesse à terme et à accoucher, n'a montré aucun effet significatif sur la taille de la portée (Mital et Gopaldas, 1986). En outre, les conclusions de Mital et Gopaldas (1986) n'a démontré aucun effet bénéfique supplémentaire des graines de fenugrec au cours de la période de lactation contrairement à une étude antérieure d'El-Ridi *et al.*, (1954), qui suggère que l'huile extrait des graines de fenugrec contenait un facteur favorisant la lactation.

Contrairement aux études ci-dessus, Khare *et al.*, (1983) ont signalé un léger effet anti-fertilité ; l'alimentation d'un extrait éthéré de graines de fenugrec à des rats femelles, où l'absence d'implants fœtaux était considéré comme un indice d'anti-fertilité. Il a été proposé que l'extrait éthéré est une source concentrée de la substance stéroïdienne diosgénine, qui est utilisée comme métabolite dans la synthèse des hormones sexuelles et des contraceptifs oraux (Shankaracharya et Natarajan, 1972). La dose administrée était de 25 mg d'extrait pour 100 g de poids corporel. Basé sur le fait que l'extrait éthéré ou «fraction d'huile» représente 7% de la poudre entière de graines de fenugrec, les 25 mg d'extrait éthéré utilisés par Khare *et al.*, (1983) équivaut à 357 mg des graines de fenugrec, qui semble être inférieure à celle utilisée par Mital et Gopaldas (1986).

II-2-4- Ulcère gastrique et effets cicatrisants

Le fenugrec, sous forme de thé, est utilisé comme remède à base de plantes dans la médecine populaire chinoise pour le traitement de la gastrite (Duke et Ayensu, 1985). Al-Meshal et *al.*, (1985) ont démontré que le traitement prophylactique avec l'extrait de fenugrec pendant 5 jours n'a produit aucun effet protecteur contre les lésions gastriques induites par la phénylbutazone et la réserpine chez les rats. Ces résultats montrent l'absence d'effet antisécrétoire et cytoprotecteur. Cependant, lorsqu'il a été administré comme traitement curatif pendant cinq jours consécutifs à des rats déjà traités avec des doses ulcérogènes de phénylbutazone, il a produit une cicatrisation des ulcères significativement plus rapide. L'extrait de fenugrec a produit un léger effet relaxant sur le muscle lisse du duodénum isolé d'un lapin lorsqu'il a été ajouté au bain d'organe à raison de 0,5 mg / ml (Al-Meshal et *al.*, 1985). On a suggéré que l'activité démulante marquée et l'action anticholinergique douce du fenugrec étaient responsables de son efficacité en favorisant la guérison des ulcères induits par phénylbutazone. Les propriétés de guérison des plaies des graines de fenugrec ont également été démontrées dans des modèles d'excision, d'incision et de plaies à espace mort chez les rats (Taranalli et Kuppast, 1996). La suspension de graines de fenugrec était plus efficace que l'extrait de graines aqueux pour favoriser la cicatrisation dans ces modèles.

II-2-5- Effets anticancéreux

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

II-2-6- Effets anti-microbiens

Bhatti et *al.*, (1996) ont rapporté que les extraits aqueux et d'éthanol des graines de fenugrec présentaient une activité anti-bactérienne.

II-2-7- Propriétés antihelminthiques

Les graines de fenugrec ont été utilisées comme antihelminthiques contre les nématodes les plus communs (Mishra et *al.*, 1965). Ghafghazi et *al.*, (1980) ont montré qu'un extrait

aqueux de graines de fenugrec avait une activité antihelminthique dose-dépendante in vitro sur les cestodes et les nématodes. L'extrait a également entraîné une inhibition de 87% de l'embryon des œufs d'*Ascaris lumbricoides* (Ghafghazi et *al.*, 1980).

II-2-8- Effets anti-nociceptifs

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

CHAPITRE (III)
MATERIELS ET METHODES

I - Matériel végétal :

Le matériel végétal utilisé est la farine de fenugrec *Trigonella foenum-graecum* L. (la poudre des grains).

II- Méthodes :**II-1 Technique d'électrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence de SDS PAGE**

Cette manipulation a été faite selon la méthode de Laemmli (1970) qui utilise deux gels de compositions différentes ; un gel de concentration et un gel de migration.

Principe

Dans l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence du dodécyl sulfate de sodium (SDS), la migration est déterminée non pas par la charge électrique intrinsèque des polypeptides mais par leur poids moléculaire. Le SDS est un détergent anionique, qui dénature les liaisons non covalentes des protéines en enveloppant la structure primaire des polypeptides. De ce fait, il leur confère une charge négative proportionnelle à leur longueur dans le rapport d'environ une molécule de SDS pour deux résidus d'acides aminés. Le mercaptoéthanol est ajouté afin de réduire les liaisons disulfures. Les complexes formés par les protéines et le SDS sont soumis à une électrophorèse dans un gel de polyacrylamide.

On peut résumer le protocole de l'électrophorèse dans 03 grandes étapes : L'extraction puis La dénaturation et finalement La séparation .

II- 1-1- L'extraction

-Pour l'extraction des protéines il faut suivre un protocole spécial pour le fenugrec surtout parce que cette dernière absorbe considérablement le tampon d'extraction.

- Dans notre expérimentation nous avons utilisé 02 types différents de tampon d'extraction pour comparer à la fin de la technique l'effet de la composition de tampon d'extraction sur le résultat de l'électrophorèse.

Etape 01 : Préparation de tampon d'extraction

- on a deux protocoles :
 - par tampon tris HCl , PH :6,8 (on ajoute le PVP avec la farine)
 - Ou par tampon Tris PVP, EDTA (on ajoute le PVP dans le tampon)

Tableau 2 : Composition des tampons d'extractions .

Tampon Tris 0,5 pH 6,8	Tampon Tris PVP, EDTA
<ul style="list-style-type: none"> - 6g de tris Hcl(hydroxyméthyl) - l'eau distillée pour ajusté à 100 ml 	<ul style="list-style-type: none"> - Tris(KCl), Ph6.8 ,10mM - EDTA 20mM - PVP 1M - PMSF 1Mm

Etape 02 : Réalisation de l'extraction

- Dans deux eppendorfs (tubes) on mélange dans chacun 0,25 g de la farine et 1ml de tampon.
 - Tube 1 : HBt1=0,25 g farine +1ml de tompon tris HCL+PVP
 - Tube 2 : HBt2=0,25g farine +1ml de tompon tris+PVP+EDTA+PMSF
- Pour chaque Tube, on met 02 billes pour broyer le mélange puis on les déplace dans un Tissulyser avec les paramètres suivants : 5 min à 30 vibrations / s.



Figure 9: Mise des billes dans les tubes(Batta et Bouzidi 2018)

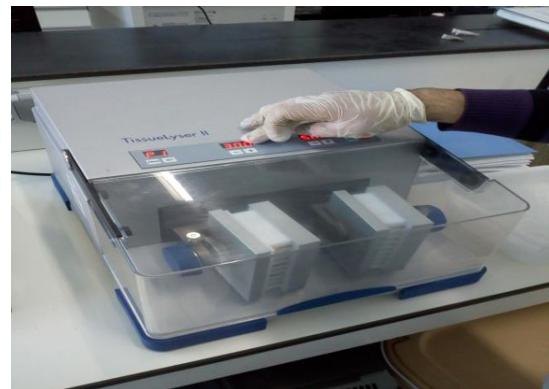


Figure10:Le tissulyser(Batta et Bouzidi 2018)

- On centrifuge pendant 15 min 13000 g à 4C°.
- Après avoir centrifugé, on récupère le surnageant dans deux autres tubes et on répète ce même processus avec cet extrait dont une deuxième centrifugation est nécessaire pour bien purifier le surnageant.



Figure11: Aspect du surnageant à la fin de l'étape de l'extraction (Batta et Bouzidi 2018) .

II-1-2- La dénaturation

Par dégradation des protéines complexes dont le but consiste à simplifier leur forme. La dénaturation se réalise par l'ajout d'un tampon dit de charge (tampon de dénaturation), un volume de 4 μ l est ajouté à chaque échantillon puis incubation dans un bain mari à 95C° pendant 10 minutes.

- **Le tampon de dénaturation est composé de** Bleu de bramphenol ,Tris HCL(0.5M) ,Glycérolé,SDS 10% et H₂O .

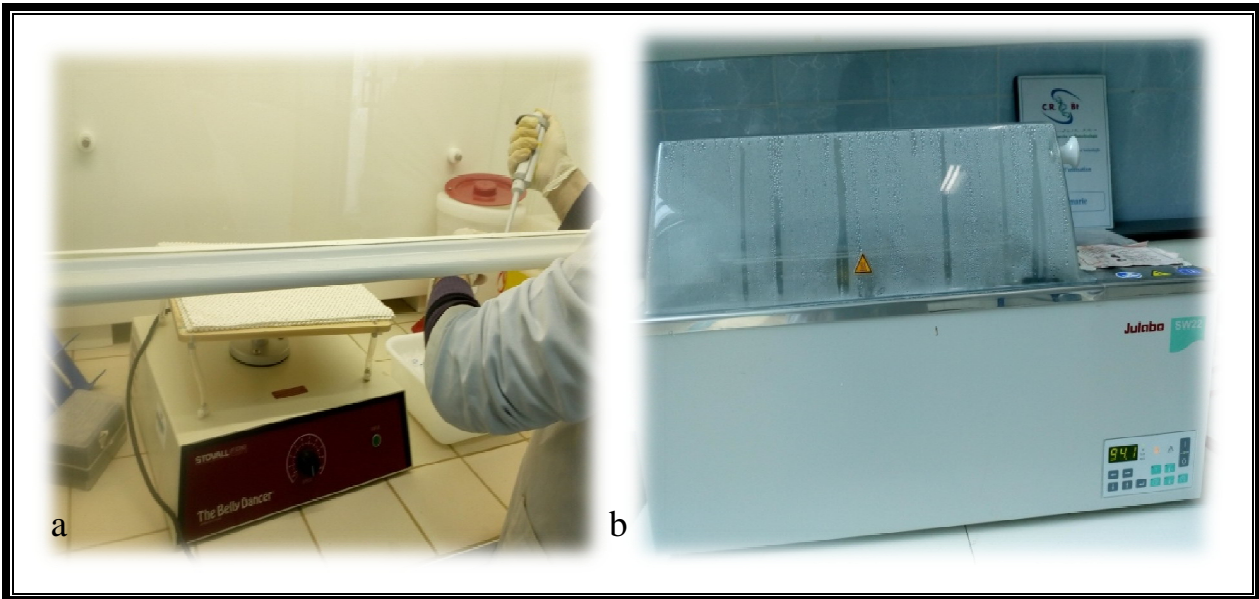


Figure12: L'étape de la dénaturation : (a) l'ajout de tampon de charge sous une hotte,(b) incubation à 94 c°(Batta et Bouzidi2018) .

Etape 03 : La séparation

Les extrais dénaturés sont concentrés et séparés dans deux gels SDS PAGE de concentrations différents (12% et15%),

Pour les deux concentrations, le gel est toujours composé de deux solutions : une première dite de concentration et une deuxième dite de séparation

Les échantillons sont déposés à l'aide d'une seringue Hamilton dans des puits formés dans le bord supérieur du gel de concentration, le gel est mis dans un tampon de migration puis soumis sous un champ électrique de 70Volt pendant 3h. Après migration le gel est démoulé puis transféré dans une solution de coloration contenant du bleu de coomassie pour révéler les différentes bandes correspondant aux différentes protéines, enfin le gel est mis dans une solution de décoloration contenant du éthanol et éthanoïque.

Tableau3 : Les composants du gel SDS PAGE 12%

Produit	Gel de concentration 4%	Gel de séparation 12%
A+B	0.39 ml	2 ml
H ₂ O		
1.5M tris HCL pH 8.8		1.3ml
0.625M tris HCL pH 6.8	0.75ml	
0.5M tris HCL pH 6.8	0.95 ml	
10% SDS	30µl	50µl
10% APS	30µl	60µl
TEMED	10 µl	30µl
Volume final	3ml	5ml

Tableau4 : Les composants du gel SDS Page 15%

Produit	Gel de concentration 4%	Gel de séparation 15%
A+B	0.39 ml	2.5 ml
H ₂ O		
1.5M tris HCL pH 8.8		1.3ml
0.625M tris HCL pH 6.8	0.75ml	
0.5M tris HCL pH 6.8	0.95 ml	
10% SDS	30µl	50µl
10% APS	30µl	50µl
TEMED	10 µl	20µl
Volume final	3ml	5ml

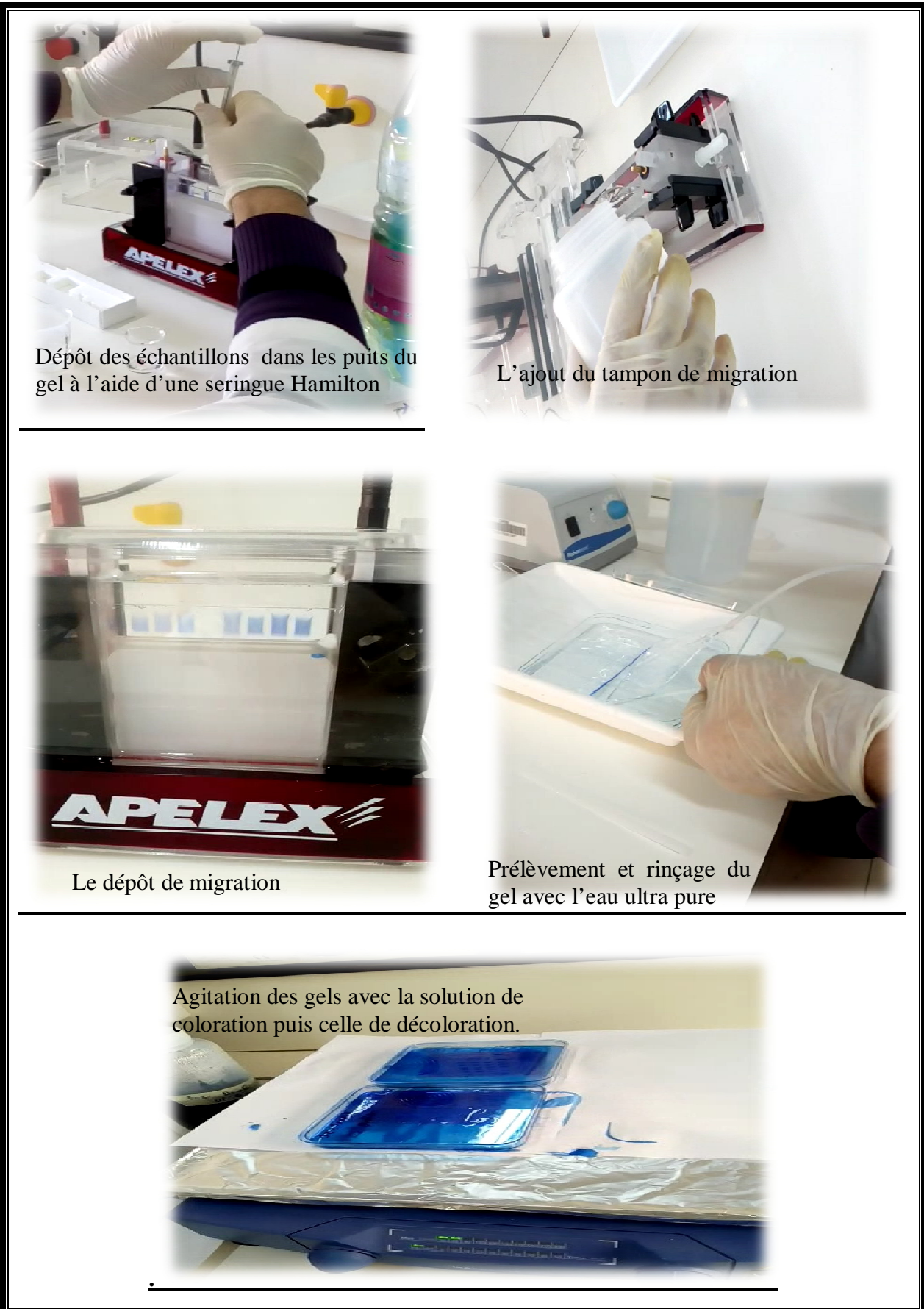


Figure 13: La séparation des protéines par l'électrophorese (Batta et Bouzidi2018) .

- **Composition de tampon de migration :**

- Tris 0.25M

- Glycine 1.91M

II-2 Dosage des protéines totales :

Il est nécessaire de connaître la concentration totale de l'ensemble des protéines contenues dans nos extraits, pour ce faire ; nous avons procédé à la méthode spectrophotométrique dont l'appareil utilisé est le Nanodrop qui s'agit d'un Automat doté d'un logiciel permettant l'analyse des données et l'affichage des résultats pour chaque échantillon.

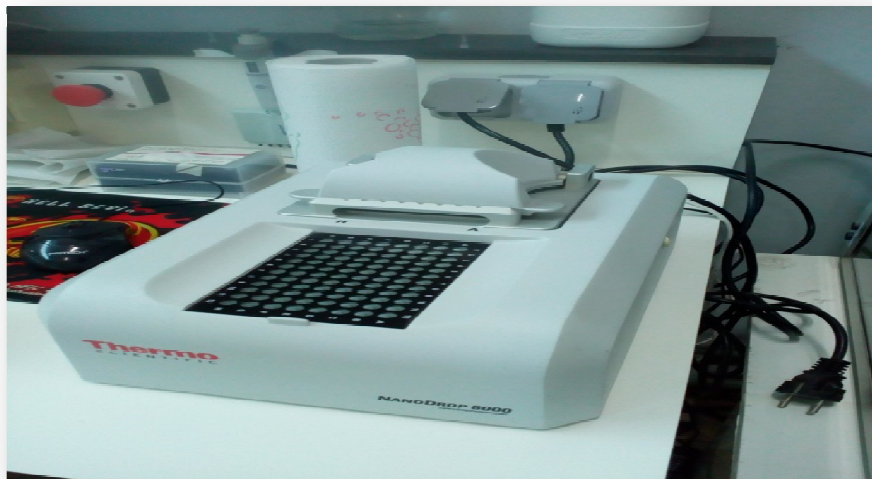


Figure15: Le nanodrop

CHAPITRE (IV)
RESULTATS ET DISCUSSION

I- Dosage des protéines totales:

D'après le dosage des protéines extraites à partir des graines de fenugrec on remarque que la concentration des protéines totales est différente pour chaque échantillon HbT1 et HbT2 :

Dans l'échantillon Hb T1 la concentration est 10mg/ml alors que la concentration dans l'échantillon Hb T2 est 16 mg /ml.

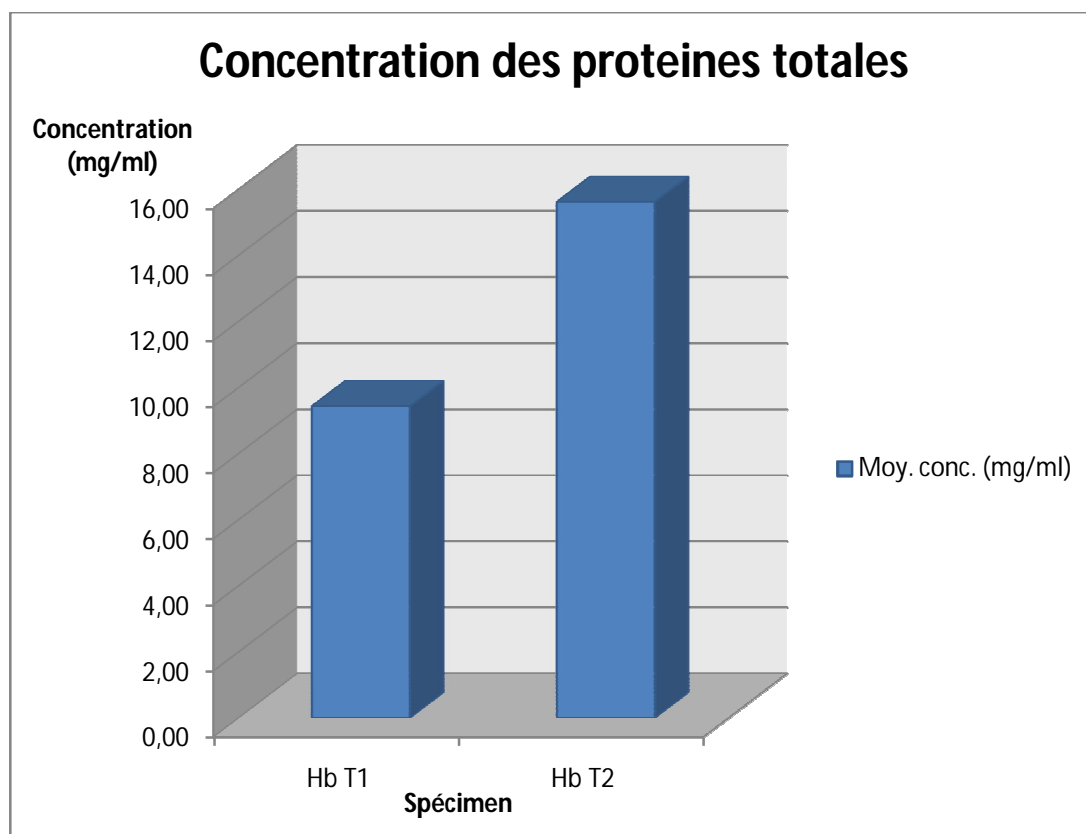


Figure 15: La concentration des protéines totales : Hb : fenugrec, T : tampon.

I-1-Concentration des protéines totales selon le tampon d'extraction

D'après le résultat trouvé, la concentration en protéines totales obtenue avec le tampon 2 (15.62 mg/ml) est plus importante par rapport à celle obtenue par le tampon 1(9.43mg/ml). Ce résultat est la conséquence de la différence dans la composition de chaque tampon. Le tampon 2 contient un mélange (EDTA et PMFS) Anti-protéases : ces derniers empêchent l'activité des protéases qui dégradent les protéines de fenugrec, donc ça va augmenter la concentration protéique chose qui est confirmée par les résultats obtenus.

Comparaison des concentrations des protéines totales de fenugrec

Le taux des protéiques totales dans les graines de fenugrec est de 28% à 30 % (Ghidira et al.,2010). Alors que dans nos résultats, il est de 3.77% dans le cas de l'utilisation de premier tampon et de 6.24% pour le Tampon 2. On peut expliquer ces différences par la variété des constituants dans la solution d'extraction et selon le degré de solubilité des protéines de fenugrec dans cette solution

Tableau 5 : les concentrations en protéines totales de fenugrec selon le tampon d'extraction.

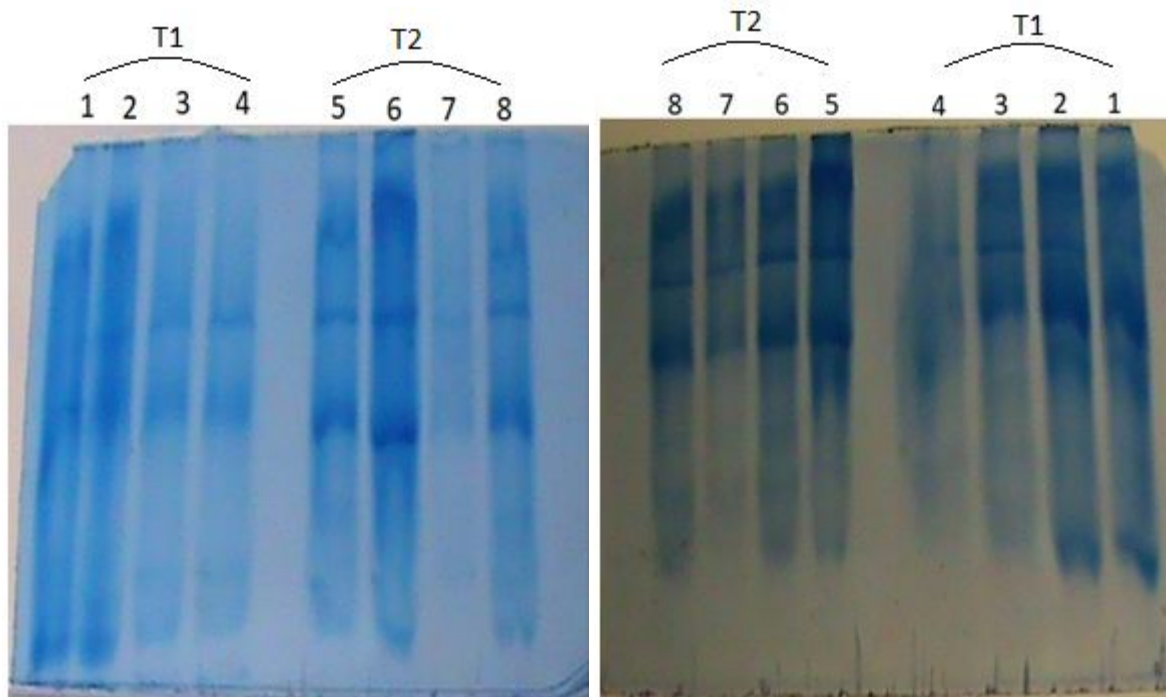
Tampon	Tampon1	Tampon 2
Concentration protéique	9.43 (mg/ml)	15.62 (mg/ml)
Le pourcentage	3.77%	6.24%

On analysant la teneur en protéines de fenugrec rapportée par la littérature (23%) et on la comparant avec deux plantes dont l'une est une fabacée (la fève) et l'autre l'en est pas (le blé dur) on peut confirmer que le fenugrec est une plante beaucoup plus riche en protéine par rapport aux deux autres (23g/ml dans 100g contre 5,8 pour la fève et 5,1 pour le blé dur). De plus, la fève est légèrement plus riche en protéines par rapport au blé dur et ça confirme toujours l'effet de symbiose (Nodulation) sur la teneur en protéines chez les légumineuses.

On peut dire que les plantes de la famille des fabacées sont riches en protéines grâce a leur aptitude à utilisé l'azote libre atmosphérique : les bactéries fixent l'azote et le transfèrent à la plante qui va l'utilisé par la suite pour la production des protéines.

II- Détermination des profils protéiques par SDS-PAGE

Les gels SDS-PAGE permettent de visualiser les profils de migration obtenus. Les bandes protéiques apparaissent plus nettement après décoloration. Certaines bandes protéiques sont disparues et d'autres bandes sont apparues clairement dans les deux profils 12% et 15%.



A : Gel SDS-PAGE, 12%

B: Gel SDS-PAGE, 15% :

Tampon 1: (1:HbT1, 2:HbT2, 3:HbT3, 4:HbT4),

Tampon 2: (5:HbT5, 6:HbT6, 7:HbT7, 8:HbT8)

Figure 16: Les profils de migration des protéines obtenus.

III- L'analyse de profil de migration du fenugrec

La masse moléculaire est une caractéristique fondamentale pour chaque protéine. Elle est représentée par le symbole m , généralement, exprimée en daltons (Da) pour les protéines.

- On comparant les profils de migration pour les deux concentrations de gel SDS-PAGE (**A** : 12% et **B** :15%) , on peut conclure que la concentration de gel n'a aucune influence sur la migration des protéines
- De même, et pour le des deux gels, il n'existe aucune différence entre les profils selon est ce qu'il s'agit de 1^{er} (HbT1, HbT2, HbT3, HbT4) ou de 2^{ème} tampon d'extraction (HbT5, HbT6, HbT7, HbT8). Donc la présence des anti-protéases dans le tampon 2 n'a pas influencé la qualité de protéines extraites mais la quantité

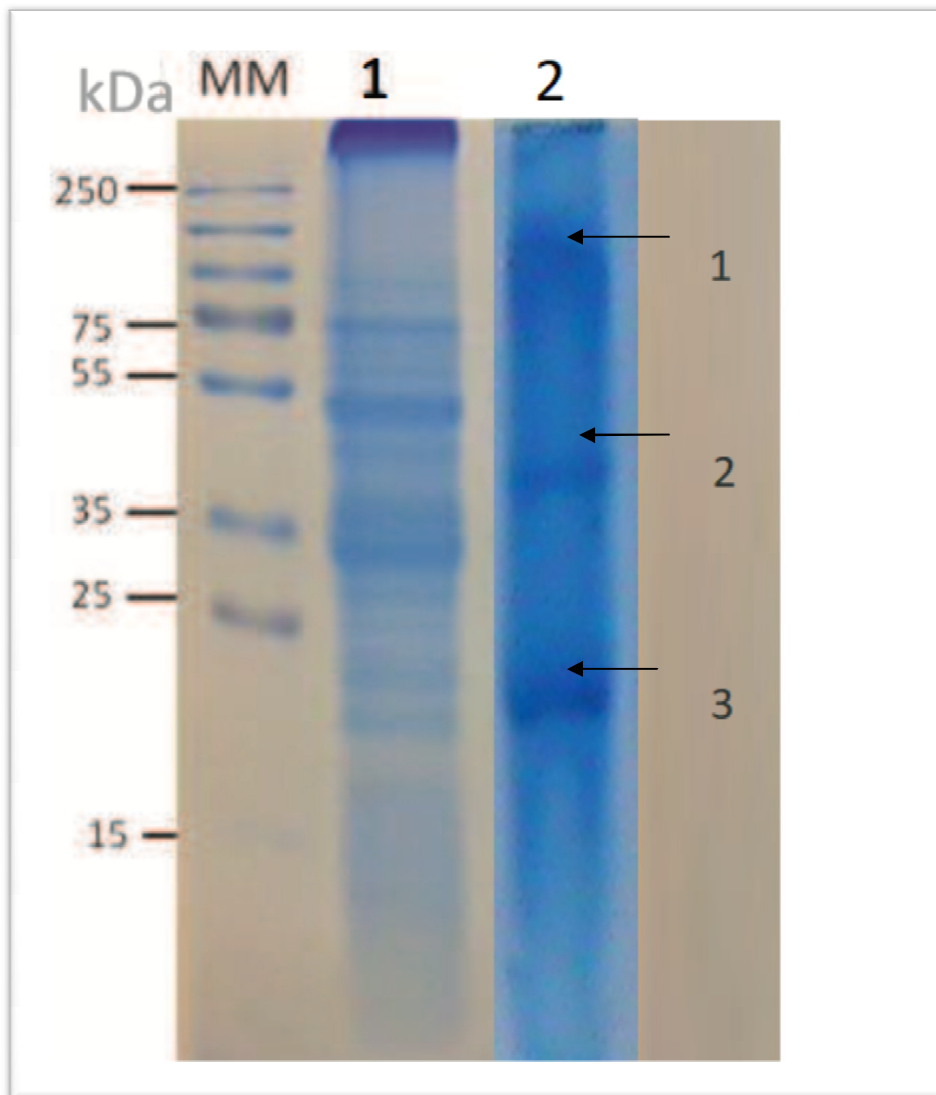


Figure 17 : Comparaison de profil de migration du fenugrec avec celui du blé dur.

1 : profil électrophorétique de Blé dur 12% (Manon 2012), **2 :** profil électrophorétique de fenugrec 12%, **MM :** marqueur de poids moléculaire

- L'analyse de résultat de la migration nous permet de définir 03 bandes qui sont les plus claires dont les poids moléculaires sont délimités dans des intervalles décrits dans le tableau ci-dessous.

Tableau 6: Poids moléculaire de chaque bande .

Bandes	1	2	3
Poids moléculaire en (KDa)	75 et 250	55 et 35	15 et 25

- D'après la littérature cette plante était largement utilisée comme un supplément à effet hormonal , soit pour stimuler la croissance et la prise de poids (rôle de l'hormone de croissance GH) ou pour stimuler la montée laiteuse après accouchement (rôle de l'hormone prolactine PRL), ou pour substituer les hormones sexuels femelles chez les femmes ménopausées ((rôle des hormones : FSH, LH et œstrogène surtout) :
- pour confirmer si vraiment le fenugrec est un aliment fonctionnel à effet hormonal (en plus de sa fonctionnalité prouvée qui est assurée par les composés aromatiques) nous avons comparé les intervalles des poids moléculaires des trois bandes trouvés avec les poids moléculaires des hormones (GH, PRL, FSH, LH, Œstrogène) rapportés par la littérature :
- la bande 01 : $75 < m < 250$: ne regroupe aucune hormone
- la bande 02 : $35 < m < 55$: regroupe la FSH
- la bande 03 : $15 < m < 25$: regroupe la GH et la PRL

Tableau7 : Le poids moléculaire des protéines (www.wikipedia.com).

Protéine	Poids moléculaire
Prolactine	23KDa
FSH	35.5KDa
LH	30KDa
Hormone de croissance	22KDa
Estrogène	71KDa

- D'après notre analyse première, on peut supposer la possibilité de trouver ces trois hormones (FSH, GH et PRL) dans le fenugrec et confirmer la fonctionnalité alimentaire de fenugrec par un rôle hormonal.
- On peut confirmer le résultat trouvé par une éventuelle analyse de laboratoire de routine sur l'extrait de fenugrec.

CONCLUSION

CONCLUSION

Dans notre présent travail, nous avons étudié le profil protéique dans les graines d'une plantes médicinales, qui s'agit de *Trigonella foenum gracume* L.

La méthode expérimentale employée a consisté à réaliser une évaluation qualitative des protéines totales de la farine de ces graines puis à procéder à une électrophorèse SDS PAGE selon la méthode de Laemmli 1970 en utilisant deux tampons d'extractions de composition différentes ; le tris 0,5 HCL, pH : 6,8 et le tampon tris HCl pvp PMSF avec deux concentrations différentes de gel d'électrophorèse.

A partir des résultats obtenus, nous pouvons résumer les conclusions issues de cette étude comme suit :

- 1- Concernant le taux de protéines totales, nous avons trouvés deux valeurs différentes (4% pour le tampon tris 0,5 HCL, pH : 6,8 et 6,4% pour le tampon tris HCl pvp PMSF) et ces valeurs sont largement inférieur par rapport à celles rapportées par la littérature (28–30 % d'après Ghidira et *al.*, 2010) , selon le tampon d'extraction utilisé on peut expliquer ces différences par la présence ou non de certains composants à activité anti-protéases qui vont protéger le maximum de protéines contre la lyse par des protéases de la plante, ou bien on explique ça par le degré de solubilité des protéines dans les différents constituants de tampon d'extraction
- 2- Le résultat de la migration des protéines nous a permis de conclure que la concentration de gel n'a aucun effet sur le profil électrophorétique. De même pour l'utilisation de deux tampon différents ; sauf pour ce cas dont on a remarqué que la densité protéique est plus importante avec le deuxième tampon Tris PVP parce qu'il contient des antis protéases qui empêchent l'activité des protéases qui dégradent les protéines de fenugrec donc ça va augmenter la concentration protéique chose qui est confirmée par les résultats obtenus lors de dosage des protéines totales
- 3- La comparaison de poids moléculaires des bandes obtenus avec ceux rapportés par la littérature pour les hormones (GH, PRL, FSH, LH et œstrogène) nous a permis de penser que vraiment le fenugrec contient les hormones : GH, PRL et FSH
Ainsi, ces résultats demeurent prometteurs, et pourraient servir de base pour des études cliniques et des bilans biologiques ultérieures afin de confirmer les effets hormonaux de cette plante et si elle contient bien ces hormones on doit préciser leurs doses exacts au moins pour pouvoir considérer cette plante comme une source

naturels pour ces hormones d'une façon officielle et de proposer leur utilisation directement en tant qu'un complément alimentaire en cas de retard de croissance ou devant les problèmes hormonaux au cours de stade de la ménopause ou bien durant la lactation ou bien pour faire des études sur les gènes qui codent pour ces protéines afin de les utiliser ultérieurement dans le domaine de l'amélioration des plantes par la transgénèse végétale.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

LISTE DE REFERENCE

- 1- Al-Hamood, M.H. and Al-Bayati, Z.F. (1995)** Effect of *Trigonella foenum-graecum*, *Nerium oleander* and *Ricinus communis* on reproduction in mice. *Iraqi J. Sci.*, 36, 436.
- 2-Allen, O.N. and Allen, E.K. (1981)** *The Leguminosae*, Macmillan Co., London. Anonymous (1994) *Plants and Their Constituents, Phytochemical Dictionary of the Leguminosae*, Vol. 1, Cherman & Hall, London.
- 3-Al-Meshal, I.A., Parmar, N.S., Tariq, M. and Aqeel, A.M. (1985)** Gastric anti-ulcer activity in rats of *Trigonella foenum graecum* (Hu-Lu-Pa). *Fitoterapia* 56, 232–5.
- 4-Alkofahi, A., Batshoun, R., Owais, W. and Najib, N. (1996)** Biological activity of some Jordanian medicinal plant extracts. *Fitoterapia* LXVII, 435–42.
- 5-Amin, R., Abdul-Ghani, A.S. and Suleiman, M.S. (1988)** Effect of fenugreek and lupin seeds on the development of experimental diabetes in rats. *Planta Med.* 54, 286–90.
- 6-Aude ,H.(2008)** Etude de la fonctionnalité alimentaire de plats industriels., thèse de doctorat ., Ecole Nationale Supérieure d'Agromonie et des Industries Alimentaires., France.
- 7-Bhatti, M.A., Khan, M.T.J., Ahmed, B., Jamshaid, M. and Ahmad, W. (1996)** Antibacterial activity of *Trigonella foenum-graecum* seeds. *Fitoterapia* LXVII, 372–4.
- 8-Bever, B.O. and Zahnd, G.R. (1979)** Plants with oral hypoglycaemic action. *Q. J. Crude Drug Res.*17, 139–96.
- 9- Boudjnana ,A .et Mansour M. (2014)** Caractérisation phénotypique des bactéries hotes de la légumineuse médicinale *Trigonella foenum-graecum* L. (fenugrec) ;Université de constantin 1 Constantin.pp .5-9 .
- 10-Brenac, P. and Sauvaire, Y. (1996)** Accumulation of sterols and steroidal sapogenins in developing fenugreek pods: possible biosynthesis in situ. *Phytochem.* 41, 415.
- 11-Burton, J.C. (1975)** Nodulation and symbiotic nitrogen fixation. In C.H. Hanson (ed.), *Alfalfa Science and Technology*, Am. Soc. Agron. Inc. Publ. Madison, Wi., pp. 229–46.
- 12-Chatterjee, B.P., Sakar, N. and Rao, A.S. (1982)** Serological and chemical investigations of the anomeric configuration of sugar units in the D-galacto-D-mannan of fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) seeds. *Carbohydr. Res.* 104, 348–53.
- 13-Chinoy, N.J., Sheth, K.M. and Seethalakshmi, L. (1982)** Studies on reproductive physiology of animals with special reference to fertility control. *Comp. Physiol. Ecol.* 7, 325–45.
- 14-Desta, B. (1994)** Ethiopian traditional herbal drugs. Part III: Anti-fertility activity of 70 medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.* 44, 199–209.
- 15-Dhawan, B.N., Patnaik, G.K., Rastogi, R.P., Singh, K.K. and Tandon, J.S. (1977)** Screening of Indian plants for biological activity. *Indian J. Exp. Biol.* 15, 208–19.
- 16-Duke, A.J. (1986)** *Handbook of Legumes of World Economic Importance*, Plenus Press, New York and London.
- 17-Edison, S. (1995)** Spices – research support to productivity. N. Ravi (ed.), *The Hindu Survey of Indian Agriculture*, Kasturi & Sons Ltd., National Press, Madras, pp. 101–5.
- 18-El-Mahdy, A.R. and El-Sebaiy, L.A. (1985)** Proteolytic activity, amino acid composition, protein quality of fermented fenugreek seeds (*Trigonella foenum-graecum*). *Food Chem.* 18, 19–33.

- 19-El-Ridi, M.S., Azouz, W.M. and Hay, A.E. (1954)** Isolation of a lactation promoting factor in fenugreek oil. Hoppe-Seyler's J. Physiol. Chem. 286, 256.
- 20-Elbetieha, A., Al-Hamood, M.H. and Alkofahi, A. (1996)** Anti-implantation potential of some medicinal plants in female rats. Arch. Std. Hiv. Res. 10, 181–7.
- 21-Fazli, F.R.Y. and Hardman, R. (1968)** The spice fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.). Its commercial varieties of seed as a source of diosgenin. Trop. Sci., 10, 66–78.
- 22-Fred, E.B., Baldwin, I. L. and McCoy, E. (1932)** Root nodule bacteria and leguminous plants. Studies in Science, Univ. Wisconsin Press, Ma., 5, p. 343.
- 23-Furry, A. (1950)** Les cahiers de la recherche agronomique, 3, 25–317.
- 24-Georgios A. Petropoulos.(2002)** Medicinal and Aromatic Plant-industrial profiles, Volume 11. London and New York.
- 25-Ghadira, K. Geotz, R. Le jeune.(2010).** Fenugrec : *Trigonella foenum-graecum* L. (Fabaceae ex-leguminosae). Springer-Verlag France.
- 26-Ghafghazi, T., Sheriat, H.S., Dastmalchi, T. and Barnett, R.C. (1977)** Antagonism of cadmium and alloxan-induced hyperglycaemia in rats by *Trigonella foenum graecum*. Shiraz. Med. J. 8, 14–25.
- 27-Ghosal, S., Srivastava, R.S., Chatter, D.C. and Dutta, S.K. (1974)** Extractives of *Trigonella-1*. Fenugreekine, a new steroidal sapogenin-peptide ester of *Trigonella foenum graecum*. Phytochem. 13, 2247–51.
- 28-Girardon, P., Bessiere, J.M., Baccou, J.C. and Sauvaire, Y. (1985)** Volatile constituents of fenugreek seeds. Planta Med. 6, 533–4.
- 29-Gopalan, C., Rama Shastri, B.V. and Balasubramanyan, S.C. (1978)** Nutritive value of Indian foods. National Institute of Nutrition, ICMR, Hyderabad, India
- 30-Hallsworth, E. (1958)** Nutrition of the Legumes, Butterworths Scient. Publ., London.
- 31-Hardman, R. and Petropoulos, G.A. (1975)** The response of *Trigonella foenum-graecum* (fenugreek) to field inoculation with *Rhizobium meliloti* 2012. Planta Medica, 27, 53–7.
- 32-Hasler CM (2002)** Functional foods: Benefits, concerns and challenges - A position paper from the American Council on Science and Health. Journal of Nutrition 132, 3772 -3781.
- 33-Hemavathy, J. and Prabhakar, J.V. (1989)** Lipid composition of fenugreek (*Trigonella foenum graecum* L.) seeds. Food Chem. 31, 1–7.
- 34-Hidvegi, M., El-Kady, A., Lásztity, R., Bekes, F. and Simon-Sarkadi, L. (1984)** Contribution to the nutritional characterization of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.). Acta Alimentaria, 13(4), 315–24.
- 35-Howard, M. (1987)** Traditional Folk Remedies, A Comprehensive Herbal, Century Hutchinson Ltd., London. Ivimey-Cook, R.B. (1968) *Trigonella* L. In T.G. Tutin, V.H. Heywood, N.A. Burges, D.M. Moore, D.H. Valentine, S.M. Walters, and D.A. Webb (eds), Flora Europaea – Rosaceae to Umbelliferae, Cambridge University Press, Cambridge 2, 150–2.
- 36-Ivimey-Cook, R.B. (1968)** *Trigonella* L. In T.G. Tutin, V.H. Heywood, N.A. Burges, D.M. Moore, D.H. Valentine, S.M. Walters and D.A. Webb (eds), Flora Europaea – Rosaceae to Umbelliferae, Vol. 2, Cambridge University Press, Cambridge, pp. 150–2.
- 37-Jenkins, D.J.A., Reynolds, D., Salvin, B., Leeds, A.R., Jenkins, A.L. and Jepson, E.H. (1980)** Dietary fibre and blood lipids: treatment of hypercholesterolaemia with guar crispbread. Am. J. Clin. Nutr. 33, 575–81.

- 38-Jones, C.P. (1989)** Extracts from Nature, Marks and Spencer P.L.C., Tigerprint, London.
- 39-Kamal, R., Yadav, R. and Sharma, J.D. (1993)** Efficacy of the steroidal fraction of fenugreek seed extract on fertility of male albino rats. *Phytotherapy Res.* 7, 134–8.
- 40-Kannel, W.B. (1983)** High-density lipoprotein: epidemiologic profile and risks of coronary artery disease. *Am. J. Cardiol.* 52, 9B.
- 41-Khare, A.K., Sharma, M.K. and Bhatnagar, V.M. (1983)** Mild anti-fertility effect of ethereal extract of seeds of *Trigonella foenum-graecum* (Methi) in rats. *Arogya-J. Health Sci.* IX, 91–3.
- 42-Kavadas, D.S. (1956)** Illustrated Botanical – Phytological Dictionary, Vol. XIII, pp. 3929–33 (in greek).
- 43-Khosla, P., Gupta, D.D. and Nagpal, R.K. (1995b)** Effect of *Trigonella foenum graecum* (fenugreek) on serum lipids in normal and diabetic rats. *Indian J. Pharmacol.* 27, 89–93.
- 44-Laemli UK (1970)** Evaluation de l'antigénicité et de l'allergénicité résiduelle des protéines du lactosérum camelin après la digestion pepsique/trypsique. University d'oran Es-Sénia, 2010.p65.
- 45-Leyel, C.F. (1987)** Elixirs of Life, Faber & Faber, London.
- 46-Lust, J.B. (1986)** The Herb Book, Bantam Books Inc., New York.
- 47-Manniche, L. (1989)** An Ancient Egyptian Herbal, British Museum Publ. Ltd., London.
- 47-Manon, M. (2012)** Caractérisation immunologique de plusieurs protéines végétales impliquées dans l'allergie alimentaire en vue de la création d'un test de diagnostic sur biopuces. Université de lorraine.France.
- 48-Moissides, M. (1939)** Le fenugrec autrefois et aujourd'hui. *Janus* 43, 123–30.
- 49-Mishkinsky, J., Joseph, B. and Sulman, F. (1967)** Hypoglycaemic effect of trigonelline. *Lancet* i, 1311–12.
- 50-Mishra, S.S., Tewari, J.P. and Saxena, K.B. (1965)** Anthelmintic activity of some Indian medical plants. *Ind. J. Med. Sci.* 19, 398.
- 51-Mital, N. and Gopaldas, T. (1986a)** Effect of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) seed based diets on the birth outcome in albino rats. *Nutr. Rep. Int.* 33, 363–9.
- 52-Nadkarni, K.M. (1954)** Indian Materia Medica, Popular book depot, Bombay. Vol. I, pp. 1240–3.
- 53-Melius, P. (1578)** Herbarium, Heltai Gásparne Könyvnyomdája, Kolozsvár.
- 54-Miller, J.I. (1969)** The Spice Trade of the Roman Empire 29 B.C. to A.D. 641, Clarendon Press, Oxford.
- 55-Moradi Kor N.,Didarschetaban M.B.,Saeid H. R.,(2013):** Fenugreek(*Trigonella foenum-graecum* L.) as a Nalable medicinal plant .*Internationnal journalof Advance biological and Biomedical Research* 1(8):pp922-931.
- 56-Petit, P., Sauvaire, Y., Hillaire-buys, D., Manteghetti, M., Baissac, Y., Gross, R. and Ribes, G. (1995a)** Insulin stimulating effect of an original amino acid, 4-hydroxyisoleucine, purified from fenugreek seeds. *Diabetolog.* 38(S1), A101.
- 57-Phitos, D. and Damboldt, J. (1985)** Die Flora der Insel Kefallinia (Griechenland). *Botanika Chronika*, 5(1–2), 1–204.
- 58-Polunin, O. (1988)** Flowers of Greece and the Balkans, A Field Guide, 1.Repr., Oxford University Press, Oxford, New York.

- 59-Rao, V.S., Menezes, A.M. and Gadelha, M.G. (1988)** Anti-fertility screening of some indigenous plants of Brazil. *Fitoterapia* LXI, 17–20.
- 60-Rahmani, M. Toumi-Benali, F. Hamel, L. Dif, M. (2015)** Aperçu ethnobotanique et phytopharmacologique sur *Trigonella foenum-graecum* L. *lovensis* 2015.
- 61-Rosengarten, F. (1969)** *The Book of Spices*, Livingston, Wynnewood, Penns., USA.
- 62-Rouk, H.F. and Mangesha, H. (1963)** Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.). Its relationship, geography and economic importance, *Exper. Stat. Bull. No. 20*, Imper. Ethiopian College of Agric. & Mech. Arts.
- 63-Sauvaire, Y. and Baccou, J.S. (1976)** Nutritional value of the proteins of leguminous seed, fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.). *Nutr. Rep. Int.* 14, 527–35.
- 64-Sauvaire, Y., Girardon, P., Baccou, J.C. and Risterucci, A.M. (1984)** Changes in growth, proteins and free amino acids of developing seed and pod of fenugreek. *Phytochem.* 23, 479–86.
- 65-Sauvaire, Y., Baissac, Y., Leconte, O., Petit, P. and Ribes, G. (1996)** Steroid saponins from fenugreek and some of their biological properties. *Adv. Exp. Med. Biol.* 405, 37–46.
- 66-Sethi, N., Nath, D., Singh, R.K. and Srivastava, R.K. (1990)** Anti-fertility and teratogenic activity of some indigenous medicinal plants in rats. *Fitoterapia* LXI, 64–7.
- 67-Setty, B.S., Kamboj, V.P., Garg, H.S. and Khanna, N.M. (1976)** Spermicidal potential of saponins isolated from Indian medicinal plants. *Contraception* 14, 571–8
- 68-Shani, J., Goldschmied, A., Ahronson, Z. and Sulman, F.G. (1974)** Hypoglycaemic effect of *Trigonella foenum-graecum* and *Lupinus termis* (Leguminosae) seeds and their major alkaloids in alloxan diabetic and normal rats. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 210, 27–36.
- 69-Sharma, R.D. (1984)** Hypocholesterolaemic activity of fenugreek (*T. foenum-graecum*): an experimental study in rats. *Nutr. Rep. Int.* 30, 221–31.
- 70-Sharma, R.D. (1986a)** An evaluation of hypocholesterolaemic factor of fenugreek seeds (*T. foenum-graecum*) in rats. *Nutr. Rep. Int.* 33, 669–77.
- 71-Sharma, R.D. and Raghuram, T.C. (1990)** Hypoglycaemic effect of fenugreek seeds in non-insulin dependent diabetic subjects. *Nutr. Res.* 10, 731–9.
- 72-Smith, A. (1982)** Selected markets for turmeric, coriander, cumin and fenugreek seed and curry powder, Tropical Product Institute, Publication No. G165, London.
- 73-Stark, A. and Madar, Z. (1993)** The effect of an ethanol extract derived from fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) on bile acid absorption and cholesterol levels in rats. *Br. J. Nutr.* 69, 277–87.
- 74-Stolzenberg, S.J. and Parkhurst, R.M. (1974)** Spermicidal actions of extracts and compounds from *Phytolacca dodecandra*. *Contraception* 10, 135–43
- 75-Subba-Rao, N.S. and Sharma, K.S.B. (1968)** Pectin methylesterase activity of root exudates of legumes in relation to Rhizobia. *Pl. Soil*, 28(3), 407–12.
- 76-Stuart, M. (1986)** *The Encyclopaedia of Herbs and Herbalism*, Orbis, London.
- 77-Sunram-Lea SI, Foster JK, Durlach P & Perez C (2004)** The influence of fat co-administration on the glucose memory facilitation effect. *Nutritional Neuroscience* 7, 21–32.
- 78-Taranalli, A.D. and Kuppast, I.J. (1996)** Study of wound healing activity of seeds of *Trigonella foenum-graecum* in rats. *Ind. J. Pharm. Sci.* 58(3), 117–19.
- 79-Trowell, H. (1972)** Ischaemic heart disease and dietary fibre. *Am. J. Clin. Nutr.* 25, 926–31.
- Uchida, K., Takase, H., Nomura, Y., Takeda, K., Takeuchi, N. and Ischikawa, Y. (1984)

Changes in biliary and faecal bile acids in mice after treatment with disogenin and B-sitosterol. *J. Lipid Res.* 25, 236–45.

80-Udayasekhara Rao, P. and Sharma, R.D. (1987) An evaluation of protein quality of fenugreek seeds (*Trigonella foenum graecum*) and their supplementary effects. *Food Chem.* 24, 1–9.

81-Uphof, J.C.T. (1968) Dictionary of Economic Plants, Lehre Verlag von J. Cramer, New York.

82-Valette, G., Sauvaire, Y., Baccou, J.C. and Ribes, G. (1984) Hypocholesterolaemic effect of fenugreek seeds in dogs. *Atherosclerosis* 50, 105–11.

83-Varshney, I.P. and Sharma, S.C. (1996) Saponins XXXII *Trigonella foenum graecum* seeds. *J. Indian Chem. Soc.* 43, 564–7

84-Yoshikawa, M., Murakami, T., Komatsu, H., Murakami, N., Yamahara, J., Matsuda, H. (1997) Medicinal foodstuffs. IV. Fenugreek seed. (1): structures of trigoneosides Ia, Ib, IIa, IIb, IIIa and IIIb, new furostanol saponins from the seeds of Indian *Trigonella foenum-graecum* L. *Chem. Pharm. Bull.* 45(1), 81–7.

Site web:

1-www.i-deititique.com

2-www.wikipidea.com

Résumé

Le fenugrec (*Trigonella foenum-graecum L.*) est une herbacée annuelle appartenant de la famille des fabacées. Il se trouve partout dans le monde, mais il est d'origine méditerranéen. Cette plante est connue par ses propriétés médicinales, thérapeutiques et nutritionnelles très importantes vu les activités pharmacologiques des composés phytochimiques présents dans les extraits des graines de cette plante. Dans notre étude nous avons réalisé une évaluation qualitative des protéines totales de la farine de ces graines suivie d'une électrophorèse SDS PAGE selon la méthode de Laemmli 1970 en utilisant deux tampons d'extractions de composition différentes. Après le dosage des protéines extrait on a confirmé que le tampon 1 est plus efficace que le tampon 2 en termes de quantité et pas de qualité sur les protéines extraites. La migration des protéines extraites par l'électrophorèse a confirmé que le fenugrec est riche en protéines et nous a permis de penser sérieusement à considérer le fenugrec comme une plante fonctionnelle avec un rôle hormonal très important.

Mots clés : fenugrec, électrophorèse, protéine, tampon, hormone.

ملخص

الحلبة (*Trigonella foenum-graecum L.*) هي عشب سنوي ينتمي إلى عائلة البقوليات تتواجد في جميع أنحاء العالم ، ولكن أصلها منطقة البحر الأبيض المتوسط. يشتهر هذا النبات بخصائصه الطبية والعلاجية و الغذائية في غاية الأهمية نظراً للأنشطة الدوائية للمواد الكيميائية النباتية الموجودة في مستخلصات بذور هذا النبات. في دراستنا أجرينا تقييماً نوعياً لبروتينات الكلية لطحين هذه البذور متبوعاً بالرحلان الكهربائي SDS PAG باستخدام محلولي إستخلاص مختلفا التركيب. بعد فحص البروتين المستخرج ، تم التأكد من أن المحلول 1 أكثر كفاءة من المحلول 2 من حيث الكمية وليس النوعية على البروتينات المستخرجة. وقد أكدت هجرة البروتينات المستخلصة من الرحلان الكهربائي أن الحلبة غنية بالبروتينات وسمحت لنا بالتفكير بجديّة في اعتبار الحلبة نباتاً وظيفياً له دور هرموني مهم جداً.

الكلمات المفتاحية : الحلبة ، الرحلان الكهربائي ، البروتين ، محلول ، هرمون

Abstract

Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum L.*) is an annual herb belonging to the fabaceae family. It is found all over the world, but it is of Mediterranean origin. This plant is known for its medicinal, therapeutic and nutritional properties very important given the pharmacological activities of the phytochemicals present in the extracts of the seeds of this plant. In our study we carried out a qualitative evaluation of the total flour proteins of these seeds followed by an SDS PAGE electrophoresis according to the Laemmli 1970 method using two extraction buffers of different composition. After the extracted protein assay it was confirmed that buffer 1 is more efficient than buffer 2 in terms of amount and not quality on the extracted proteins. The migration of proteins extracted by electrophoresis confirmed that fenugreek is rich in proteins and allowed us to think seriously about considering fenugreek as a functional plant with a very important hormonal role.

Keys words: fenugreek, electrophoresis, protein, buffer, hormone .