

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*  
جامعة الجيلالي بونعامة خميس مليانة  
Université Djilali Bounaâma de Khemis Miliana  
Faculté des Sciences et de la Technologie  
Département des Sciences de la Matière



*Mémoire de fin d'étude*  
*En vue de l'obtention d'un diplôme de **Master** en Chimie*  
*Spécialité: Chimie Pharmaceutique*

**Thème :**

Contribution à l'étude phytochimique et évaluation de  
l'activité microbiologique et antioxydante d'une espèce de  
plante du genre tuber.

**Devant le jury composé de :**

- Président : M. Hammoudi
- Encadrant : M. Hachama
- Examineur : M. Moumen

**Présenté par :**

Amrane Ahlem  
Belhadj Mekki Salima

*Année universitaire : 2018 / 2019*

"وَوَضَّلْنَا عَلَيْكُمُ الْعِمَامَ وَأَنْزَلْنَا عَلَيْكُمُ الْمَنَّانَ وَالسَّلْوَى كُلُّوْا مِنْ طَيِّبَاتِ مَا

رَزَقْنَاكُمْ وَمَا ظَلَمُونَا وَلَكِنْ كَانُوا أَنْفُسَهُمْ يَظْلِمُونَ"

الآية 57 من سورة البقرة

روى البخاري ومسلم عن سعيد بن زيد قال : سمعت النبي صلى الله عليه وسلم

يقول : (الكمأة من المن و ماؤها شفاء للعين)

## Table de Matière

Introduction .....	1
--------------------	---

### Chapitre I : Synthèse Bibliographique

I.1. Présentation de la truffe .....	3
I.2. Historique .....	4
I.3. Taxonomie et classification des trèfles du désert .....	4
I.3.1. Taxonomie.....	4
I.3.2. classification.....	5
I.4. morphologique des truffes.....	5
I. 5. Répartition géographique .....	8
I.5.1. Distribution géographique mondiale.....	8
I.6. Ecologie des truffes .....	9
I.6.1. Nature du sol .....	9
I.6.2- Le climat .....	10
I.6.3- Plante hôte .....	10
I.7. La récolte des truffes du désert .....	11
I.8. Composition chimique des truffes .....	12
I.8.1. composés organiques et éléments minéraux .....	12
I.9. Valeur nutritionnel .....	13
I.10. Arômes et propriétés organoleptiques .....	14
I.11. Les activités biologiques des truffes .....	14
I.12. Activité antimicrobienne de truffes de Sahara.....	15
I.13. Activité antioxydante de truffes de Sahara.....	17
I.14. Utilisation thérapeutique .....	18

### Chapitre II : Matériel et Méthodes

II.1. Matériel végétal.....	19
-----------------------------	----

II.2. Matériel biologique .....	19
II.3. Milieux de culture .....	20
II.4. Appareils et produits chimiques.....	20
II.5. Extraction .....	20
II.5.1 Extraction au Soxhlet .....	20
II.5.1.2. Fractionnement de l'extrait aqueux .....	21
II.5.2. Extraction par macération .....	23
II.2.1.4. Fractionnement de l'extrait aqueux .....	24
II.6. Criblage chimique des métabolites secondaires de truffes du désert .....	25
II.6.1. Mise en évidence des groupes de substances chimiques .....	25
II.6.1.1 Mise en évidence des dérivés anthracéniques .....	25
II.6.1.2 Mise en évidence des anthocyanes .....	25
II.6.1.3 Mise en évidence des tanins .....	26
II.6.1.4 Mise en évidence des saponosides .....	26
II.6.1.5. Dosage des polyphénols totaux .....	27
II.6.1.6. Dosage des flavonoïdes totaux .....	27
II.7. Activité antibactérienne .....	27
II.7.1. Inoculum .....	28
II.7.2. Ensemencement .....	28
II.7.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	28
II.7.2.1. Préparation des dilutions.....	28
II.7.2.2. Méthode de diffusion sur gélose .....	29
II.7.2.3. La détermination des concentrations inhibitrices (CMI) .....	29
II.8. L'activité antioxydant .....	29
II.8.1. Activité Scavenger du radical DPPH .....	29
II.9. Analyse spectroscopique .....	30
II.9.1. Analyse par Infra-Rouge à Transformée de Fourier (FTIR).....	30
II.9.2. Analyse qualitative par HPLC .....	31

## **Chapitre III : Résultats et Discussion**

III.1. Rendement d'extraction .....	33
III.1.1. Extraction au Soxhlet.....	33
III.1.2. Extraction par macération .....	34
III.2. Etude phytochimique .....	35
III.2.2. Teneur en polyphénols totaux .....	36
III.2.3. Teneur en flavonoïdes totaux .....	37
III.3. Activité antibactérienne .....	38
III.3.1. Détermination de la CMI .....	42
III-4- Evaluation de l'activité antioxydante .....	43
III.5. analyses chromatographique .....	46
III.5.1. Analyse par Infra-Rouge à Transformée de Fourier (FTIR).....	46
III.5.2. Analyse qualitative par HPLC.....	50
<b>Conclusion</b> .....	51

### **Annexe**

### **Références bibliographies**

### **Liste des tableaux**

### **Liste des figures**

### **Liste des symboles et Abréviations.**

## الملخص:

الهدف من هذه الدراسة هو التوصيف الكيميائي النباتي لمستخلصات الكمأة بالإضافة إلى تقييم نشاطها المضاد للميكروبات و الأوكسدة. تحصلنا على المستخلصات عن طريق السوكسليت و التنقيع باستعمال الكلوروفورم و الماء . كشفت الاختبارات الكيميائية النباتية العفص والسابونين والفلافونويد. وكان إجمالي الفينول والفلافونويد في مستخلص الكلوروفورم المتحصل عليه عن طريق سوكسليت أعلى محتوى في 291.63 ؛ 123.13 ملغ GAE/GAE على التوالي. تمت دراسة النشاط المضاد للبكتيريا للعديد من المستخلصات على خمس سلالات بكتيرية أظهرت أن معظمها لها نشاط عالي (MIC = من 12.5 – 100 ملغ / مل ) ، حيث يكون الجزء المائي المتحصل عليه بالتنقيع هو الأفضل مقارنة بالعينات الأخرى ، بحد أقصى 21 ملليمتر بالنسبة ل*كانديدا البيكانس*. أما بخصوص نشاط مضادات الأوكسدة التي قمنا بها بطريقة DPPH أن جميع المستخلصات تظهر نشاطاً، وخاصة مستخلص الهكسانول (IC<sub>50</sub> = 40.79 ميكروغرام / مل). ومع ذلك ، فإن مستخلص الكلوروفورم ، وخلات الإيثيل والمستخلص المائي المتحصل عليه سوكسليت لم يظهر أي نشاط.

**الكلمات المفتاحية :** الكمأة، دراسة كيميائية نباتية ، نشاط مضاد للأوكسدة ، نشاط مضاد للميكروبات.

## Résumé :

L'objectif de cette étude est la caractérisation phytochimique des extraits de *Terfezia claveryi* ainsi que l'évaluation de leur activité antimicrobienne et antioxydante. Les échantillons testés sont obtenus par deux techniques d'extraction, celle de l'extracteur de Soxhlet et par macération, en utilisant le chloroforme et l'eau distillée comme solvants. Le fractionnement des extraits bruts obtenus est réalisé par l'utilisation des solvants à polarité croissante. Les tests photochimiques réalisés ont révélé la présence des tanins, des saponines et des flavonoïdes. La teneur en phénols totaux et en flavonoïdes de L'extrait chloroformique obtenu par extraction au Soxhlet a présenté la teneur la plus élevée de 291,63 mg GAE/gE et 123,13 mg GAE /gE respectivement. L'activité antimicrobienne a été étudié sur cinq souches bactériennes a exhibé que la plupart des extraits ont un pouvoir antimicrobien important (CMI =12,5 a 100 mg/mL), où la fraction aqueuse obtenu par macération était la meilleure comparativement aux autres échantillons, avec une zone d'inhibition maximal de 21 mm pour *candida albicans*. Par ailleurs, l'évaluation du potentiel antioxydant par la méthode de DPPH révèle que tous les extraits manifestent une activité antioxydante, en particulier celui de l'extraits hexanolique (IC<sub>50</sub> = 40,79 µg/mL). Cependant les extraits, chloroformique, d'acétate d'éthyle et l'extrait aqueux obtenus par Soxhlet n'ont montré aucune activité.

**Mots clés :** *terfezia claveryi*, étude phytochimique, activité antioxydante, activité antimicrobienne.

## Abstract:

The objective of this study is the phytochemical characterization of different extract of *Terfezia claveryi* and the evaluation of their antimicrobial and antioxidant activity. The samples tested are obtained by extraction with a Soxhlet and maceration using chloroform and distilled water, thus by fractionation using solvents with increasing polarity. Phytochemical tests have revealed tannins, saponins and flavonoids. The total phenol and flavonoid content of the chloroformic extract obtained by Soxhlet extraction had the highest content at 291.63 mg GAE/gE; 123.13 mgEQ/gE respectively. The antimicrobial activity was studied on five bacterial strains and showed that most of the extracts had a high antimicrobial capacity (MIC = 12.5 to 100 mg/mL), where the aqueous fraction obtained by extraction from maceration is the best compared to the other samples, with a maximum inhibition zone of 21 mm for *Candida albicans*. Moreover, the evaluation of the antioxidant potential by the DPPH method reveals that all the extracts show an antioxidant activity, in particular the hexanolic extract (IC<sub>50</sub> = 40.79 µg/mL). However, the chloroformic extract, ethyl acetate and aqueous extract obtained by Soxhlet showed no activity.

**Key words:** *Terfezia claveryi*, phytochemical study, antioxidant activity, antimicrobial activity.

## *Remerciements :*

*Nous remercions tout d'abord le bon Dieu, le tout puissant qui nous a donné le pouvoir, le courage et la patience pour élaborer ce mémoire.*

*Nous tenons à remercier vivement :*

*Notre promoteur : M HACHAMA, qu'il trouve ici l'expression de notre vive reconnaissance pour sa disponibilité, son aide, ses conseils, ainsi qu'à ses qualités relationnelles et humaines.*

*M HAMMOUDI, d'avoir accepté de présider ce jury et d'apporter ses appréciations sur notre travail.*

*M MOUMEN, qui nous a fait l'honneur d'examiner ce travail*

*L'ingénieur de laboratoire APC : M CHAOUCHI.*

*L'ensemble des enseignants qui ont participé de près ou de loin dans notre formation.*

*A la fin, nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont à tous ceux qui ont manifesté leur soutien de près ou de loin dans la réalisation de notre travail.*

*Merci à Tous...*

## ***Dédicace :***

*Nous dédions ce modeste travail à:*

*Nos très chers précieux Parents, qui nous ont donné un  
magnifique model de labeur et de persévérance, de l'amour et  
de la force.*

*Toute la famille Amrane et Belhadj Mekki*

*Nos chers Amies En témoignage de l'amitié sincère qui nous a  
liées et des bons moments passés ensemble.*

*Nos collègues de la promotion 2019 chimie pharmaceutique.*

*Et A tous ceux que nous aimons.*

*Ahlem & Salima*





# *Introduction*

## **Introduction générale**

Depuis la nuit des temps, l'homme utilise la nature comme source de nourriture et de médicaments. Selon l'organisation mondiale de la santé, environ 80% des individus dépendent de la médecine traditionnelle dans les soins primaires dans la vie quotidienne, et se définit comme l'ensemble de toutes les connaissances pratiques explicables ou non pour diagnostiquer ou éliminer un déséquilibre physique, mental en s'appuyant exclusivement sur l'expérience vécue et l'observation, transmises de génération en génération (oralement ou par écrit) [1]

Aujourd'hui, les champignons ont attiré beaucoup d'attention comme étant comestibles et médicinales et source de développement dans de nombreux pays asiatiques, semblable à d'autres champignons, les truffes comprennent une nouvelle source thérapeutique. Elles sont très appréciées en raison de leur valeur nutritionnelle et leurs utilisations à des fins thérapeutiques. [2-4].

Et à la lumière d'El hadith Elnabaoui : «Truffe de Manne et son eau curative pour les yeux», de nombreux scientifiques se sont intéressés aux activités biologiques des champignons et différentes études sur les truffes de sable ont fait preuve que ces macrochampignons sont parmi les organismes qui ont un pouvoir médicinal bactéricide important contre les infections oculaires, ceci explique la raison de l'utilisation antique des truffes par les bédouins pour remédier les maladies oculaires. [5,6]

De nombreux travaux scientifiques ont été effectués sur les extraits de ces champignons provenant de différents pays (Algérie, Maroc, Espagne, Turquie, Moyen Orient) en particulier sur les métabolites secondaires qu'ils contiennent et leurs activités biologiques.

Parmi les composés thérapeutiques des truffes du désert, ceux anti-inflammatoires, anticancéreux, antioxydants, antimicrobiens. [2,7-9]

C'est dans ce contexte que s'insère le présent travail qui vise à étudier l'extraction, l'activité antibactérienne et antioxydante des substances bioactives de truffes du *fidh batma* wilaya de *Djelfa*.

Ainsi, ce manuscrit comprend trois chapitres, une introduction et une conclusion générale. Le premier chapitre est une étude bibliographique dans lequel on présente des généralités sur les truffes du Sahara et les activités biologiques des extraits de ces champignons. Le deuxième chapitre est consacré à exposer le matériel végétal et les différentes techniques utilisées pour l'extraction, la caractérisation, le dosage et les tests d'activités. Le troisième chapitre regroupe les résultats et leurs discussions.

## *Synthèse bibliographique*

### I.1. Présentation de la truffe :

La truffe est un champignon souterrain ou plus exactement, la fructification d'un champignon ascomycète. Comme tout champignon, la truffe n'a pas de fonction chlorophyllienne, elle ne peut donc pas synthétiser par elle-même des substances organiques et utiliser l'énergie solaire. Elle s'associe alors à un arbre qui lui fournit les sucres et les substances organiques qui lui sont nécessaires en échange d'éléments minéraux faisant défaut à son hôte. Ces échanges réciproques sont caractéristiques d'une symbiose.

L'appareil végétatif du champignon, le mycélium, lui permet d'explorer le sol à la recherche d'un support nourricier et pénètre dans les couches superficielles des racines provoquant une modification de leur structure

La rencontre des radicelles de l'arbre hôte et du mycélium donne naissance à un organe indispensable aux échanges : la mycorhize. Elles permettent la conservation du mycélium pendant la période hivernale, le développement et la propagation du mycélium dès le printemps et les échanges alimentaires entre le champignon et l'arbre [10].

En Algérie, ces diverses espèces sont communément appelées « Terfass », « Terfez », « Torfez », « bannat », « Kam'a » et « Kama » [11].

D'autres noms sont également attribués aux truffes des sables dans le moyen orient comme « Nabat Al-Radh », « Asqal », « Bidat El-Ardh », « Afateeh », et « Banat Ober » [12].

Le terme classique des truffes du désert «Al-Kamah» signifie «couvert» ou «caché», [13-12].

Le non scientifique du genre *Terfezia* dériverait de «Terfez» ou «Terfâs» qui est une appellation maghrébine. Mais Offner (1950) suggère qu'il peut être dérivé de Latin «Terraefex» signifiant «production de la terre».

Le mot truffe viendrait de l'ancien provençal *trufa* et le nom de genre *Tuber*, utilisé par les scientifiques, signifie en latin tubercule et truffe. [15].

### I.2. Historique

La truffe est connue depuis quelques millénaires, certains auteurs font remonter jusqu'à la civilisation mésopotamienne ou à l'Égypte du pharaon Chéops, soit plus de 3 500 à 2 500 ans avant Jésus-Christ .

D'autres recherches ont confirmé leur existence aussi par les archives archéologiques de la région mésopotamienne qui atteste leur appellation sous le nom « Al Kam'atu » suite à l'écriture cunéiforme sur les tablettes d'argile datant de quatre mille ans. [16]

Cependant, la civilisation islamique témoigne l'utilisation des truffes où notre prophète Mohammed avait dit que la truffe est une « manne » qu'Allah l'a envoyé au peuple israélien et que son jus était un remède oculaire, puis il souligne le rôle thérapeutique de la truffe dans son Hadit- Ennabaoui cité précédemment.

### I.3. Taxonomie et classification des trèfles du désert :

#### I.3.1. Taxonomie :

La taxonomie des Terfez est essentiellement basée sur les caractéristiques du péridium (aspect, couleur), sur celles des spores (nombre, forme, ornementation), et sur des caractères complémentaires (forme ou taille des corps fructifères, coloration de la Gléba, habitat, disposition des veines et odeur).[17-19]

Les ascomycètes hypogées représentent l'un des groupes systématiques les plus intéressants et les plus compliqués [20]. Selon la mycologie classique, la plupart des espèces ont été décrites en fonction de leurs caractéristiques morphologiques et d'autres caractéristiques organoleptiques.[21]

Les genres *Terfezia* et *Tirmania* sont des ascomycètes hypogés les plus connus et appréciés appartiennent à la famille *Terfeziaceae* [22]

### I.3.2. classification :

Selon [18,23], les *Terfezia* appartiennent à la classification suivante :

<b>Règne :</b>	<i>Fungi</i>
<b>Embranchement :</b>	<i>Septomycota</i>
<b>Sous Embranchement :</b>	<i>Ascomycotina</i>
<b>Classe :</b>	<i>Euastomycetes (Eutuniquées)</i>
<b>Sous Classe :</b>	<i>Discomycetidae</i>
<b>Ordre :</b>	<i>Tubérales</i>
<b>Famille :</b>	<i>Terfeziacees</i>
<b>Genre :</b>	- <i>Terfezia</i>
<b>Espèces :</b>	plus de 36 espèces ( <i>Terfezia claveryi</i> , <i>Terfezia albida</i> , <i>Terfezia alsheikhii</i> , <i>Terfezia aphroditis</i> , <i>Terfezia arenaria</i> , <i>Terfezia berberiodora</i> , <i>Terfezia boudieri</i> , <i>Terfezia cadevalli</i> , <i>Terfezia canariensis</i> , <i>Terfezia castanea</i> , <i>Terfezia cistophila</i> , <i>Terfezia decaryi</i> , <i>Terfezia deflersii</i> , <i>Terfezia eliocrocae</i> , <i>Terfezia eremita</i> , <i>Terfezia fanfani</i> , <i>Terfezia extremadurensis</i> , etc.

### I.4. morphologique des truffes :

Selon [24], on peut résumer les caractères distinctifs entre les genres *Tirmania* et *Terfezia* dans le tableau I.1 comme le suivant :

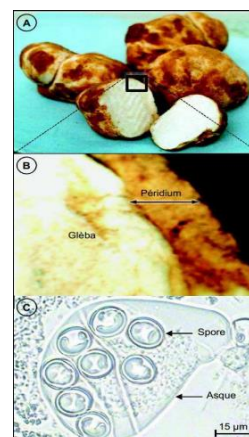


**Tableau I.1** : Caractères distinctifs entre les genres *Tirmania* et *Terfezia*

	critères	genre	
		tirmania	terfezia
<b>Morphologie de l'ascocarpe</b>	forme	Subglobuleuse à turbinée ou loubé.	Subglobuleuse à turbinée ou irrégulière.
	diamètre	>14 cm .	2 à 1 cm.
	Configuration de la surface	Lisse, glabre, ridée ou craquelée.	Lisse, glabre.
	Couleur externe	Blanc-jaunatre à marron claire	Jaune-brunatre à brun ou brun-noire.
	Structure de la gléba	Solide comportant un réseau de veines stériles blanches délimitant les nodules fertiles blanc à jaune claire ou ochracés	Solide comportant un réseau de veines stériles blanches délimitant les nodules fertiles jaunatres à brunatres.
<b>Péridium</b>	Présence ou non.	présence	présence
	Cuticule externe.	Hyphes entrelacées ou parallèles.	Hyphes entrelacées ou mêlées à des cellules isodiamétriques.
<b>Asques</b>	Forme	Ellipsoïde	Globuleuse
	Nombre de spores par asques à maturité.	8	(-3) 5-8
	Arrangement des spores dans l'asques.	Irrégulièrement groupées	Irrégulièrement groupées
	Réaction de Melser	Bleu (amyloïde)	Jaune à arange (non amyloïde)
	Arrangement des asques.	Indéhiscents, répartis au hasard dans les tissus.	Indéhiscents, répartis au hasard dans les tissus.
<b>Spores</b>	Forme	Ellipsoïde ou sphérique	sphérique
	Les spores de toutes les espèces sont lisses à l'état jeune.	Lisse ou si elles sont rugueuses, incluses dans une épsipore lisse et hyaline.	Avec des épines, papilles libres ou incluses dans un mucilage avec un réseau.

*Tirmania* et *Terfezia* ont l'asque avec les nombres semblables des spores et l'ornement souvent semblable de spore. Cependant, l'ornement des spores peut être plus ou moins indépendant de la progression phylogénétique.

(A)et (B) Coupe transversale dans l'ascocarpe (Gr×15), (C) contenu d'un asque de *Tirmania nivea* renfermant huit spores, observé au microscope photonique (Grx1000).



**Figure I.1 :** Caractérisation morpho-anatomique de *Tirmania nivea* collectée à Oued M'ya (Ouargla).

Le tableau I.2 démontre les caractéristiques morphologiques et anatomiques des Terfez récoltés dans le sud Algérien.

**Tableau I.2:** les caractéristiques morphologiques et anatomiques des terfès récoltés dans le sud Algérien. [25]

	Péridium	Gléba	Nombre d'ascospores	genre
OUARGLA	Blanc	Blanche	8	Tirmania
	Marron	Blanc rosatre	7	Terfezia
	Noir	Blanc rosatre	6	Terfezia
LAGHOUAT	Blanc	Blanche	8	Terfezia
	Brun	Blanche	8	Terfezia
	noir	Grisatre noir	6	Terfezia
BECHAR	Blanc	Blanche	7	Tirmania
	Brun avec des taches rouges	Blanche	8	Terfezia
	Brun avec des taches rouges	Blanche Grisatre	8	Terfezia
	Noir	Grisatre noir	6	terfezia
	Marron, beige	Blanche	8	Tirmania
	Brun avec des taches rouges et noires	Ocre	7	terfezia
DJELFA	Brun clair à marron	Jaune clair	8	terfezia
	Brun noir à noir	Ocre	9	terfezia

## I. 5. Répartition géographique :

Les truffes du désert vivent dans plusieurs continents où ils jouent un rôle de partenaires mycorhiziens des plantes, La spécificité vis-à-vis de l'hôte symbiotique et le pH (acide ou basique) du sol sont deux facteurs qui jouent un rôle clé dans la répartition géographique et la différenciation des espèces des Terfez (**Diez et al., 2002**).[26]

### I.5.1. Distribution géographique mondiale :

Ils sont largement répartis sur le pourtour des zones semi-aride à aride ou même à climat subsaharien [27-29]. Le pourtour du Bassin méditerranéen Europe et Maghreb (tableau I.3) et Moyen Orient (Tableau I.4) s'avèrent l'habitat préférentiel des truffes du désert. Quelques espèces se rencontrent dans d'autres régions dans le monde comme les Etat Unis, la Chine, le Japon, l'Afrique du sud, et Mexique [22,30-32]

**Tableau I.3:** Distribution des terfez dans les pays méditerranéens

Pays	Régions	Genre et Espèces	Références
Algérie	Mostaganem, Annaba, Taref, Batna, Msila, Biskra, Djelfa, El- Aricha, Saida, Naama, El-Bayadh, Bechar, Tindouf, Ouargla, Tamanrasset, Timimoun, Touggourt.	<i>Terfezia arenaria</i> <i>Tirmania pinoyi</i> <i>Tirmania nivea</i> <i>Tirmania lefebverei</i>	[24, 33,34]
Egypte	El-Salloum près d'Alexendrie	<i>Tirmania nivea</i> <i>Terfezia claveryi</i> <i>Picoa juniperi</i>	[33,35,36]
Maroc	Jarada, Maamora, Arfoud, Casablanca, Rabat, Tanger, Tandrara	<i>Delastria rosea</i> <i>Terfezia arenaria</i> <i>Terfezia claveryi</i> <i>Terfezia eremita</i> <i>Tirmania nivea</i> <i>Tirmania pinoyi</i> <i>Tuber asa</i> <i>Picoa juniperi</i>	[2,37-39]
France	//	<i>Terfezia leptoderma</i> <i>Terfezia olbiensis</i>	[39,40]
Portugal	//	<i>Terfezia leonis</i> <i>Terfezia arenaria</i>	[26,41-43]

**Tableau I.4 :** Distribution des terfez dans les pays du Moyen-Orient.

Pays	Genre et Espèces	Références
Bahreïn	<i>Terfezia claveryi</i> <i>Tirmania nivea</i> <i>Phaeangium</i> <i>Lefebvrei</i>	[12]
Qatar	<i>Terfezia claveryi</i> <i>Tirmania nivea</i> <i>Phaeangium</i> <i>Lefebvrei</i>	[12]
Jordanie	<i>Terfezia claveryi</i>	[5]
Syrie	<i>Terfezia claveryi</i> <i>Tirmania nivea</i> <i>Tirmania pinoyi</i>	[34]

**Tableau I.5 :** Distribution du terfèze sur d'autres continents .

Pays	Genre et Espèces	Références
Afrique du sud	<i>Terfezia pferlii</i>	[30,31]
Japon	<i>Terfezia giganter</i>	[32]
Chine	<i>Terfezia giganter</i>	[22]
Mexique	<i>Terfezia olbiensis</i>	[32]

## I.6. Ecologie des truffes :

Trois paramètres sont importants pour la production de ces champignons : le sol, le climat et la plante hôte [44]

### I.6.1. Nature du sol :

L'étude est importante pour connaître certaines exigences édaphiques des Terfez (nature du sol, pH, sels minéraux...) qui sont variables selon leur genre.[45,46]

D'un point de vue physique, les sols où les Terfez poussent sont relativement homogènes. Les espèces de Terfez se développent sur des terrains plats sablonneux d'où leurs non «truffes du sable», soient gypseux, soient graveleux-gypseux, sablo-limoneux, certaines espèces affectionnent des sols limoneux ou argileux. [47-53]

D'un point de vue chimique, la majorité des truffes de désert colonisent des terres bien aérées, relativement riches en calcaire, pauvre en phosphore à pH basique, acide ou neutre [22, 26, 28, 44, 47, 54].

Du point de vue fertilité, les sols à terfez sont le plus souvent pauvres en matière organique et en éléments minéraux. [44-51].

En Algérie, les Truffes se développent sur un sol sablonneux, calcaire, riche en magnésium, pauvre en matière organique et en phosphore, bien pourvu en potassium. [43]

### **I.6.2- Le climat :**

Le développement et la production des terfez sont étroitement liés à la quantité des pluies et leur répartitions au cours de l'année ainsi que les orages, la présence et la forte densité des plantes hôtes. [16,33]

La température intervient dans le développement des Terfez, les températures de 24 à 30 °C sont convenables. Cependant, les fortes chaleurs ou les froids prolongés leur sont néfastes. [55-57]

Les truffes se développent sous des climats tropicaux et tempérés humides a été chaud ou sous des climats méditerranéens semi-arides et arides. [28, 48, 54, 58, 59]

En règle générale, la pluviométrie annuelle est de 50 à 380 mm dans les régions productrices de truffes du désert et la production est bonne si la pluviométrie est de 70 à 120 mm au Maghreb et de 100 à 350 mm au Sud de d'Europe [28, 54]

Au Nord du Sahara algérien la production des terfez est très affectée par les pluies automnales d'Octobre – Décembre : une pluviométrie annuelle de 124.14 mm accompagnée de pluies automnales de 49.2 mm donne une meilleure production [19]. Les bédouins et les récolteurs des terfez dans de nombreuses régions, affirment que les coups de tonnerre sont capitaux pour la production des truffes du désert. [12, 22]

Les précipitations tardives retardent la productivité des terfez. [59]

### **I.6.3- Plante hôte :**

Le problème de climat désertique résolu par les refuges mycorhiziens [60], dans la nature la plupart des terfez vivent en symbiose avec des plantes herbacées ou arbustives de la famille des *Cistaceae* appartenant aux genres *Helianthemum* et *Cistus*. [61-64]

Les hélianthèmes annuels ou pérennes sont fréquemment associées aux terfez en particulier *H. guttatum*, *H. salicifolium*, *H. lippii*, *H. ledifolium* et *H. almeriense*. [65-68]

Elles sont des indices de repérage des sols à terfez ; leurs ascocarpes à maturité soulèvent et craquellent le sol sous-jacent.



**Figure I.3 :** Craquèlement du sol sableux indiquant la présence des ascocarpes de terfez [69]

D'autres espèces de terfez ont été récoltées sous d'autres espèces de *Cistaceae* particulièrement *Cistus* (*C. albidus*, *C. creticus*, *C. ladanifer*, *C. monspeliensis*, *C. salviifolius*), *Fumana* (*F. procumbens*), *Halimium* (*H. halimium*) et *Xolantha*. [52, 70, 71]

De nombreuses espèces végétales arborescentes ou arbustives constituent des phytosymbiotes très appréciées par certaines espèces de terfez. Ces espèces végétales appartenant à diverses familles de plantes : *Pinaceae* (*Pinus halepensis*, *P. canariensis*, *P. radiata*, *P. pinaster* var. *atlantica*), *Fagaceae* (*Quercus* sp.), *Fabaceae* (*Robinia* sp., *Acacia* sp., *Cassia* sp., *Enterolobium* sp.), *Poaceae* (*Eragrostis* sp.), *Myrtaceae* (*Eucalyptus* sp.) et *Asteraceae* (*Artemisia* sp.). [30, 34, 47, 62, 63, 71]

D'autres espèces végétales ont été signalées à proximité de terfez : *Cyperaceae* (*Kobresia* sp.), *Grossulariaceae* (*Ribes* sp.), *Cucurbitaceae* (*Citrullus* sp.). [22, 26, 73]

### I.7. La récolte des truffes du désert :

Les truffes du désert ont collectées par la méthode dite «à la marque» , en observant auprès des plantes hôtes du genre *Heliantbemum*, les fissures et les surfaces gonflées et fendillées provoquées par les ascomes, Généralement, la récolte des terfez a lieu du mai Février jusqu'en fin mois Avril. [51, 73]

### I.8. Composition chimique des truffes :

#### I.8.1. composés organiques et éléments minéraux :

La composition nutritionnelle spécifique des truffes du genre *Terfezia Claveryi* contenait 16% de protéines, 28,7% de glucides, 4% de fibre, 2% de matières grasses et 28% d'hydrate de carbone. [74]

Les glucides sont l'un des composants majoritaires des truffes désertiques dont *T. claveryi*, et ajoutent que ces derniers sont d'une grande importance dans le secteur biomédical, en raison de leurs propriétés thérapeutiques, de leur abondance, de leurs sources renouvelables, non-toxiques et biodégradables.[19]

Dans les 20 % de protéines, 85 % serait très digestible par l'homme [22, 75], cette teneur est significativement plus élevée par rapport à celle des autres champignons comestibles et la plupart des légumes. [76]

Les truffes contiennent des teneurs en protéines et en acides aminés supérieures à celle de la plupart des légumes, et leur composition en acides aminés est comparable à celle des protéines animales ce qui expliquerait leur consommation par les Bédouins comme substituant de la viande dans leur régime. [77]

250 g de terfez représentent pour l'homme 23-27 % de sa prise quotidienne de protéines et 16-22 % de fibre. [7, 28]

*Terfezia claveryi* et *Picoa juniperi* sont riches en lipides et contiennent des teneurs élevées d'acide linoléique. [7]

Les ascocarps de *Terfezia claveryi* Chatin récoltés en Arabie Saoudite entre les années 1983 et 1987, contiennent 16% de protéines totales (% poids sec); 28% d'hydrates de carbone, 4% de fibres brutes totales et 2% de matières grasses brutes totales et ils sont riches en minéraux. *T. claveryi* contient aussi neuf acides gras saturés et quatre insaturés et vingt-neuf acides aminés ont également été détectés. [78]

Les diverses études ont prouvé que les caractéristiques alimentaires des ascocarps de Terfez changent d'une espèce à une autre selon l'âge (stade de maturation), la région de récolte, le temps, le type du sol et les facteurs climatiques. [56, 79]

**Tableau I.7:** Composition chimique et minérale de *Terfezia claveryi*, *Tirmania nivea* et *Tirmania pinoyi* [56]

GENRE ET ESPESES			
Composition chimique %	<i>Terfeziya claveryi</i> d'arabie Saoudite	<i>Tirmania nivea</i> d'arabie Saoudite	<i>Tirmaniya pinoyi</i> d'algerie
Protéines	24.96	27.18	20.30
Lipides	4.20	7.42	3
Fibres brutes	7.02	13.02	11.2
Cendres	6.39	5.40	3.8
Eléments minéraux (mg par 100g de matières sèches)			
Calcium	129	62	104.5
Magnésium	104	101	64.3
Phosphore	756	644	753.8
Sodium	199	110	13.3
Potassium	1730	734	1524.7
Fer	10.68	4.35	6.3
Manganèse	0.48	0.49	0.5
Cuivre	1.69	11.54	0.7
Zinc	5.10	5.04	3

### **I.9. Valeur nutritionnel :**

Les truffes du désert sont consommées depuis trois milles ans [80], ces champignons sont les plus chères du monde [73]. Elles sont considérées comme l'une des formes les plus anciennes de la nourriture. [81]

Les truffes du désert sont utilisées comme un substitut de viande et consommé en grandes quantités en raison [81], de leur valeur nutritive, de leur goût très délicieux et de leur arôme musqué. [8]

Les truffes sont devenues non seulement un exhausteur d'arôme alimentaire mais également des ingrédients alimentaires exceptionnels. [73]

Les truffes du sable sont pauvres en calories et en graisses [82], de plus semblent être une bonne source des vitamines C, B et  $\beta$ -carotène [83], et D3 et une quantité importante de vitamine E. [84]



Ces champignons contiennent également une teneur élevée en fibres insolubles ce qui augmente sa valeur nutritionnelle [85], et sont riches en flavonoïdes qui lui a fait montrer une haute activité de balayant les radicaux libres. [86]

Selon [82], les truffes sont des aliments sains aucun composé toxique n'a été détecté.

La qualité nutritionnelle des truffes est affectée au cours du traitement conventionnel et en outre, l'arôme de différentes espèces de truffes est perdu à cause des techniques de conservation. [87]

Les truffes du désert présentent diverses activités biologiques et nutritionnelles démontrant leur utilisations potentielles à des fins thérapeutiques [80]

### **I.10. Arômes et propriétés organoleptiques :**

Ces champignons souterrains seraient restés discrets s'ils n'avaient pas été trahis par les arômes qu'ils dégagent lorsqu'ils arrivent à maturé. Les personnes expertes sont capables de déceler l'odeur du champignon dans la terre, mais pour le repérer il est plus efficace de dresser à différents animaux ; le chien le plus utilisé. Les Terfez ont des arômes différents selon l'espèce; la blanche à des arômes fortement, alliés. [88]

### **I.11. Les activités biologiques des truffes :**

Les truffes du désert sont utilisées depuis longtemps en médecine traditionnelle par les populations autochtones d'Afrique du Nord et du moyen orient [89], en particulier les bédouins et les nomades du désert qui les emploient pour traiter les infections oculaires. [90,91]

Les truffes du désert présentent des caractéristiques biologiques inhabituelles [22], et sont même utilisés comme des médicaments. [85]

Les principaux types de composés bioactifs (polysaccharides, peptidoglycane, terpénoïdes, composés phénoliques, stéroïdes, lectines... etc.) qui possèdent un large éventail d'effets thérapeutiques. [92]

Les truffes du désert ayant plusieurs propriétés thérapeutiques telles que des propriétés antitumorales, hypocholestérolémiantes, antidiabétiques et immuno-modulatrices. [93,94]

Les activités antivirales et antimicrobiennes ont été traditionnellement les activités biologiques les plus étudiées de la truffe avec la plupart des chercheurs limitant leur portée

aux truffes du désert [56] contiennent également des enzymes à intérêt médical et industriel, [95] inflammatoires. [92]

D'autres travaux ont également montré que les extraits de truffes ont des propriétés hépatoprotectrices, anticancéreuses et aphrodisiaques. [78, 96-98]

Les truffes du désert les plus populaires sont des espèces des genres *Terfezia* et *Tirmania* ayant plusieurs propriétés thérapeutiques telles que des propriétés anti-inflammatoires, antihistaminiques, hypocholestérolémiantes, antidiabétiques. [22, 94, 99]

Les extraits de *Terfezia claveryi* ont montré une importante activité antibactérienne contre une large gamme de bactéries testées, y compris, celles qui causent le trachome *Chlamydia Trachomatis*. [12]

Les extraits aqueux de *T. claveryi* ont une activité antimicrobienne contre *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*.

Aussi ont démontré que les extraits acétoniques des truffes du désert ont également des propriétés antimicrobiennes contre : *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella enteritidis*, et *Candida albicans*. [100-102]

Les extraits des truffes du désert n'ont aucun effet antibactérien sur certaines bactéries lactiques à effet probiotique. [103]

Outre leur activité antimicrobienne, les truffes du désert contiennent des antioxydants, ces derniers protègent le corps humain des dommages du stress oxydatif induit par la formation des radicaux libres, des propriétés hépatoprotectrices, anticancéreuses, aphrodisiaques, neurotrophiques, antitumorales et immunostimulantes, Renferment également des composés antimutagènes. [2,78,77,98,104-106]

### **I.12. Activité antimicrobienne de truffes de Sahara :**

Des tests in vitro analogues de l'activité biologique de différents extraits issus de gleba de *Terfezia boudiri* et *Titmania pingi* ont été effectués par Chellal et Lukasova (1995) sur six espèces bactériennes et une levure (tableau I.8). Les résultats ont montré que l'extrait méthanolique à 45 °C de *T. pingi* (zone d'inhibition 11mm) est moins bactériostatique que celui de *T. boudiri* (zone d'inhibition 20 mm). Selon ces mêmes auteurs, la substance bioactive isolée de cet extrait a une structure proche de celle de la pristinamycine, antibiotique

de la famille des streptogramines (synergistines). Cet antibiotique est généralement indiqué dans le cas des sinusites maxillaires aiguës, des exacerbations de bronchite chronique, des infections cutanées et ostéo-articulaires.

**Tableau I.8** : Diamètres des zones d'inhibitions (mm) des différents extraits bruts de *T. boudieri* et *T. pinoyi* testés sur des espèces bactériennes [156]

Souches bactériennes	Zones d'inhibition (mm)							
	Extrait méthanolique de <i>T. boudieri</i>			Extrait méthanolique de <i>T. pinoyi</i>			Extrait de l'acétate d'éthyle de <i>T. boudieri</i>	Extrait à l'acétate d'éthyle de <i>T. pinoyi</i>
<i>Bacillus subtilis</i> H17	0	24	10	0	10	0	15	1
<i>Bacillus subtilis</i> M45	0	22	11	0	10	0	13	12
<i>Staphylococcus aureus</i>	19	20	0	0	11	11	13	11
<i>Staphylococcus aureus</i>	18	20	0	0	0	0	0	0
Non pathogène								
<i>Staphylococcus pyogènes</i>	0	19	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Kluyveromyces fragilis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0

L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de *Terfezia claveryi* a été également étudiée par d'autres chercheurs (Aldebasi et al, 2013) qui l'ont testé in vitro sur sept espèces bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Piroeus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*). Toutes les souches bactériennes testées sont sensibles à l'extrait aqueux de *T. claveryi* en particulier *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* à la concentration de 100 mg / mL, comparativement à la norme d'antibiotique : ciprofloxacine 5 mg / disque (témoin) (tableau I.9).

**Tableau I.9:** Concentrations minimal d'inhibitrice et bactéricide de l'extrait aqueux de *T. claveryi* [157].

Souches bactériennes testés	Diamètre des zone d'inhibition (mm)	
	T.claveryi (100mg/ml)	Ciprofloxacine(5mg/disque)
<i>Staphylococcus aureus</i>	19.00±1.00	27.33±0.57
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	18.00±1.00	29.00±1.00
<i>Staphylococcus faecalis</i>	17.00±1.00	28.66±1.52
<i>Escherichia coli</i>	15.33±0.57	30.33±1.52
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	20.33±1.00	26.00±1.52
<i>Proteus vulgaris</i>	15.33±0.57	27.66±0.57
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	14.66±0.57	28.33±1.52

### I.13. Activité antioxydante de truffes de Sahara :

Quant aux études sur l'activité antioxydante des truffes de Sahara, elles sont peu nombreuses. Al-Laith (2010), a étudié l'activité antioxydante des extraits méthanoliques à partir d'ascomes de *Tirmania nivea* provenant de plusieurs pays (Bahreïn, Arabie Saoudite, Iran et Maroc) par la méthode au DPPH et en utilisant l'acide ascorbique (Vitamine C) comme témoin positif.

**Tableau I.10:** les valeurs d'IC<sub>50</sub> des différents extraits de *T. nivea* [2].

Origine	% d'inhibition	IC <sub>50</sub> (mg/ml)
Bahreïn	52.5	0.5
Iran	69.2	0.3
Maroc	24.5	1.1
Arabie saoudite	51.0	0.5

D'après les résultats qui figurent dans le tableau ci-dessus, le pourcentage d'inhibition du DPPH oscillait entre 24.5 et 69.2%. La plus forte activité antioxydante est obtenue avec les truffes d'origine iranienne avec une IC<sub>50</sub> égale à 0.3 mg/ml, tandis que les truffes marocaines possédaient la plus faible activité. Ces résultats ont montré que l'activité anti radicalaire dépendait de l'origine des truffes et des concentrations utilisées.

Des travaux analogues ont été effectués par Dogan et Aydin (2013) qui ont évalué l'activité antioxydante de *Terfezia boudieri* (Châtain) de Turquie. Les extraits méthanoliques obtenus

a l'aide du Soxhlet (à 60°C après 6 h) sont testés à différentes concentrations (0.5, 1, 2, 3, 4 et 5 mg/mL). Le BHT et BHA (antioxydants de synthèse couramment employés en industrie agroalimentaire) sont utilisés comme témoins positifs. Les résultats du test au DPPH révélant que l'activité anti radicalaire de l'extrait méthanolique de *T. boudieri* et celle des témoins BHA et le BHT augmentent parallèlement avec les concentrations. Le pourcentage d'inhibition de l'extrait de *T. boudieri* est de 55% (à 0.5 mg/mL) avec une  $IC_{50} = 0.58$  mg/mL ; avec BHA, il est de 60.60% et une  $IC_{50} = 0.43$  mg/mL et avec BHT de 53% ( $IC_{50} = 0.72$  mg/mL). L'extrait méthanolique de *T. boudieri* possède donc une capacité de piégeage du radical libre DPPH plus intéressante comparativement aux standards (BHA et BHT).

### **I.14. Utilisation thérapeutique :**

Les effets thérapeutiques des Terfez sont connus chez les musulmans depuis longtemps. Notre Prophète Mohamed a également évoqué l'importance thérapeutique des Terfez :

Il a été rapporté qu'Abou Hourayra (qu'Allah soit satisfait de lui) a déclaré: Le Messager d'Allah (paix et bénédictions d'Allah soient sur lui) a déclaré: "La datte est du paradis, et C'est un remède contre le poison, la truffe de manne, et son eau curative pour les yeux" sous le nom d'Avicenne, a recommandé l'utilisation des truffes du désert contre l'asthénie et les vomissements. Ib Sina, dans son ouvrage « Al-Qanun fi al tibb » a indiqué que l'extrait des truffes du désert nettoyait les yeux. Cet ouvrage reconnu par les sommités de la médecine de l'époque leur a permis de recommander l'utilisation de cet extrait pour traiter les maladies oculaires. [107-108]

Le peuple sahraoui utilisait les truffes du désert comme aliment et aussi comme préparation médicinale pour traiter les maladies chez l'homme et chez le bétail. Ils utilisaient une soupe à base de truffes du désert pour traiter les rhumes et les affections respiratoires ; ils appliquaient aussi des compresses de tranches cuites de truffes de désert directement sur les membres souffrants d'arthrite ou du rhumatisme. Les nomades de la péninsule arabe utilisaient également l'extrait des truffes du désert pour traiter les affections oculaires, notamment la conjonctivite et le trachome, qui sont des maladies communes dans le désert du Sahara. Ces nomades préparaient des collyres en faisant bouillir des truffes du désert dans l'eau pendant 30 min. [91]

## *Matériel et Méthodes*

## II.1. Matériel végétatif :

Notre étude s'est portée sur les truffes de Sahara *Terfezia claveryi* à l'état frais. Le champignon a été récolté en Février de *fidh batma* wilaya de *Djelfa*.

Les spécimens ont subi un pré lavage à l'eau simple pour éliminer le sable et les particules du sol, ensuite ont été séchées et coupées en petits morceaux et conservées au congélateur pour des analyses ultérieures. L'identification botanique est réalisée par M. Kouache.



**Figure II-1:** La truffe de Sahara marron

## II.2. Matériel biologique

L'activité antibactérienne de l'extrait de *truffe marron* a été évaluée sur cinq souches de référence obtenues de l'American Type Culture Collection (ATCC), fournies par le laboratoire d'analyse médicale Dr. Bendali.

<i>Staphylococcus aureus</i>	}	Gram+
<i>Echirichia coli</i>	}	Gram-
<i>Klesiella pneumoniae</i>		
<i>Pseudomonas aerogenosa</i>		
<i>Condida albicans</i>	}	levure

### II.3. Milieux de culture :

- Gélose Mueller-Hinton (G.M.H).
- Gélose Sabouraud

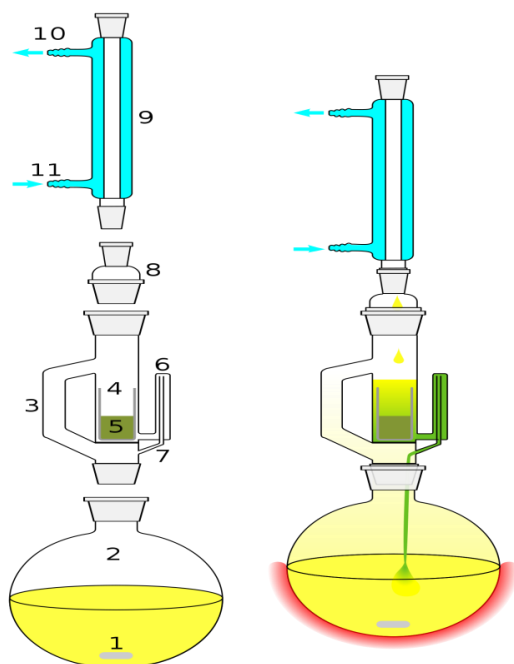
Ils sont utilisés pour l'évaluation de l'activité antibactérienne.

### II.4. Appareils et produits chimiques :

Les appareils et les produits chimiques utilisés dans la présente étude dont l'objectif est l'évaluation des activités antioxydante et antibactérienne et l'étude phytochimique de l'extrait de truffe sont reportés dans les annexes (*Annexe 02*).

### II.5. Extraction :

#### II.5.1 Extraction au Soxhlet :



1. Pierre ponce.
2. Ballon à col rodé.
3. Retour de distillation (tube d'adduction).
4. Corps en verre.
5. Cartouche.
6. Haut du siphon.
7. Sortie du siphon.
8. Adaptateur d'expansion.
9. Réfrigérant

Figure II.2: Montage d'extraction de type soxhlet



❖ **Principe :**

Un extracteur Soxhlet est un dispositif en verre utilisé en chimie qui permet d'effectuer une extraction en continu avec un solvant à partir d'une matrice solide (Fig. II-2).

L'échantillon, placé dans une cartouche poreuse à l'intérieur de l'extracteur, est traversé par les vapeurs de solvant. Celles-ci passent du ballon chauffé au tube adducteur puis se condensent dans le réfrigérant. Le condensat s'accumule dans le corps de l'extracteur jusqu'à atteindre le sommet du siphon, entraînant alors le retour du liquide dans le ballon. Au fil des cycles, le solvant s'enrichit en substances extraites jusqu'à épuisement de l'échantillon en substances d'intérêt. Par comparaison avec les macérations classiques, cette technique permet de réduire le temps d'extraction, d'une part, et requiert nettement moins de solvant et d'échantillon pour une efficacité d'extraction supérieure, d'autre part. L'extraction à chaud peut dégrader certaines substances chimiques. [109]

❖ **Mode opératoire :**

L'extraction au Soxhlet est une technique recommandée par divers auteurs [109-111]. La matière des ascomes de truffes est pesée puis introduite dans une cartouche confectionnée avec les compresses de gaz stérile et adaptée à la dimension de l'appareillage. Cette dernière est effectuée avec le chloroforme et l'eau distillée.

Au cours de l'extraction, 25g de la matière fraîche avec 250 ml de chloroforme et l'eau distillée pendant 6 heures, une coloration du solvant apparaît lorsque le solvant entre au contact avec la matière fraîche contenue dans la cartouche. L'extraction est arrêtée lorsque le liquide entourant la cartouche devient clair, cette couleur indiquant que le solvant n'extrait plus du solide. L'extrait de chloroforme a été concentré sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif, puis gardé au réfrigérateur 4 °C et à l'obscurité.

**II.5.1.2. Fractionnement de l'extrait aqueux :**

Dans une ampoule à décanter, l'extrait de l'eau distillé subit une extraction liquide-liquide par différents solvants de polarité croissante (éther de pétrole, hexane, acétate d'éthyle).

Après la décantation, les fractions obtenues sont filtrées et séchées à l'aide d'un évaporateur. [158]

rotatif. le protocole de fractionnement est résumé dans la figure II.03.



Figure II.3 : Extraction liquide-liquide dans une ampoule à décanter.

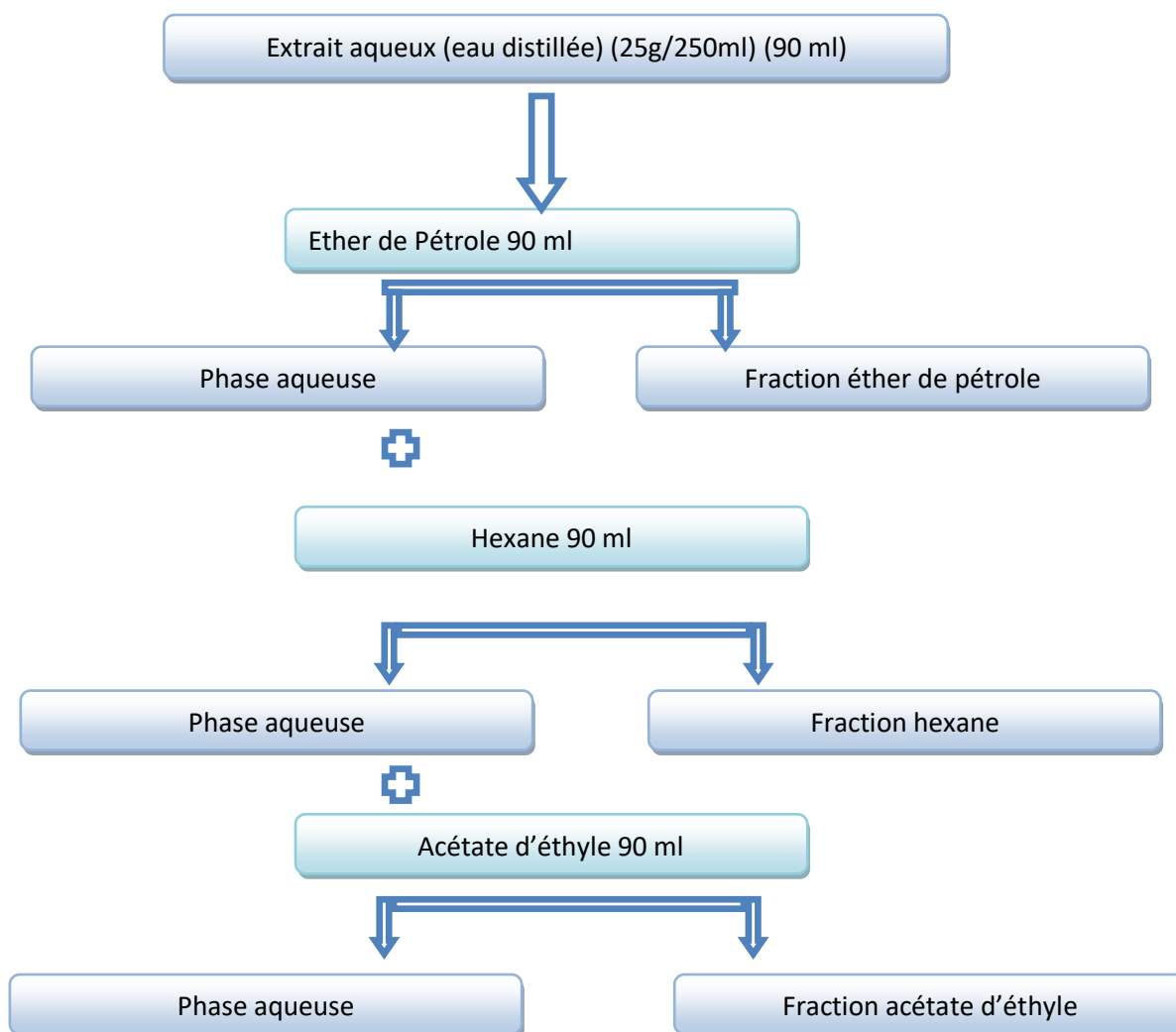


Figure II.4 : Protocole de fractionnement par extraction liquide-liquide ( soxhlet)

### II.5.1.3. Extraction par macération :

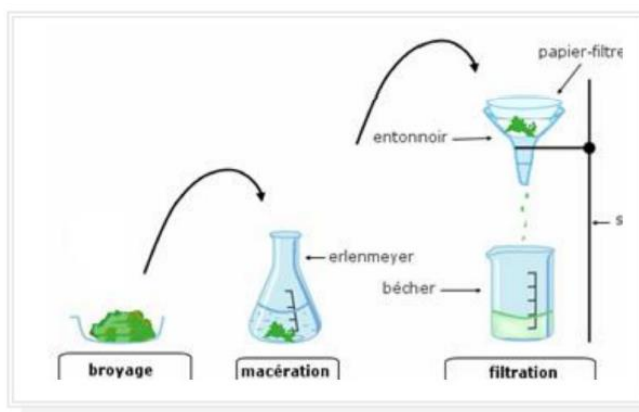
- **Extrait aqueux :**

Une macération à froid de 30 g de truffes frais broyée a été immergée dans 100 ml d'eau distillée (1 :2 p/v) [100]

Le mélange est agité manuellement sachant que la macération va durer 24h à l'abri de la lumière. Le lendemain le mélange sera homogénéisé et filtré avec du papier filtre (**Wattman N°6**). Ensuite il va être mesurer au moyenne d'une éprouvette. [5]

- **Extrait organique :**

Pour l'extrait organique le protocole reste le même que le précédant mais le solvant est remplacé par le chloroforme, L'extrait de chloroforme, sera concentré sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif, puis va conserver au réfrigérateur à 4 °C et à l'obscurité.



**Figure II.5 :** Principe de l'extraction par macération



**Figure II.6:** Extraction de T.claveryi par macération.

### II.5.1.4. Fractionnement de l'extrait aqueux :

Dans une ampoule à décanter, l'extrait de l'eau distillée subit une extraction liquide-liquide par différents solvants de polarité croissante (éther de pétrole, n-butanol, acétate d'éthyle).

Après la décantation, les fractions obtenues sont filtrées et séchées à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le protocole de fractionnement est résumé dans la figure II.4.

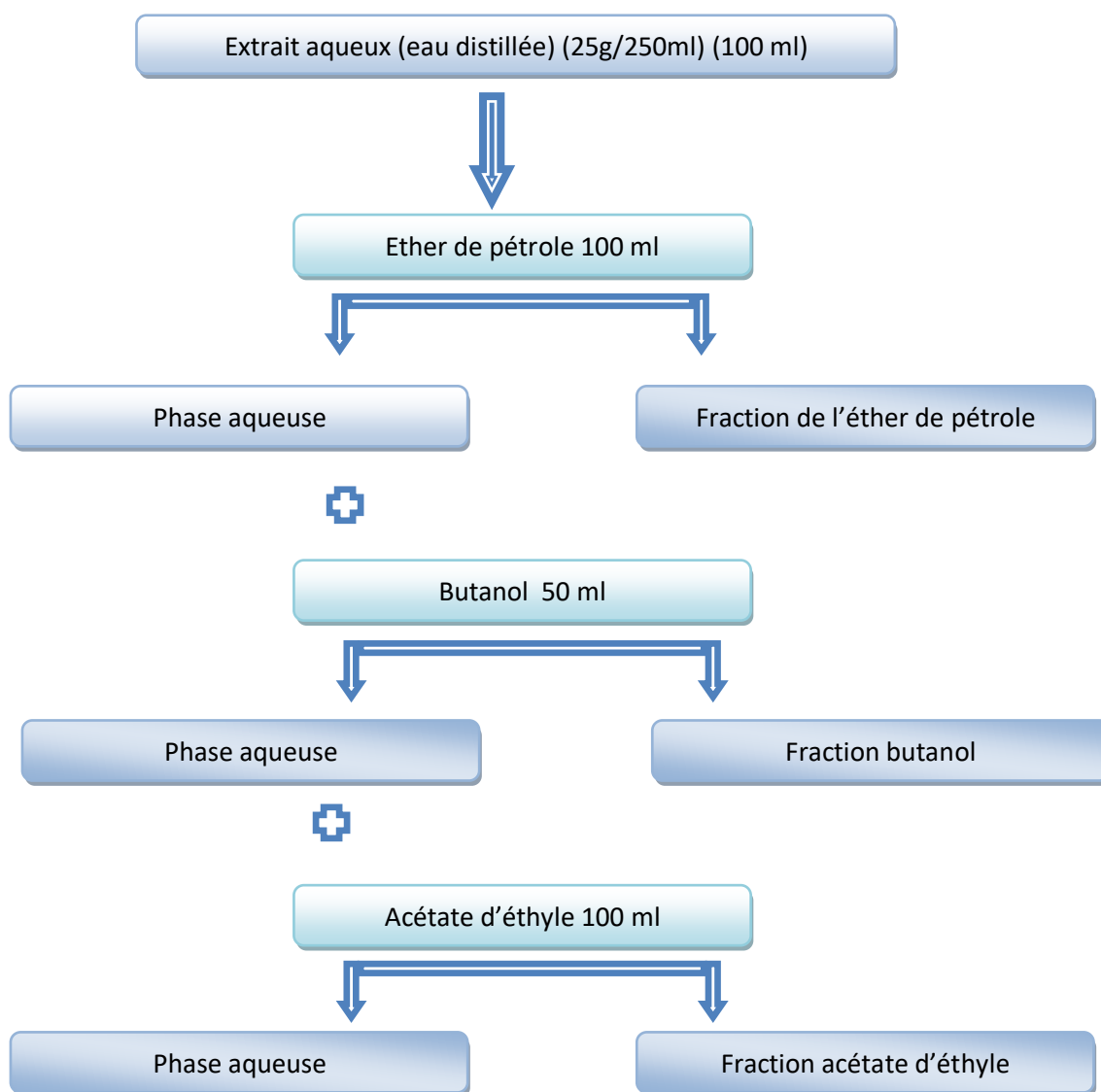


Figure II.7 : Protocole de fractionnement par extraction liquide-liquide (macération)

## **II.6. Criblage chimique des métabolites secondaires de truffes du désert :**

### **II.6.1. Mise en évidence des groupes de substances chimiques :**

La première étape d'un criblage chimique est la recherche des groupes de métabolites secondaires chez le terfez étudiée. Le criblage chimique consiste à réaliser une analyse chimique qualitative basée sur des réactions de coloration ou de précipitation plus ou moins spécifiques à chaque classe de principes actifs. Les groupes chimiques recherchés sont : les alcaloïdes, les composés phénoliques (flavonoïdes, anthocyanes, tanins,...), les saponosides, les coumarines.

Une infusion aqueuse est réalisée en versant 15 g de matériel fongique fraîche dans 100 ml d'eau distillée bouillante. Le mélange est ensuite filtré sur papier filtre (Wathman 0,16 mm) et ajuste le volume à 100 ml. [112]

#### **II.6.1.2 Mise en évidence des dérives anthracéniques :**

On réalise une ébullition au bain-marie de 5 g de matériel fongique avec 10 ml de chloroforme pendant 3 min, ensuite, on filtre à chaud et on complète à 10 ml.

A 1 ml du filtrat, on ajoute 1 ml d'ammoniaque  $\text{NH}_4\text{OH}$  à 9 M. La coloration plus ou moins rouge indique la présence d'anthraquinones libres. [112]

#### **II.6.1.3 Mise en évidence des anthocyanes :**

La mise en évidence d'anthocyanes repose sur l'apparition d'une coloration bleu-violacée en milieu alcalin et en rouge en milieu acide. On ajoute dans 5 ml de l'infusion du matériel fongique, quelques gouttes d'acide sulfurique ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) dilué (2N), puis 5 ml d'ammoniaque ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ). Si la coloration s'accroît par acidification puis vire au bleu-violacée en milieu basique, il y a présence d'anthocyanes. [112]

#### II.6.1.4 Mise en évidence des tanins :

On ajoute dans 5 ml de l'infusion du matériel fongique 2 à 3 gouttes de la solution de  $\text{FeCl}_3$  à 5%. La couleur vire au bleu noirâtre en présence de tanins.

La différenciation entre les tanins catéchiques et galliques se fait par le réactif de Stiasny (méthanol-acide chlorhydrique concentré 2 : 1 v/ v).

- **Tanins catéchiques :**

Nous avons ajouté 15 ml du réactif de Stiasny (10 ml du méthanol + 5 ml d'HCl concentré) à 30 mL d'infusion du matériel fongique. Le mélange obtenu est chauffé au bain-marie à 90°C pendant 15 min. L'apparition d'un précipité montre la présence des tanins catéchiques (**Bruneton, 2009**).

- **Tanins galliques :**

Pour révéler les tanins galliques, on filtre le mélange précédemment chauffé et on prélève 10 ml qui sont ensuite saturés avec de l'acétate de sodium. 1 ml d'une solution de  $\text{FeCl}_3$  à 1% est ajoutée à ce mélange. L'apparition d'une teinte bleu-noirâtre indique la présence de tanins galliques non précipités par le réactif de Stiasny. [112]

#### II.6.1.5 Mise en évidence des saponosides :

On mélange 5 g de matériel fongique avec 100 ml d'eau distillée puis on chauffe à l'ébullition pendant 30 min. Après refroidissement, on filtre et on ajuste à 100 ml. Dans une série de 10 tubes à essai, on verse dans le premier tube 10 ml. De décocté ensuite on prélève 1 ml de ce tube, on le met dans le 2<sup>ème</sup> tube et on ajuste le volume à 10 ml avec l'eau distillée. On répète cette opération jusqu'au le 10<sup>ème</sup> tube. Chaque tube est vigoureusement agité pendant 15 secondes. On laisse reposer 15 min et on mesure la hauteur de la mousse dans chaque tube. La formation d'une mousse plus ou moins importante indique la présence de saponosides. [112]

#### II.6.1.6. Dosage des polyphénols totaux :

Les douze extraits (200 µl) ont été mélangés à 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois et à 2 ml de H<sub>2</sub>O, et incubés à la température ambiante pendant 4 minutes. Après l'addition de 0,8 ml de bicarbonate de sodium de 7,5% au mélange, les polyphénols totaux étaient déterminés après 2 heures d'incubation à la température ambiante. L'absorbance de la couleur bleue en résultant a été mesurée au  $\lambda_{\text{max}} = 765$  nanomètres avec un spectrophotomètre de UV-VIS. La quantification a été faite en ce qui concerne la courbe standard de l'acide gallique. Les résultats ont été exprimés en milligrammes d'équivalents d'acide gallique (EAG) par 100g d'extrait. [159]

#### II.6.1.7. Dosage des flavonoïdes totaux :

Mettre 1ml de chaque extrait de truffes dans un tube à essai ; Ajouter 1 ml de solution éthanolique de chlorure d'aluminium à 2 % ; laisser incuber 15 min à température ambiante. Lire les absorbances à partir du spectrophotomètre UV-visible à 430 nm. On effectue la même opération pour la quercétine à différentes concentrations en introduisant 1ml de ces dernières dans une série de tubes et ajout de 1 ml d'AlCl<sub>3</sub> à 2%. Le blanc est représenté par l'éthanol additionné à l'AlCl<sub>3</sub> . Les concentrations des flavonoïdes contenus dans les extraits de dattes sont calculées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la quercétine comme standard, les résultats sont exprimés en mg équivalent en quercétine/ 100 g de MF. [160]

#### II.7. Activité antibactérienne : [113-115]

Nous avons effectué le teste de l'effet antimicrobien sur les souches de *Staphylococcus aureus*, *Klesiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aerogenosa*, et la souche fongique est un levure *Condida albicans* ceci afin de comparer leur activité par rapport à l'efficacité thérapeutique de l'extraits issus de *Terfezia claveryi*.

### **II.7.1. Inoculum :**

À partir d'une culture pure, 1 ou 2 colonies bien isolées et parfaitement identiques sont prélevées avec une anse de platine et émulsionnées dans un tube contenant 10 ml de l'eau physiologie puis bien homogénéisé.

L'ensemencement doit se faire dans les 15 mn qui suivent la préparation de l'inoculum.

### **II.7.2. Ensemencement :**

Les boîtes de pétries sont coulées à une épaisseur de 4 mm car une couche plus fine augmente la taille de la zone d'inhibition ce qui peut donner un résultat erroné.

Les boîtes sont ensuite introduites dans l'étuve à 37°C pendant 30 min avant l'ensemencement afin d'éliminer l'humidité.

Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne. L'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum. Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées. Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

### **II.7.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne :**

#### **II.7.2.1. Préparation des dilutions:**

Pour obtenir différentes concentrations de l'extrait du truffes marron, nous l'avons diluée dans le DMSO (diméthylsulfoxyde) pour obtenir les concentrations suivant : 100%, 50%, 25%, 12.5% et 6.25%



### **II.7.2.2. Méthode de diffusion sur gélose :**

#### **➤ Méthode des disques**

Des disques de papier buvard de 6 mm de diamètre sont stérilisés à l'autoclave puis imprégnés par d'extrait.ces derniers sont déposés à la surface de la gélose de Mueller-Hinton gélose Sabouraud pour le levure préalablementensemencées en surface avec la suspension bactérienne.

La sensibilité des souches testées est déterminée en mesurant avec précision les diamètres des zones d'inhibition dans les deux directions perpendiculaires autour des disques à l'aide d'une règle graduée sur le fond de la boîte. Plus le diamètre de cette zone est grand plus la souche est sensible.

### **II.7.2.3. La détermination des concentrations inhibitrices (CMI) :**

#### **❖ Principe :**

En bactériologie médicale, chaque souche microbienne est caractérisée en termes de résistance ou de sensibilité aux antibiotiques au moyen de trois valeurs : le diamètre d'inhibition, la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB). La CMI est définie comme la plus faible concentration inhibant toute croissance bactérienne visible à l'œil nu, après 24 h de contact à 37°C. Cette valeur caractérise l'effet bactériostatique d'un antibiotique. [116]

## **II.8. L'activité antioxydante**

### **II.8.1. Préparation de la dilution éthanoïque de DPPH\* :**

Solubiliser 2 mg de DPPH dans 100 ml d'éthanol et laisser à une température ambiante et à l'obscurité pendant 1h.

Le protocole employé dans cette méthode est celui de [117]

□ **Mode opératoire**

- ✓ Des concentrations de 12.5 - 100 µg /ml ont été préparées pour tous les extraits
- ✓ 1ml de DPPH a été ajouté au mélange
- ✓ Agitation vigoureuse
- ✓ Incubation dans l'obscurité pendant 30 min
- ✓ L'absorbance est lue au spectrophotomètre à 517 nm

Dans les mêmes conditions opératoires le contrôle et les blancs ont été préparés avec :

**Contrôle** : 1ml d'éthanol + 1ml de DPPH

**Les blancs** : 1ml d'éthanol + 1 ml d'extrait

Le pourcentage de réduction du radical DPPH est calculé selon la formule suivante :

$$\% \textit{scavenging de radical DPPH} = \frac{Ac - \mathbf{AE}}{Ac} \times 100$$

**Ac** : Absorbance du contrôle.

**AE** : Absorbance de l'échantillon (Absorbance du test « échantillon + DPPH » - Absorbance du blanc du test « échantillon + méthanol »).

## II.9. Analyse chromatographique :

### II.9.1. Analyse par Infra-Rouge à Transformée de Fourier (FTIR) :

❖ **Principe :**

L'infrarouge est un rayonnement électromagnétique ; il possède toutes les propriétés fondamentales de la lumière : propagation, réflexion, réfraction, interférences, diffraction, diffusion, polarisation, etc. Il est situé dans une région spectrale invisible à l'œil humain, entre

la lumière et les micro-ondes ; ses longueurs d'onde sont supérieures à celles des radiations rouges ( $\lambda \geq 0,72 \mu\text{m}$ ) et on peut leur fixer une limite supérieure qui est voisine de 0,1 cm. Le domaine de l'infrarouge est divisé en infrarouge proche ( $0,7 \mu\text{m} < \lambda < 3 \mu\text{m}$ ), en infrarouge moyen ( $3 \mu\text{m} < \lambda < 25 \mu\text{m}$ ) et en infrarouge lointain (au-delà de 25  $\mu\text{m}$ ). Cette division très arbitraire est liée au développement des types de détecteurs utilisables et à la nature des matériaux utilisés.

La spectroscopie infrarouge renseigne en général sur les fonctions chimiques présentes dans les molécules et permet également de différencier les isomères, par l'examen de la partie du spectre dite « des empreintes digitales » ou « fingerprint ». L'avènement de la spectroscopie Infra-Rouge à Transformée de Fourier (IRTF) autorisant une grande vitesse d'acquisition. Le spectre obtenu peut être comparé à ceux contenus dans une bibliothèque informatisée de spectres Infra-Rouge . [118]

#### ❖ Mode opératoire :

On prépare une pastille KBR on place des échantillons et on injecte notre échantillons sur la pastille consiste à moudre finement une quantité d'un sel KBR afin de supprimer l'effet de diffusion les grau cristaux cette poudre KBR comprimer dans un presse afin de fournir une pastille translucide au travers de la quelle un faisceaux de spectromètre peut passer . cette pastille kBR on l'ajoute sur lui une quantité de notre échantillons et on fait les analyses . L'analyse a été réalisée sur un appareil de type *FTIR 8400*.

#### II.9.2.Analyse par HPLC :

La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) est, de très loin, la technique la plus performante pour l'analyse des composés phénoliques que soit à des fins qualitatifs ou quantitatifs [119]. Depuis leur introduction en 1971, HPLC est utilisée pour la séparation de toutes les classes de composés phénoliques et des centaines d'applications ont été publiées. L'amélioration de l'instrumentation, les matériaux d'emballage, et technologie des colonnes sont toujours mises en place, ce qui rend la technique de plus en plus attrayante [120].

L'immense avantage de la HPLC par rapport à la chromatographie sur couches minces réside dans l'amélioration sensible des paramètres de seuil de détection et de résolution de séparation, ainsi que dans les possibilités d'automatisation du procédé. L'analyse est réalisée par un HPLC SHIMADZU au niveau du Laboratoire de SIDAL.

❖ **Principe :**

Les séparations sont basées sur les polarités respectives des phases stationnaires utilisées, du solvant d'élution et des composés phénoliques concernés. Le degré initial de purification de l'extrait végétal, les conditions chromatographiques elles-mêmes et le type de détection utilisé en sortie de la colonne orientent fréquemment une analyse HPLC vers une classe de composés phénoliques (acides phénoliques, flavonols, anthocyanes, coumarines...).

❖ **Mode opératoire :**

La séparation est faite par un HPLC SHIMADZU. 20 µl de chaque extrait ont été injectés sur une colonne de type phase inverse C18 ODS. La phase mobile est constituée de deux éluants : Méthanol et Eau (3.5:6.5 ; V/V). Le gradient d'élution appliqué est de type isocratique. Le débit est de 0.7 ml / min. [121]

Après programmation des paramètres d'acquisition, d'intégration et de calculs, un logiciel gère l'acquisition de chromatogrammes, détecte et intègre les pics, effectue des calculs et sort pour chaque chromatogramme un rapport d'analyse comprenant le numéro et le temps de rétention.

## *Résultats et discussion*

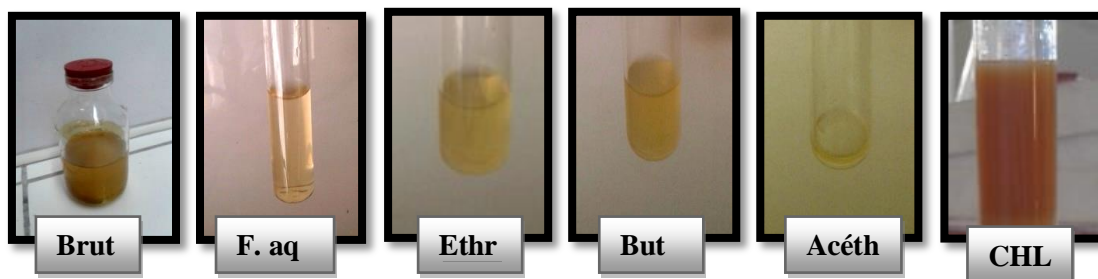
### III.1. Rendement d'extraction :

#### III.1.1. Extraction au Soxhlet :

Les résultats obtenus de cette étude sont présentés dans le tableau Tableau III.1 et par la figure III -1

**Tableau III.1 :** Rendement et l'aspect des l'extraits obtenus par un Soxhlet

Echantillon	Aspect	Rendement %	
		m. vegetal	brut
<i>chloroforme</i>	Visqueux	24.96%	//
<i>Eau distillée et ses fractions</i>			
<i>Eau distillée brute</i>	Liquid	200	
<i>Fraction aqueuse</i>	Liquid	//	//
<i>Ether de petrol</i>	Liquid	0.74	18.57
<i>Hexane</i>	Liquid	0.8	20
<i>Acetate d'ethyl</i>	Liquid	0.06	1.52



**Figure III.1:** les différents extraits de *Terfezia claveryi* obtenus par extraction au soxhlet.

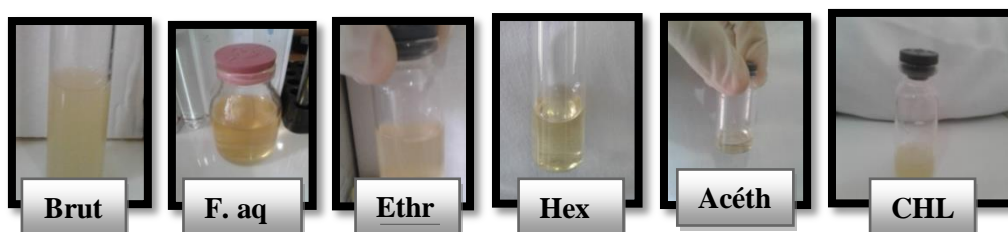
Les résultats obtenus à partir de l'extrait aqueux et ses fractions montrent que le meilleur rendement est obtenu avec la fraction hexanolique est de **0.8%** par rapport au poids de la matière végétale, et de **20%** par rapport au brut ; suivi par la fraction d'éther de pétrole avec des rendements respectivement de **0.74%** et **18.57%**, puis la fraction de l'acétate d'éthyle qui a entraîné des faibles rendements de **0.06%** et **1.52%**. Cependant celle obtenu par le chloroforme est de **24.96%** plus important par rapport à l'étude de [123].

### III.1.2. Extraction par macération :

Les tableaux III.1 et III.2 et la Figure III.2, résument les résultats de rendement des l'extraits obtenus par l'extraction réalisée à l'aide d'un Soxhlet et macération et ses fractions exprimées en pourcentage (%) ; par rapport au poids de *Terfezia claveryi* et brute.

**Tableau III.2 :** Rendement et aspect des l'extraits obtenus par macération

Echantillon	Aspect	Rendement %	
		m. végétal	brut
<i>chloroforme</i>	liquide	9.5 %	//
<i>Eau distillée et ses fractions</i>			
<i>Eau distillée brute</i>	liquide	166	
<i>Fraction aqueuse</i>	liquide	//	//
<i>Ether de petrol</i>	liquide	0.25	20.28
<i>n-butanol</i>	liquide	0.64	19.26
<i>Acetate d'etheyl</i>	liquide	0.11	9.17



**Figure III.2:** les différents extraits de *Terfezia claveryi* obtenus par macération.

Les résultats ont montré que le rendement de l'extrait de chloroforme est de **9.5%** qui est plus faible par rapport à l'étude de (Neggaz.S, 2016) réalisée par macération avec le méthanol qui est de l'ordre de **13.11 %**. Et Le rendement de l'extrait aqueux et ses fractions, la meilleur rendement est obtenu avec la fraction butanolique qu'est de **0.64%** par rapport au poids de *terfezia claveryi*, et **19.26%** par rapport au brut ; suivi par la fraction de l'ether de petrole avec un rendement de **0.25%** et **20.28%**. puis la fraction de l'acétate d'ethyl qui a entraîné de faible rendement de **0.11%** et **9.17%**.

Cette différence peut être liée à la nature du solvant, la méthode d'extraction utilisée, la nature du matériel végétal fraîche ou sèche sous forme de poudres, et l'origine géographique du champignon et les facteurs climatiques. [124]

### **III.2. Etude phytochimique :**

La mise en évidence des divers groupes de substances chimiques chez *T. claveryi*, est basée sur des tests de coloration et de précipitation en solution (tableau III.8). Et des dosages quantitatifs.

Les tests de précipitation comprend les tanins, tandis que les tests de coloration en solution mettent en évidence d'autres groupes de métabolites secondaires : les saponosides, les dérivés anthracéniques et les anthocyanes. Et un dosage quantitatif des polyphénols et des flavonoïdes a été réalisé (Tableau III.3) .

**Tableau III.3 :** Criblage chimique des métabolites secondaires de *Terfezia claveryi*

<b>Composés chimiques</b>	<b>Tests de précipitation ou coloration en présence des réactifs</b>	<b>Résultats</b>
<b>Tanins</b>	Formation d'un précipité confirmant la présence des tanins catéchiques	+
<b>dérives anthracéniques</b>	Une coloration rouge indique la présence d'anthraquinone libre	-
<b>anthocyanes</b>	Une coloration bleu-violacée en milieu alcalin donc présence d'anthocyanes	-
<b>saponoside</b>	Apparition d'une mousse qui persiste.	+

Les résultats, révèlent que les Tanins, les saponosides sont des groupes de substances chimiques abondantes chez *Terfezia claveryi*. Cependant les dérivés anthracéniques et les anthocyanes sont des groupes qui n'ont pas été mis en évidence. Il est probable que la teneur en ces métabolites secondaires est très faible, ce qui n'a pas permis d'atteindre le seuil de leur détection par les tests utilisés.

Nos résultats rejoignent ceux de certains auteurs qui ont signalé la présence des tanins chez *T. claveryi*. [8,125]



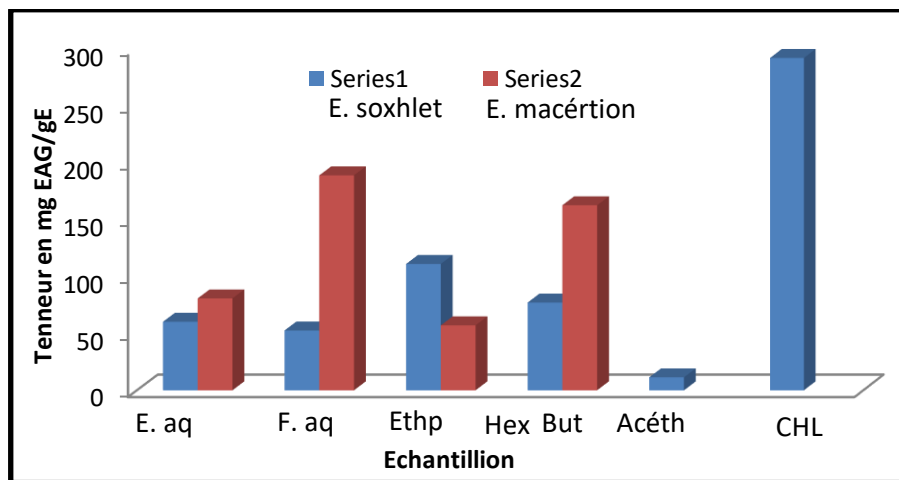
En effet, les dérivés anthracéniques, et les tanins possèdent un pouvoir antioxydant élevé. [126-128]

Les saponines se composent d'aglycones non polaires liés à un ou plusieurs sucres. Cette combinaison d'éléments structuraux polaires et non polaires explique leur comportement moussant en solution aqueuse. Comme définition, on dirait qu'une saponine est un glycoside de stéroïde ou de triterpène. [129]

### III.2.2. Teneur en polyphénols totaux :

La quantité des polyphénols correspondant aux extraits des truffes obtenus par les deux méthodes d'extraction a été rapportée en mg équivalent d'acide gallique par gramme d'échantillon qui est déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage d'acide gallique [130] ayant l'équation :

$Abs = 0,008 [AG] - 0,013$  ;  $R^2 = 0,992$ . Les résultats sont représentés dans la figure III.3



**Figure III.3:** Teneur en polyphénols totaux de l'extrait obtenus par soxhlet et macération.

Les résultats montrent que le contenu phénolique est clairement abondant dans l'extrait chloroformique utilisant le soxhlet et la fraction aqueuse obtenu par macération ont des teneurs de 291.63 et 188.63 **mg EAG/gE** respectivement. Tandis que la fraction de l'acétate d'éthyle (soxhlet) et l'extrait chloroformique (macération) révèlent une faible quantité de polyphénols avec une teneur de 11.38 et 46.87 **mg EAG/gE**.

Ces résultats peuvent être expliqués par [131]:

- La nature des solvants d'extraction utilisée et leur degré de pureté.
- L'efficacité d'une extraction est fortement influencée par la méthode d'extraction et le type de solvant utilisé.
- le bon choix du solvant est l'étape la plus décisive pour l'obtention des teneurs importantes en composés phénoliques à partir d'un échantillon donné.

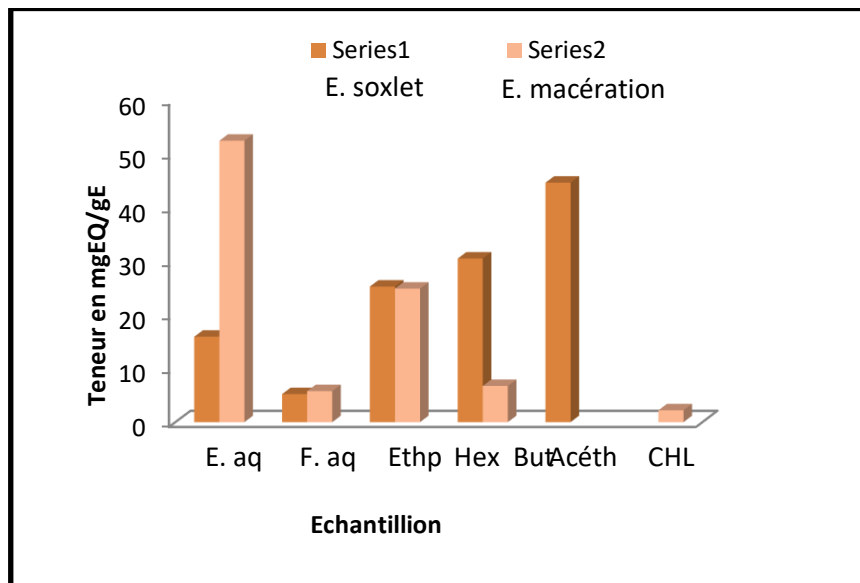
### III.2.3. Teneur en flavonoïdes totaux :

**Tableau III.4** : Les teneurs en polyphénols et flavonoïdes des extraits obtenus par soxhlet et par macération

Méthode d'extraction	E. aq	F. aq	Ethp	Hex / But	Acéth	CHL
Teneur de Polyphénols						
soxhlet	60.13	52.5	110.88	77	11.38	291.63
macération	80.63	188.63	57	162.38	//	46.87
Teneur de Flavonoïdes						
soxhlet	15.91	5.22	25.26	30.48	44.61	123.13
macération	52.43	5.78	24.87	6.74	//	2.21

La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée avec la quercétine, ayant l'équation :  $Abs = 0,023 [Q] + 0,005$  ;  $R^2=0,999$ . [130]

Les résultats du dosage des flavonoïdes sont représentés dans la figure III.5.



**Figure III.5:** Teneur en flavonoïdes de l'extrait Obtenus par soxhlet et macération.

On constate d'après les résultats obtenus, une nette différence de la teneur en flavonoïdes, en effet l'extrait de l'eau distillé brut obtenu par macération et l'extrait chloroformique acquis par soxhlet ont des quantités les plus élevées par rapport aux autres échantillons avec des teneurs de 52.43 et 123.13 mg EQ/gE.

Les quantités les plus faibles représentées par l'extrait chloroformique (soxhlet) et de la fraction aqueuse obtenu par macération de l'ordre de 2.21 et 5.22 mg EQ/gE.

Ces teneurs sont très faibles par rapport aux teneurs en polyphénols totaux.

Nos résultats sont confirmées par [132] qui ont dit mentionné que cette espèce de truffes est riche en flavonoïdes et en composés phénoliques.

### III.3. Activité antibactérienne :

L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de *terfezia claveryi* a été réalisée par la méthode de diffusion sur disque, en se référant à l'échelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne de [133](**Tableau III.5**).

**Tableau III.5:** L'échelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne.

Activité antimicrobienne	Degré de sensibilité	Le diamètre de la zone d'inhibition
<b>Extrêmement sensible</b>	+++	<b>Plus de 20mm</b>
<b>Très sensible</b>	++	<b>15mm à 19mm</b>
<b>Sensible</b>	+	<b>8 mm à 14mm</b>
<b>Non sensible</b>	-	<b>Moins de 8 mm</b>

Les résultats obtenus sont récapitulées dans le tableau III.6 et III.7

**Tableau III.6 :** Diamètres des zones d'inhibitions en (mm) de souches testées des extraits obtenus à l'aide d'un soxhlet.

Echantillon	Concentration mg/ml	Souches testées				
		St	Ec	Kp	Ps	Ca
<b>CHL</b>	100	21	0	0	20	8
	50	16	0	0	17	0
	25	14	0	0	0	0
	12.5	11	0	0	0	0
	6.25	0	0	0	0	0
<b>E .distillée brut</b>	100	12	11	0	8	9
	50	10	0	0	7	8
	25	0	0	0	0	0
	12.5	0	0	0	0	0
	6.25	0	0	0	0	0
<b>F.aq</b>	100	9	12	10	13	0
	50	0	0	8	7	0
	25	0	0	0	0	0
	12.5	0	0	0	0	0
	6.25	0	0	0	0	0
<b>Ethp</b>	100	20	0	0	10	10
	50	0	0	0	9	8
	25	0	0	0	8	0
	12.5	0	0	0	0	0
	6.25	0	0	0	0	0
<b>Hex</b>	100	10	0	0	0	13
	50	0	0	0	0	12
	25	0	0	0	0	0
	12.5	0	0	0	0	0
	6.25	0	0	0	0	0
<b>Acéth</b>	100	9	9	9	11	16
	50	9	9	0	10	11
	25	8	0	0	10	10
	12.5	0	0	0	10	0
	6.25	0	0	0	0	0

**Tableau III.7 :** Diamètres des zones d'inhibitions en (mm) obtenus avec les souches testés pour les extraits obtenus par macération.

Echantillon	Concentration mg/ml	Souches testées				
		St	Ec	Kp	Ps	Ca
<b>CHL</b>	100	20	10	9	9	8
	50	9	9	0	8	0
	25	0	8	0	8	0
	12.5	0	0	0	7	0
	6.25	//	//	//	//	0
<b>E.distillée brut</b>	100	0	0	12	0	11
	50	0	0	0	0	9
	25	0	0	0	0	0
	12.5	0	0	0	0	0
	6.25	0	0	0	0	0
<b>Faq</b>	100	10	8	0	0	21
	50	8	0	0	0	17
	25	7	0	0	0	15
	12.5	0	0	0	0	0
	6.25	0	0	0	0	0
<b>Ethp</b>	100	8	0	0	0	13
	50	0	0	0	0	9
	25	0	0	0	0	9
	12.5	0	0	0	0	8
	6.25	0	0	0	0	0
<b>n-But</b>	100	9	11	10	12	13
	50	0	10	0	0	11
	25	0	0	0	0	10
	12.5	0	0	0	0	9
	6.25	0	0	0	0	0
<b>Acéth</b>	100	16	8	8	10	16
	50	13	8	7	9	13
	25	12	0	7	0	10
	12.5	0	0	0	0	10
	6.25	0	0	0	0	0

Les résultats de la présente étude indique que la *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aerogenosa* sont extrêmement sensible à l'extrait chloroformique obtenu par soxhlet par rapport les autres extraits avec une zone d'inhibition égal 21 et 20 mm et pour *Echirichia coli* est sensible à la fraction aqueuse avec une zone de 12 mm.

Tandis que, les échantillons obtenus par macération : l'extrait aqueux montrés une activité sensible sur *Klesiella pneumoniae* avec une zone de 12 mm et la fraction aqueuse est extrêmement sensible activité *Condida albicans* par zone égal 21.

Nous expliquons ces résultats par la différence dans la structure de la paroi bactérienne qui joue un rôle important dans la susceptibilité des bactéries [134-135]. bactéries Gram négatives possèdent une membrane externe constituée principalement de lipopolysaccharides (LPS) et des protéines majoritaires appelées porines [139-138]. Cette membrane est imperméable à la plupart des molécules. Cependant, l'inhibition de la croissance de ces bactéries a été rapportée, particulièrement en combinaison avec les facteurs qui peuvent influencer l'intégrité de la cellule et/ou la perméabilité de la membrane, telle que les basses valeurs du pH et les concentrations accrues en NaCl [139] De plus, [134] la membrane est associée à des enzymes dans l'espace périplasmique qui sont capable de détruire les molécules intruses. En effet les extrémités lipophiles des acides lipoteichoiques de la paroi des bactéries Gram positives facilitent la pénétration des composés hydrophobes [140], tels que les tannins qui peuvent atteindre la membrane cytoplasmique, et perturbent la force motrice de protons, le transport actif et la coagulation du contenu cellulaire. [135]

les antifangique empêchent la multiplication, la sporulation et la synthèse des toxines des bactéries. elles agissent sur la biomasse et la production du pseudo mycélium.[141]. Leur action est due à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique suivie d'une rupture de celle-ci entraînant une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort de la levure. [142]. Leur efficacité dépend de sa richesse en composés phytochimique, plus est riche en substances actives, plus son activité est importante [143]

L'effet inhibiteur des composés phénolique sur la croissance des bactéries peut être expliqué par plusieurs raisons. Parmi les l'hypothèse avancés, on peut citer la chélation des métaux tel que le fer qui est nécessaire a la croissance microbienne, l'action sur les membranes des micro-organismes conduisant a la perte de son intégrité structurale [144], l'effet endommageant de la bicouche lipidique [145], et enfin, l'action sur les métabolisme bactériens [146]. Et leur action sur les champignons est fondé principalement sur l'inhibition des enzymes fongiques contenant le groupement SH dans leur site actif [147]

**III.3.2. Détermination de la CMI:**

Les tableaux III.8 et III.9 résume les concentrations minimales inhibitrices. D’après ces résultats, on constate que l’extrait chloroformique de soxhlet possèdent une activité antibactérienne importante par rapport aux autres, vis-à-vis du *Staphylococcus aureus*, et la fraction de l’acétate d’éthyle de macération vis-à-vis du *Pseudomonas aerogenosa*, *Condida albicans* avec une concentration minimale inhibitrice qui est de 12.5 mg/ml. Et les fractions éther de pétrole, butanolique et acétate d’éthyle obtenus par macération ont une concentration de 12.5 mg/ml vis-à-vis du *Condida albicans*.

Cette activité est due à la quantité élevée en polyphénols dans les échantillons obtenus par *T.claveryi*.

**Tableau III.7 :** Les différentes concentrations minimales inhibitrices (CMI) en (mg/ml) obtenus par extraction au soxhlet.

	<b>S.A</b>	<b>E.C</b>	<b>K.P</b>	<b>P.A</b>	<b>C.A</b>
<b>CHL</b>	12.5	//	//	50	100
<b>E.D brut</b>	50	100	//	50	50
<b>Faq</b>	100	100	//	50	//
<b>Ethp</b>	100	//	//	25	50
<b>Hex</b>	100	//	//	//	//
<b>Acéth</b>	//	50	50	12.5	12.5

**Tableau III.8 :** Les différentes concentrations minimales inhibitrices (CMI) en(mg/ml) obtenus par extraction de macération.

	<b>S.A</b>	<b>E.C</b>	<b>K.P</b>	<b>P.A</b>	<b>C.A</b>
<b>CHL</b>	50	25	100	25	100
<b>E.D brut</b>	//	//	//	//	50
<b>Faq</b>	100	//	//	//	25
<b>Ethp</b>	//	//	//	//	12.5
<b>n-But</b>	100	50	100	100	12.5
<b>Acéth</b>	//	50	25	50	12.5

### III.4. Evaluation de l'activité antioxydante :

#### III.4.1. Activité Scavenger du radical DPPH :

L'évaluation de l'activité antioxydante des l'extraits de *terfezia claveryi* sont faite comparativement à l'acide ascorbique [148]. Les pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations des échantillons sont illustrés dans la figure III.7.

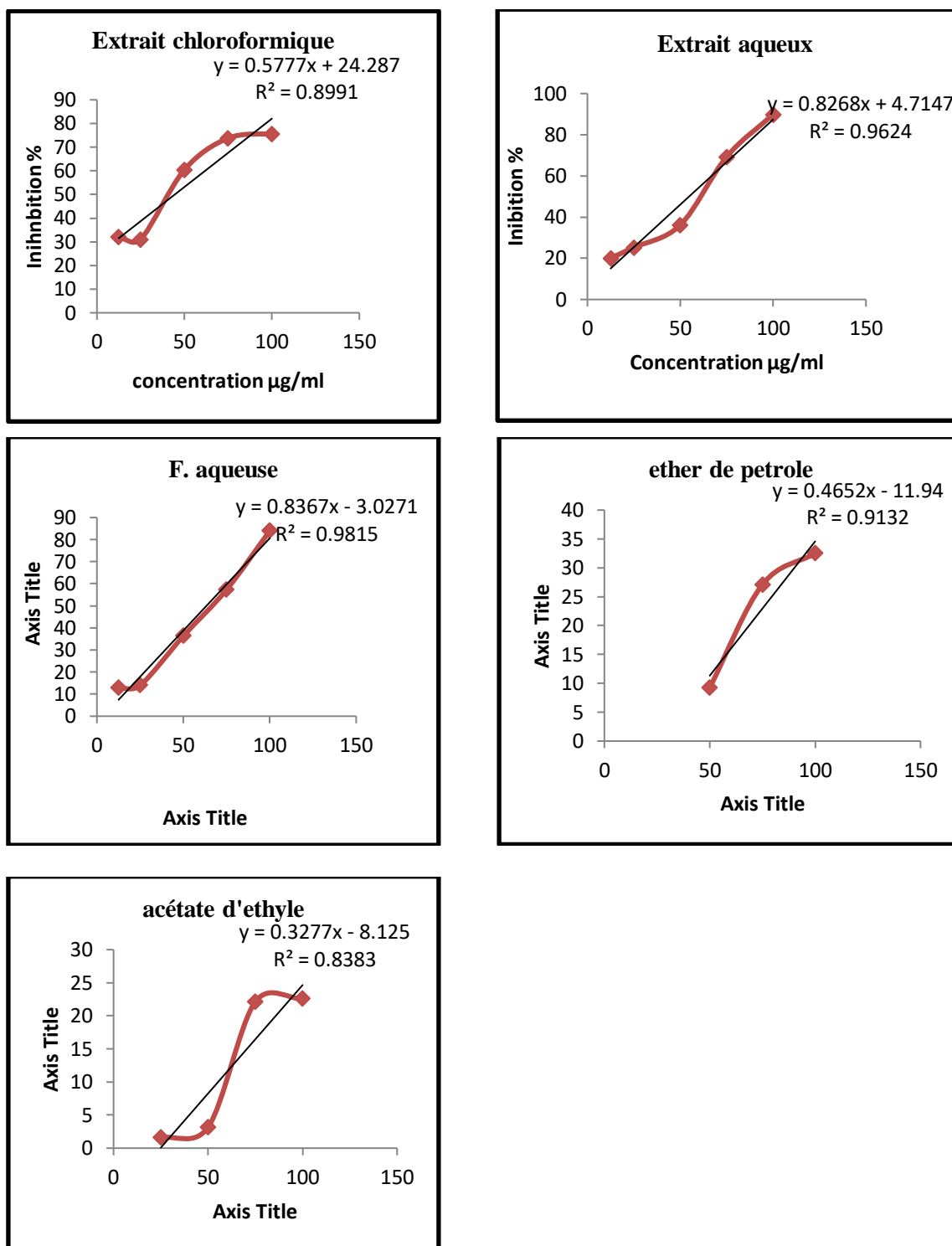
**Tableau III.9.A:** Les pourcentages d'inhibition et l'IC<sub>50</sub> des extraits obtenus

Extrait	Pourcentage d'inhibition %	IC <sub>50</sub> µg/ml
Les extraits obtenus par extraction au Soxhlet		
<b>Chloroforme</b>	75.62	44.57
<b>Extrait aqueux (brut)</b>	89.84	85.50
<b>Fraction aqueux</b>	83.97	95.80
<b>Ether de pétrole</b>	32.51	71.67
<b>Butanol</b>	63.43	51.48
<b>Acétate d'éthyle</b>	22.57	//

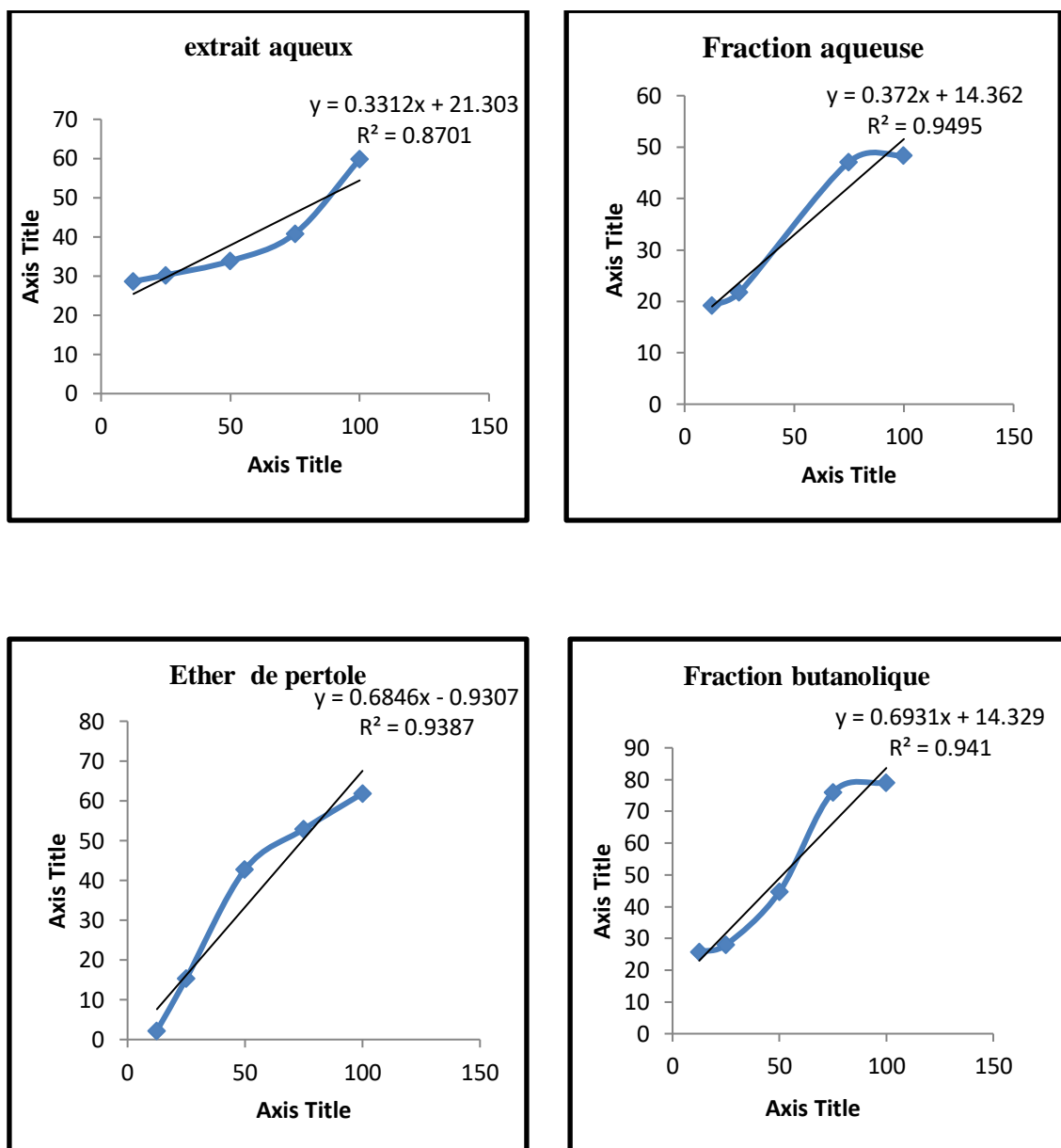
**Tableau III.9.B:** Les pourcentages d'inhibition et l'IC<sub>50</sub> des extraits obtenus.

Extrait	Pourcentage d'inhibition %	IC <sub>50</sub> µg/ml
Les extraits obtenus par extraction de macération		
<b>Chloroforme</b>	//	//
<b>Extrait aqueux (brut)</b>	59.82	//
<b>Fraction aqueux</b>	48,36	63.37
<b>Ether de pétrole</b>	61.85	133.15
<b>Hexane</b>	79.09	40.79
<b>Acétate d'éthyle</b>	94.36	177.37





**Figure III.6:** Pourcentage d’inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration des échantillons obtenus par soxhlet.



**Figure III.7:** Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration des Échantillons obtenus par macération.

L'ensemble des résultats du test au DPPH révèle que l'activité antiradicalaire augmente avec des concentrations croissantes des différents extraits (12.5 - 100 mg/mL). Ce résultat est adéquat par les travaux d'Al- Laith (2010).

D'après nos résultats, l'extrait chloroformique, la fraction butanolique obtenu par macération et la fraction hexanolique obtenu à l'aide d'un Soxhlet possèdent le potentiel antiradicalaire le plus puissant par rapport aux autres extraits avec des pourcentages d'inhibition de 75,62% ; 79,09% et 63,43% et des valeurs d' $IC_{50} = 44,57 ; 51,84 ; 40,79$

**µg/ml.** Tandis que l'IC<sub>50</sub> de vitamine C est de 19.73 **µg /ml.** ce qui indique que la vitamine C est la plus efficace.

Les valeurs d'IC<sub>50</sub> sont inversement liées à la capacité antioxydante d'un extrait plus IC<sub>50</sub> est faible plus l'activité antioxydante d'un extrait est élevée.

D'après les résultats des différents travaux, l'origine géographique des truffes du désert semble influencer leur activité antioxydante. En effet, selon Al-Lait ( 2010), l'activité antioxydante des truffes du désert varie avec leur répartition géographique et aussi avec leur plante hôte naturelle (*Helianthemum* spp). La fraction de l'acétate d'éthyle obtenus par macération n'a montré aucune activité antiradicalaire aux concentrations testées bien que Kivrak (2015) a montré que l'extrait à l'acétate d'éthyle de *T. claveryi* et *T. olbiensis* possédait une importante capacité de piégeage par rapport aux autres extraits (hexane, méthanol et eau).

### III.5. Analyses spectroscopique:

#### III.5.1. Analyses par IR :

##### III.5.1.1. Les échantillons obtenus par soxhlet :

**Tableau III.1 :** Interprétation du Spectre de l'extrait chloroformique :

Langueur d'onde	La fonction	Type de fonction
3410.26	OH	( OH de l'eau )
2360.95	C=O	
2075.47	N=C=S	Isothiocynete
1635.69	C=C	Alken
1411.94	S=O / OH	Sulfate / Alcool
1242.20	???	???
1033.88 [1070-1030]	S=O	Sulfoxide
532.37		

**Tableau III.2 :** Interprétation du Spectre de l'extrait aqueux :

Langueur d'onde	La fonction	Type de fonction
3433.41	O-H	OH de l'eau distillé
2361	??	??
2068	N=C=S	
1635	C=C	
1373	O-H	
1242	C-O	
532.37		

**Tableau III.3 :** Interprétation du Spectre de F. aqueuse :

Langueur d'onde	La fonction	Type de fonction
3433	O-H	
2337.80	??	
2075.47	N=C=S	
1635.69	C=C	
1381.08	C-H	
1249.91	C-O	
1049.31	S=O	
540.09	C-I	

**Tableau III.4 :** Interprétation du Spectre de F. éther de pétrole :

Langueur d'onde	La fonction	Type de fonction
3402	O-H	
2337	??	??
2067.76	N=C=S	
1635.69	C=C	
1473.66	??	??
1385	C-H	
1242	C-O	
1049	S=O	
532.54		
501.51		

**Tableau III.5 :** Interprétation du Spectre de F. hexane :

Langueur d'onde	La fonction	Type de fonction
3441.12	O-H	
2377.80	??	
2067.80	N=C=S	
1635.69	C=C	
1404.22	S=O	
1257.63	C-O	
1041.60	S=O	

**Tableau III.6 :** Interprétation du Spectre de F. acétate d'éthyle :

Langueur d'onde	La fonction	Type de fonction
3416	O-H	
1335	??	
2068	C-H	
1635.80	C=C	
1351	O-H	
1242	C-O	
1049	C-O	
502	C-I	

### III.5.1.1. Les échantillons obtenus par macération :

**Tableau III.7 :** Interprétation de Spectre de extrait chloroformique:

Langueur d'onde	La fonction	Type de fonction
3433.41	O-H	
2924.18	C-H	
2662.46	C-H	
2360.95	C=O	
2067	N=C=S	
1635.69	C=C	
1458.23	???	
1373.36	O-H	
1257.63	C-O	
1219.05	C-O	
1018.45	???	
555.52	????	

**Tableau III.8 :** Interprétation de Spectre de l'extrait aqueux :

Langueur d'onde	La fonction	Type de fonction
3456	O-H	
2337	???	
2075.47	N=C=S	
1635.69	C=C	
1404.22	S=O	
1257.63	C-O	
1049.31	S=O	
540.09	????	

**Tableau III.9 :** Interprétation de Spectre de F. aqueuse :

Langueur d'onde	La fonction	Type de fonction
3433.41	O-H	
2337.80	???	
2067.76	N=C=S	
1635.69	C=C	
1351.08	C-H	
1242.20	C-O	
1049.31	S=O	
540.09	C-I	

**Tableau III.10 :** Interprétation de Spectre de F. ether de petrole:

Langueur d'onde	La fonction	Type de fonction
3410	O-H	
2978		
2337.80		
2067.76	N=C=S	
1635.69	C=C	
1465.95		
1381.08	C-H	
1242.20	C-O	
1057		
524.66		

**Tableau III.11 :** Interprétation de Spectre de F. butanol :

Langueur d'onde	La fonction	Type de fonction
3981		
3395	O-H	
2940	N-H	
2877.89	N-H	
2353	???	
2075	N=C=S	
2044	N=C=S	
1643	C=C	
1458	???	
1381	O-H	
1211	C-O	
1042	CO-O-CO	
957	C=C	
648	C-I	
509	C-I	

**Tableau III.12 :** Interprétation de Spectre de F. acétate d'éthyle :

Langueur d'onde	La fonction	Type de fonction
3410	O-H	
2978		
2337.80		
2007.76	N=C=S	
1635.69	C=C	
1465.95		
1381.08	C-H	
1224.20	C-O	
1057		
524.60		

**III.5.2. Analyses par HPLC :**

## *Conclusion*



## Conclusion :

Cette étude avait pour objectif de mettre en évidence la meilleure méthode d'extraction des substances bioactives dans les truffes du sahara d'Algérie *T. claveryi*. d'évaluer les activités antimicrobiennes et antioxydantes de différents extraits obtenus et d'effectuer le criblage chimique des substances bioactives contenues dans ces champignons.

La teneur en polyphénols totaux en adoptant la méthode de Folin-Ciocalteu révèle que les extraits *Terfezia claveryi* obtenus par extraction au soxhlet contiennent : 60.13, 52.5, 110.88, 77, 11.38 **mg EAG/gE**, respectivement. Cependant l'extrait chloroformique contient une teneur de 291.63 **mg EAG/g E**

Et les extraits obtenus avec extraction par macération contiennent : 80,63 ; 188,63 ; 57 ; 162,38 et 46,875 **mg EAG/g E**, respectivement. Tandis que l'extrait chloroformique contient une teneur de 46,875 **mg EAG/g E**

La teneur en flavonoïdes de les extraits *Terfezia claveryi* obtenus par extraction au soxhlet contiennent : 15.91, 5.22, 25.26, 30.48, 44.61, **mg EAG/g d'extrait**, respectivement. Et extrait chloroformique contient 123.13 **mg EAG/g E**

Et les extraits obtenus avec extraction par macération contiennent : 52.43, 5.78, 24.87, 6.74, 2.21 **mg EAG/g d'extrait**, respectivement. et pour extrait chloroformique 52.43 **mg EAG/g E**

En effet, le criblage chimique effectuée sur ce espèce de truffes du sahara permis d'identifier les saponosides, les tanins catéchiques et aussi les flavonoïdes . Tandis que les anthocyanes et les dérivés anthracéniques qui les n'ont pas été détectés .

L'activité antibactérienne des extraits de *Terfezia claveryi* a été évaluée sur quatre souches bactériennes sont : *Staphylococcus aureus*, *Echirichia coli*, *Klesiella pneumoniae*, *Pseudomonas aerogenosa* et une souche de levure *Condida albicans*. par la méthode de diffusion sur disque solide. Les résultats montrent que l'extrait de chloroforme obtenu par extraction au soxhlet n'a aucune activité sur quatre souches sauf la souche de leueur, contrairement aux autres échantillons, dont les CMI se situent entre 12,5 à 100 mg/ml.

Par ailleurs, évaluation de poivre antioxydant par Scavenger du radical DPPH révèle que tous les extraits manifestent une activité antioxydante en particulier l'extrait hexanolique ( $IC_{50} = 40,79 \mu\text{g/mL}$ ). Cependant, les extrait chloroformique, l'acétate d'éthyle et extrait aqueux obtenu par Soxhlet n'ont montre aucune activité. Cependant, ce potentiel antiradicalaire

augmente en fonction de la concentration de ces extraits et semble dépendre significativement de la méthode d'extraction, la nature du solvant et de la concentration de l'extrait.

En perspective,

- Evaluer la cytotoxicité des extraits de terfez sur différentes lignées cellulaires in vitro et sur des modèles utilisant les animaux afin de déterminer les doses thérapeutiques et les doses létales.
- rechercher d'autres activités biologiques (antivirale, antidiabétique).

# *Annexe*

## Annexe 01 : quelques définitions

-**Mycélium** : C'est un ensemble des filaments, appelés hyphes, constituant un premier niveau d'organisation. Le mycélium organise pour constituer des structures plus complexes élaborées par la truffe soit Ascocarpe soit mycorhize et Stroma (**Callot., 1999; Ricard., 2003**).

- **Stroma** : Les filaments mycéliens peuvent s'agglomérer en pelotes denses qualifiés de stroma. Ces stromas sont des "faux tissus", formés par la soudure des filaments, sont constitués d'hyphes agrégées. Ils sont en contact direct avec les cellules de l'écorce de la racine, ou les souvent retrouver dans le sol des truffes (**Callot., 1999 ; Ricard., 2003**).

- **Mycorhizes** : C'est un organe mixte formé par l'association entre la racine de plante hôte et un champignon du sol, favorisa l'absorption des éléments minéraux par les racines et améliora ainsi la nutrition de la plupart des espèces végétales (**Callot, 1999 ; Ricard, 2003**).

- **Péridium** : Le Péridium est une structure résistante qui assure la protection de Gléba interne. Elle est de couleur blanchâtre à jaunâtre chez le genre *Tirmania* (Terfès blanc) et de couleur brun clair (Terfès rouge) à brun très foncé jusqu'à noir (Terfès noir).

Au niveau des écailles du Péridium, se forment des houppes de filaments mycéliens qui jouent un rôle actif dans les échanges nutritionnels entre le champignon et le sol.

-**Gléba (la chair)**: La Gléba c'est la partie centrale ; qu'est l'origine des asques et des spores; elle est constituée la masse interne de l'ascocarpe dont la coupe révèle à la maturité, la présence "de marbrures" ou lignes sinueuses blanches appelées "veines". Ces veines sont variables selon les espèces, ont reçu également le nom de "veines aérifères" ou "veines stériles" car elles ne contiennent jamais de spores. Elles sont remplies d'hyphes qui s'allongent, se ramifient et s'apparient entre elles pour former un véritable réseau mycélien. L'hyphe est facilement visible à la surface de truffes matures. Les veines s'ouvrent à l'extérieur au niveau des écailles du Péridium de la truffe.

Les veines permettent les échanges gazeux entre la gléba du champignon et le sol (oxygène, gaz carbonique, vapeur d'eau) (**Callot, 1999 ; Ricard, 2003**). Par de très nombreuses ascospore contenues dans petits sacs appelés asque les fructifications sont constituées à maturité (**Callot., 1999**).

**Tableau 1:** Les bactéries utilisées dans cette étude.

Familles	Genres et espèces	Forme, mobilité et Gram	Pouvoir pathogène
Micrococcaceae	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Cocci Immobile Gram+	Infections pyogènes graves
Enterobacteriaceae	<i>Echirichia coli</i> ATCC 25922	Bacille Mobile Gram-	Infections urinaires et des gastro-entérites infantiles.
	<i>Klesiella pneumoniae</i> ATCC 49619	Bacille Immobile Gram-	Infections nosocomiales Urinaires, pneumopathies et des septicémies
Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas aerogenosa</i> ATCC 27853	Bacille Mobile Gram-	Infections nosocomiales
Bacillacene	<i>Condida albicans</i>	Ovoïdes ou sphériques (3 - 6 $\mu\text{m}$ x 6- 10 $\mu\text{m}$ ), bourgeonnement multilatéral. Colonie blanche, crémeuse., lisse	Infections opportunistes surtout candidoses superficielles (muguet buccal, mycoses vaginales)

## Annexe 02 : Les appareils et les produits chimiques utilisés

### Les produits :

Acétate d'éthyle Acide chlorhydrique Acide sulfurique (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) Acétate de sodium Ammoniaque NH <sub>4</sub> OH Bicarbonate de sodium Chloroforme Chlorure de fer Chlorure de sodium DMSO	DPPH Eau distillée Eau physiologique Ethanol Ether de pétrole Folin - Ciocalteu Gélose Muller Hinton Gélose Sabouraud Hexane N-butanol Trichlorure d'aluminium AlCl <sub>3</sub>
--	--

### Matériels :

appareil	marque	Model
<i>Autoclave</i>	//	//
<i>Balance de précision</i>	DENVER INSTRUMENT	//
<i>Balance</i>	Scout Pro	//
Chauffe ballon	Bunsen	//
<i>Etuve</i>	nuve	EN 500
<i>Evaporateur rotatif</i>	Heidolph	LABOROTA 4001-efficient
<i>Spectrophotomètre</i>	SELECTA	UV-2005
<i>Spectrophotomètre</i>	SHIMADZU	FTIR 4800
HPLC		

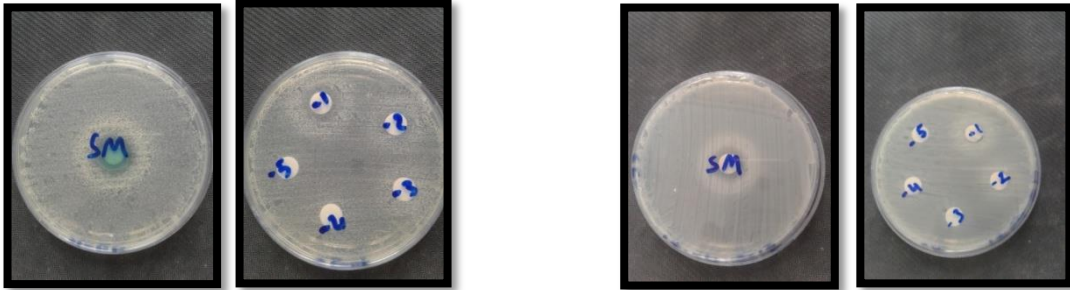
### Annexe 03: Résultats antimicrobienne

Soxhlet :

CHL :

Staph

pseudo



C.albicans



E. aqueux ( brut) :

Staph

pseudo

C.albicans



Fractions :

aqueuse :

pseudo

E.coli

K.p



**Ether de pétrole :**

E. coli



Staph



pseudo

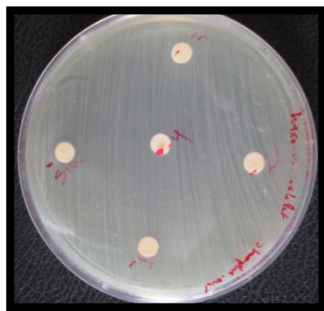


C. albicans



**Hexane:**

Staph



C. albicans



**Acétate d'éthyle :**

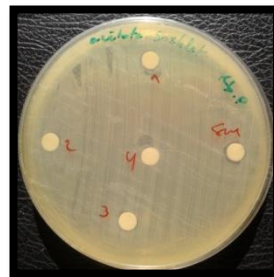
Staph



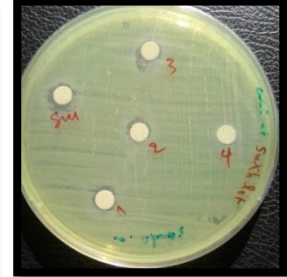
E. coli



K. p



pseudo



C. albicans





**Macération :**

**CHL :**

Staph

E. coli

Pseudo

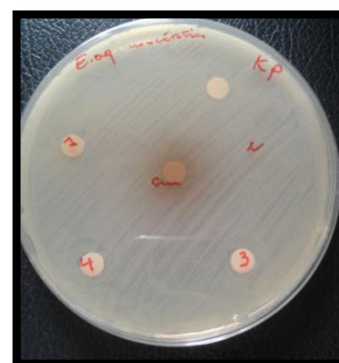
C. albicans



**E. aqueux ( brut) :**

C.albicans

K.p



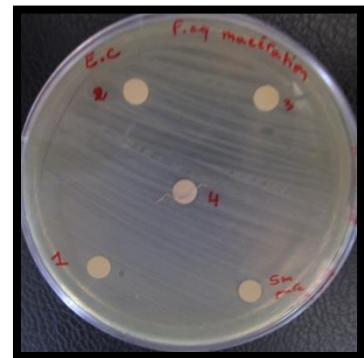
**Fractions :**

**Aqueuse :**

Staph

C. albicans

E. coli



**Ether de pétrole :**

Staph



C. albicans



**N-butanol:**

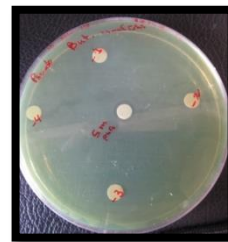
Staph



E. coli



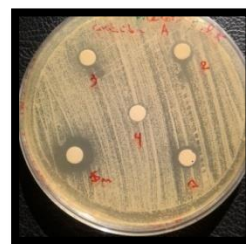
Pseudo



K.p

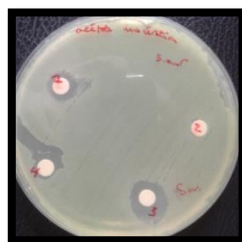


C. albicans

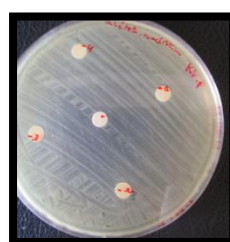


**Acétate d'éthyle :**

staph



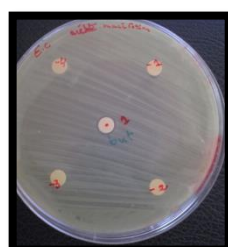
K.p



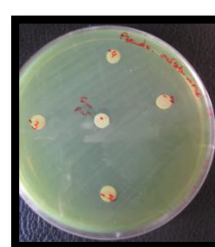
C. albicans



E. coli



pseudo



**Annexe 04:** Variation d'absorbance et du pourcentage l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration des échantillons.

Les échantillons obtenus à l'aide d'un soxhlet :

CHL :

Concentration (µg/ml)	100	75	50	25	12.5
Absorbance nm	0.175	0.188	0.284	0.487	0.495
Inhibition %	75,62	73,81	60,44	32,17	31,05

Eau distillé ( brut) :

Concentration (µg/ml)	100	75	50	25	12.5
Absorbance nm	0.045	0.136	0.238	0.331	0.354
Inhibition %	89.84	69.30	36.11	25.28	20.09

F. aqueuse :

Concentration (µg/ml)	100	75	50	25	12.5
Absorbance nm	0.071	0.189	0.282	0.381	0.386
Inhibition %	83.97	57.33	36.34	13.99	12.87

F. éther de pétrole :

Concentration (µg/ml)	100	75	50	25	12.5
Absorbance nm	0.299	0.323	0.402	0.444	0.522
Inhibition %	32.51	27.09	9.25		

F. hexane :

Concentration (µg/ml)	100	75	50	25	12.5
Absorbance nm	0.162	0.217	0.323	0.656	0.720
Inhibition %	63.43	51.01	27.09	//	//

F. acétate d'éthyle :

Concentration (µg/ml)	100	75	50	25
Abcerbance nm	0.343	0.345	0.429	0.436
Inhibition %	22.57	22.12	3.16	1.58

Les échantillons obtenus par macération:

Eau distillé ( brut) :

Concentration (µg/ml)	100	75	50	25	12.5
Abcerbance nm	0.178	0.262	0.293	0.309	0.316
Inhibition %	59.82	40.86	33.86	30.25	28.67

F. aqueuse :

Concentration (µg/ml)	100	75	25	12.5
Abcerbance nm	0.086	0.089	0.151	0.157
Inhibition %	48,36	47,13	21,75	19,26

F. éther de pétrole :

Concentration (µg/ml)	100	75	50	25	12.5
Abcerbance nm	0.169	0.214	0.25	0.375	0.433
Inhibition %	61.85	52.87	42.73	15.35	2.25

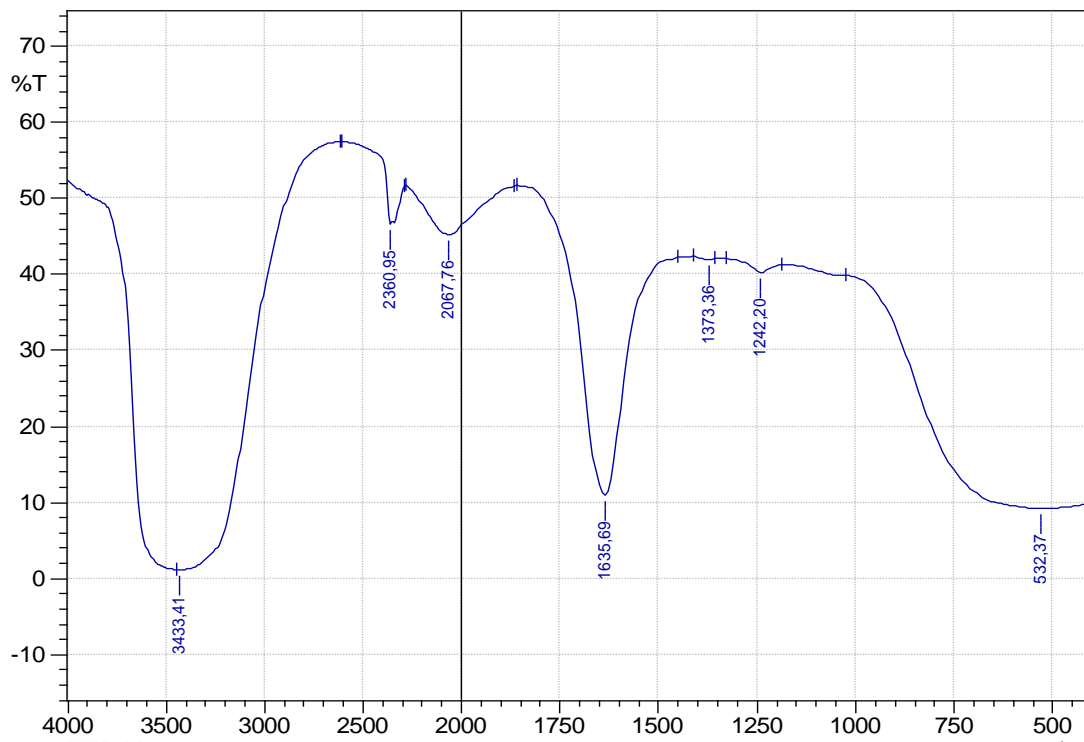
F. butanol :

Concentration (µg/ml)	100	75	50	25	12.5
Abcerbance nm	0.051	0.059	0.135	0.176	0.181
Inhibition %	79.09	75.81	44.67	27.86	25.81

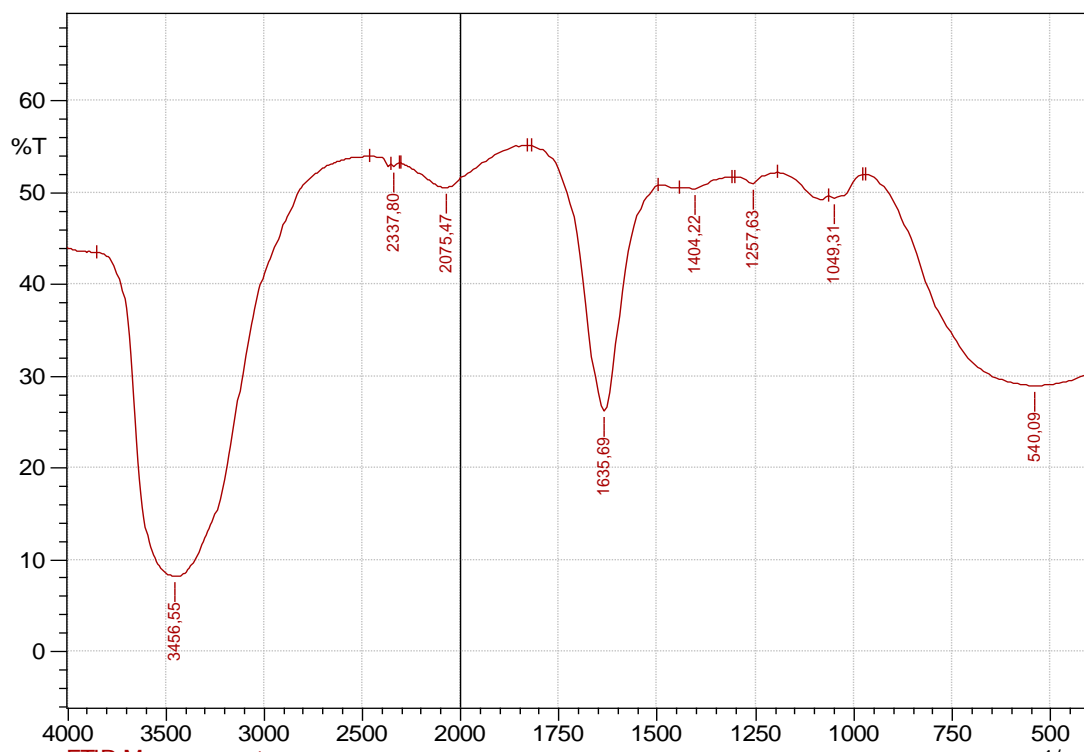
## Annexe 05: les spectres d'IR et HPLC

### A) les spectres d'IR :

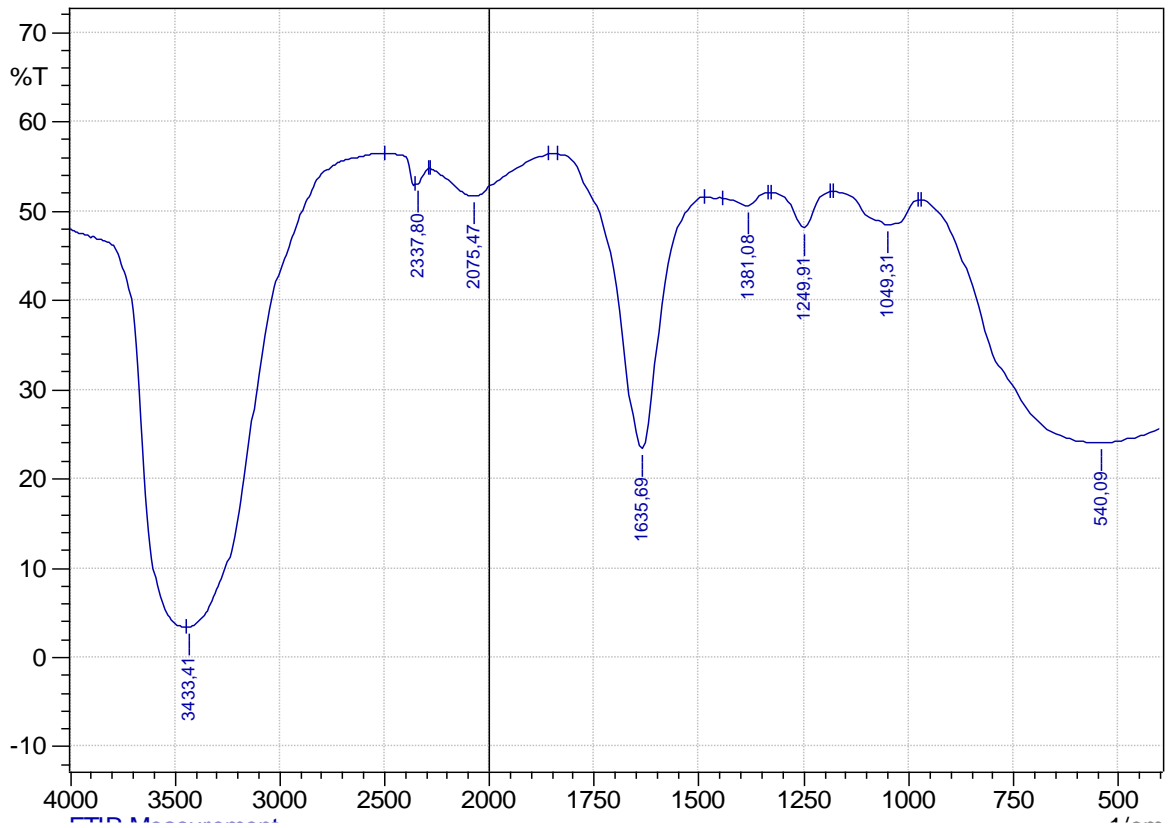
Soxhlet eau distillée trans



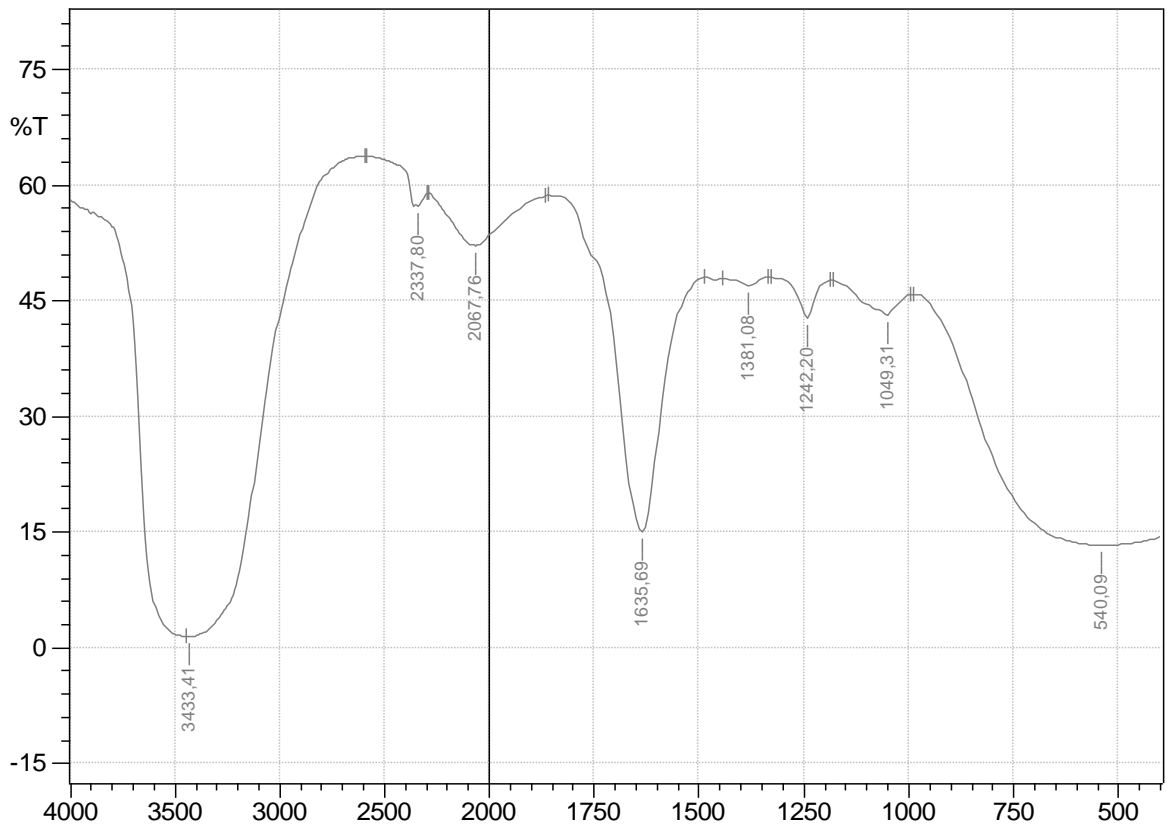
Macération eau distillé trans



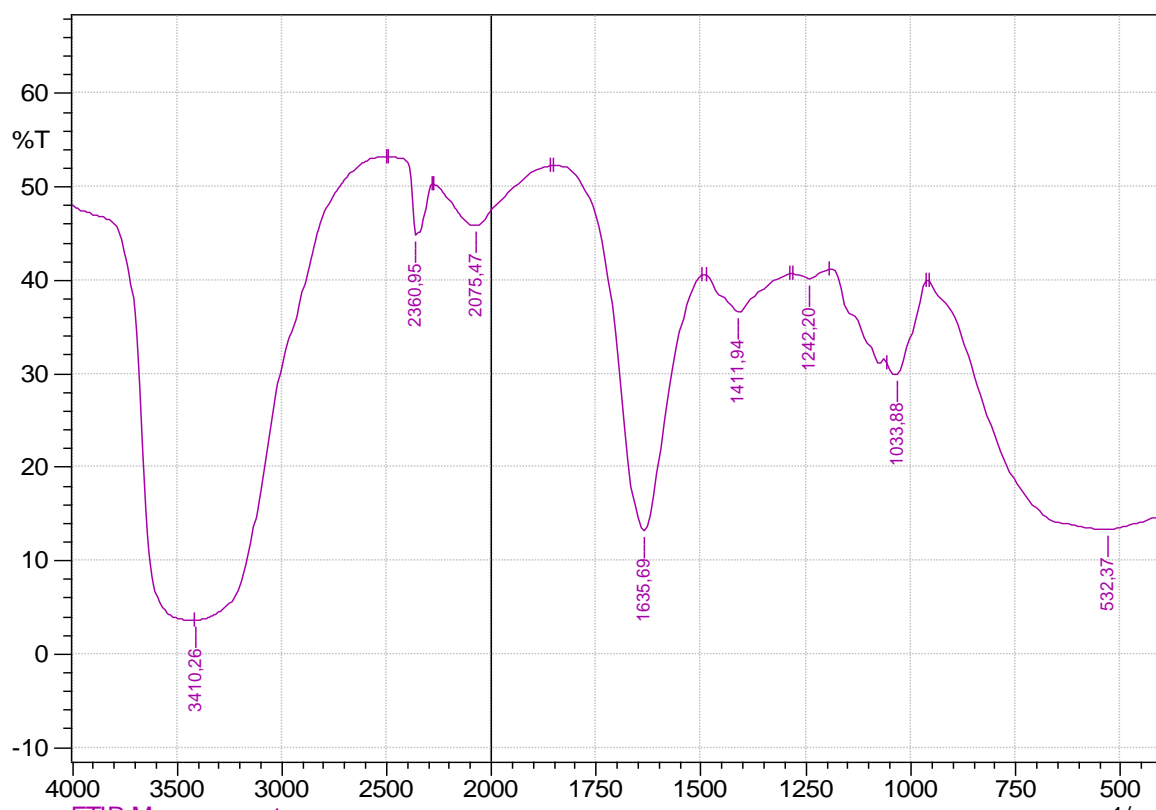
Soxhlet eau distillée fraction trans



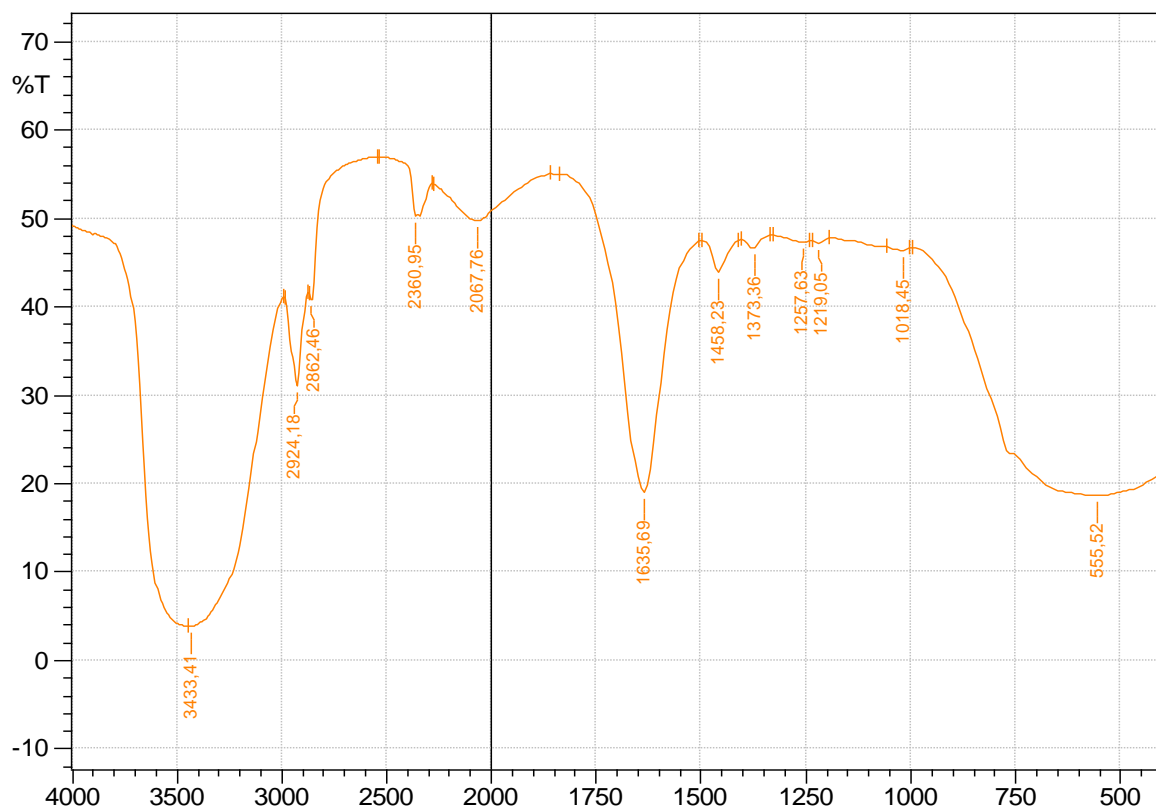
Macération eau distillé fraction trans



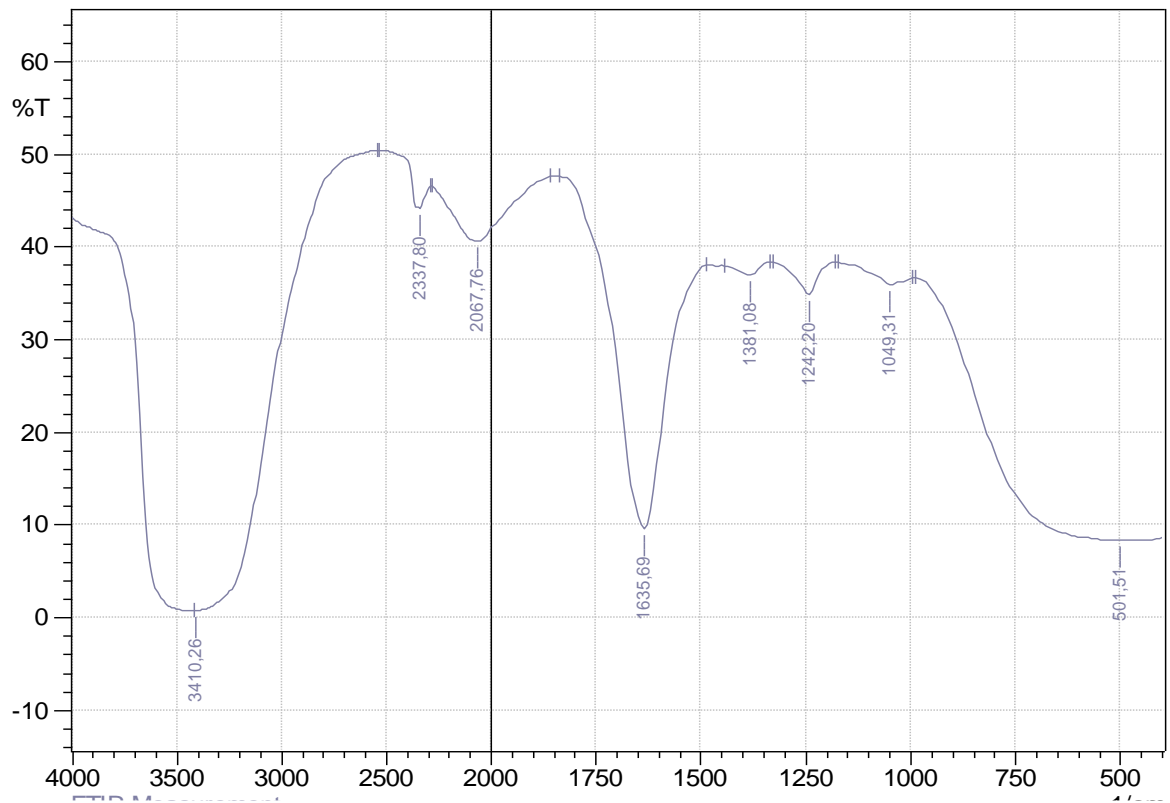
### Soxhlet chloroforme trans



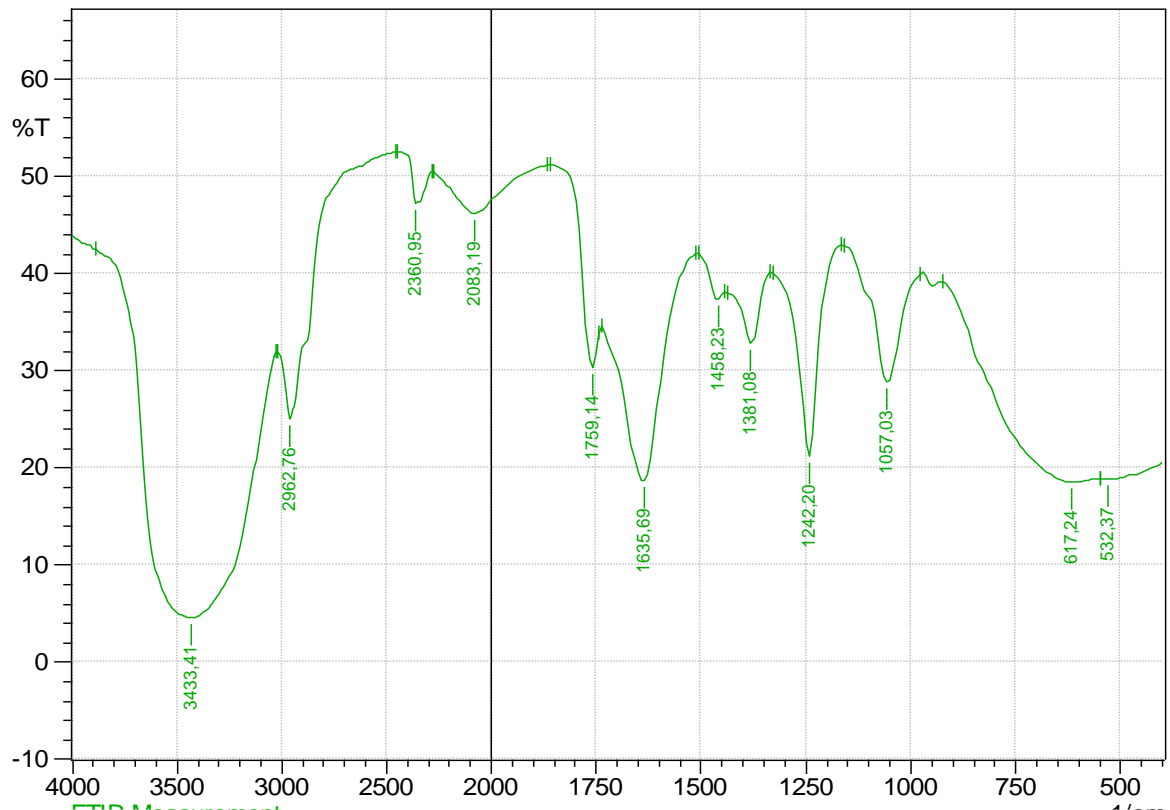
### Macération chloroforme trans



### Soxhlet eau distillé acétate d'éthyle trans

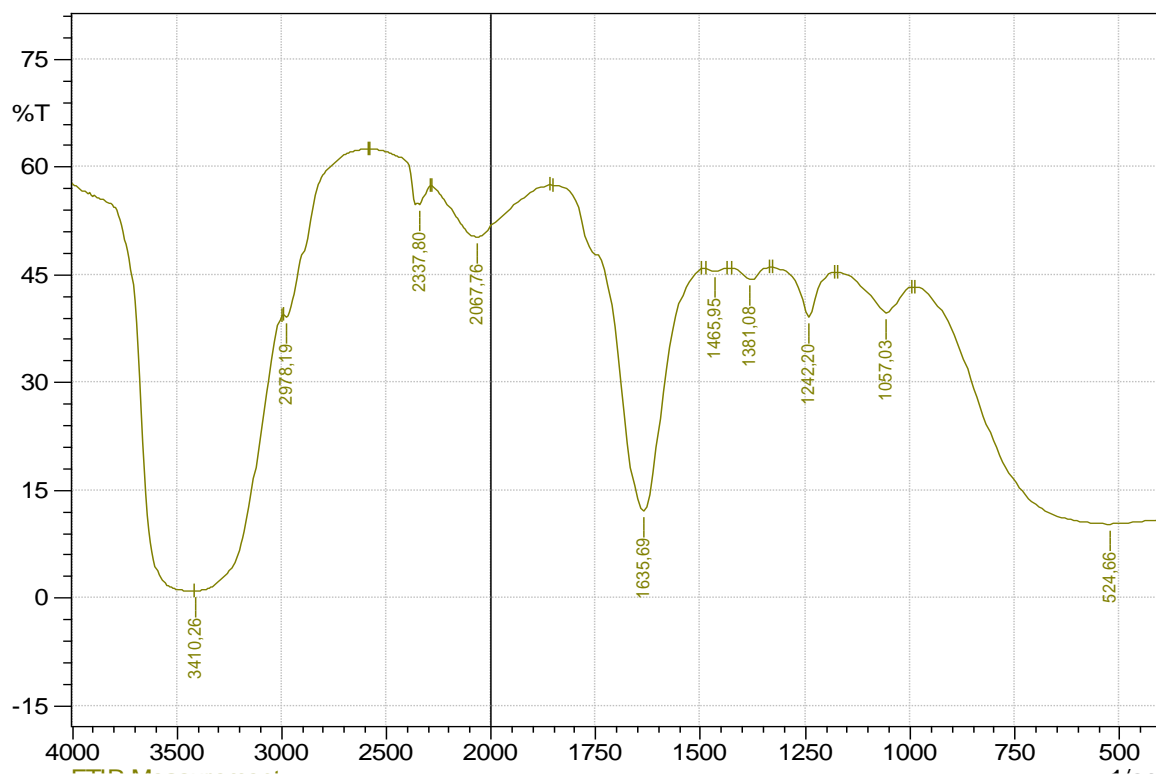


### Macération eau distillée acétate d'éthyle trans

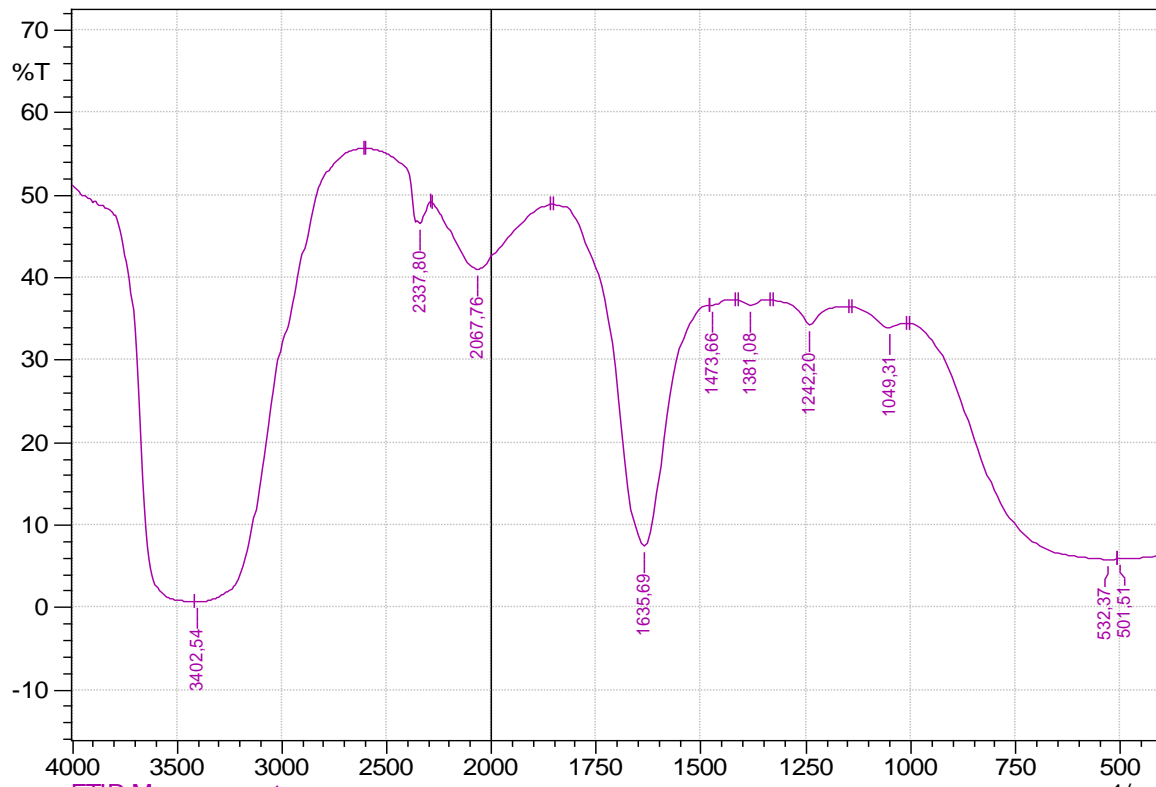




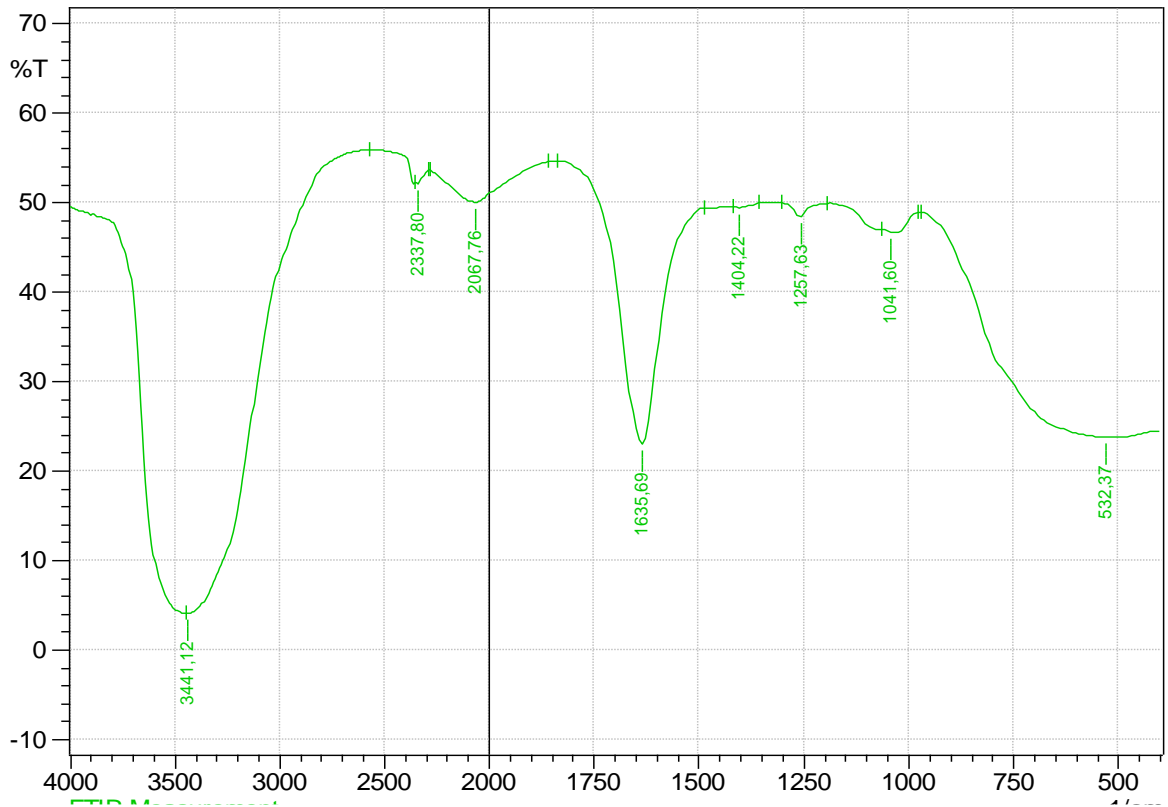
### Macération eau distillée éther de pétrole trans



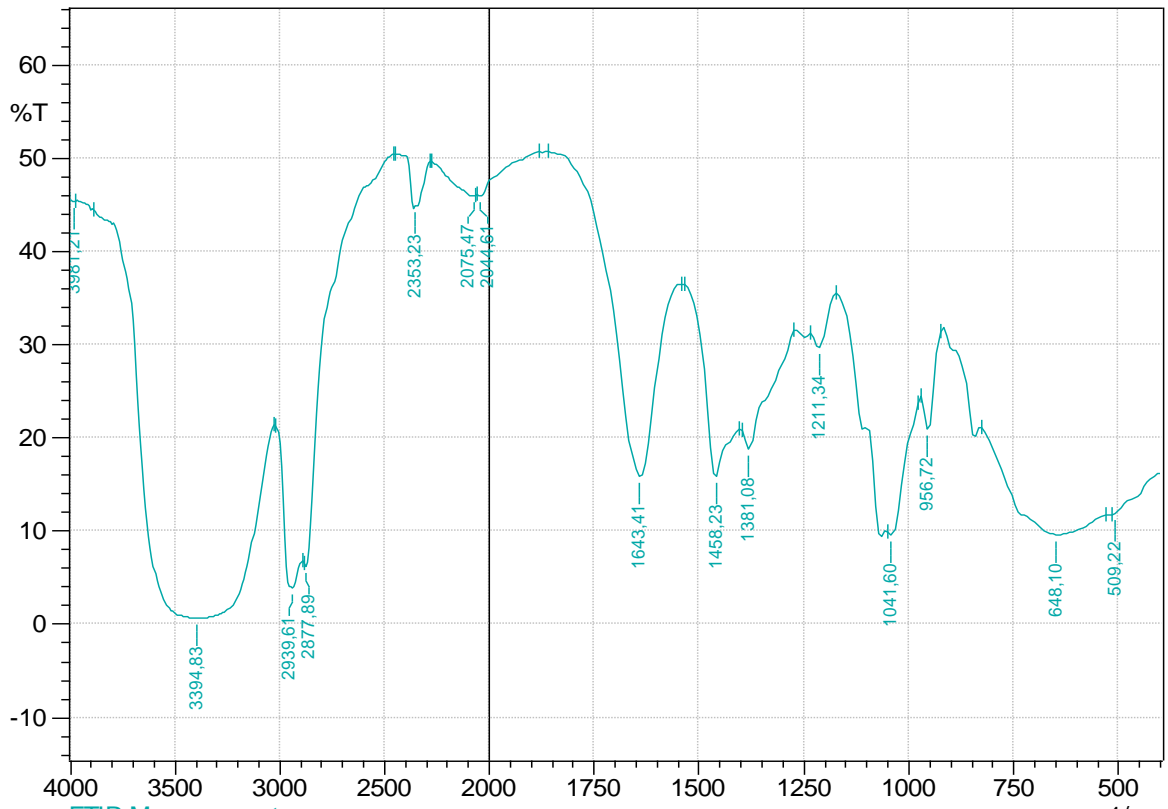
### Soxhlet eau distillée éther de pétrole trans



Soxhlet eau distillée hexane trans

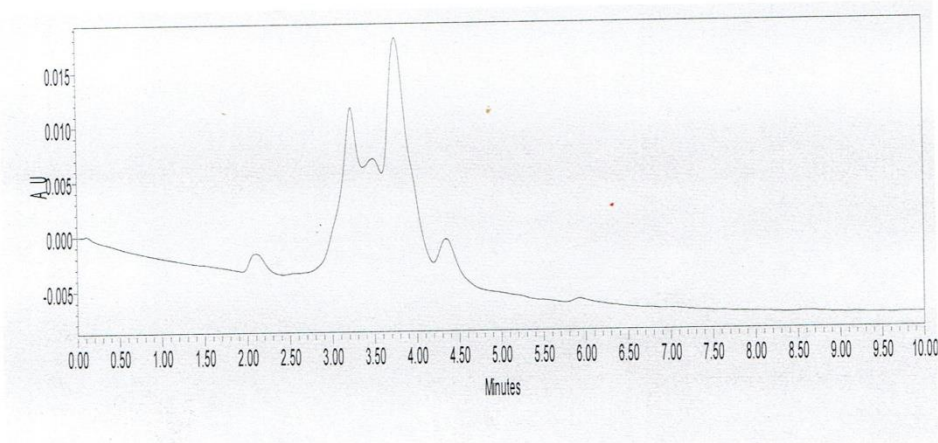


Macération eau distillée butanol trans

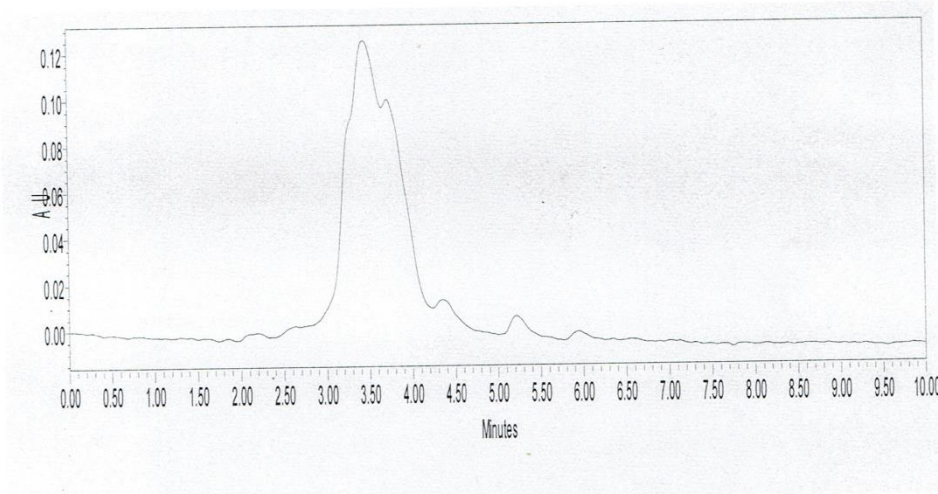


B) les spectres d'HPLC :

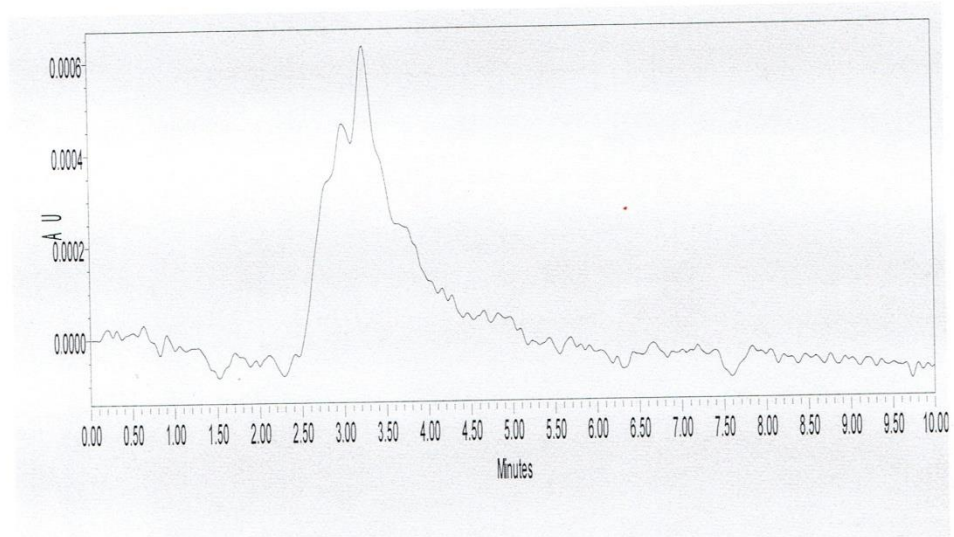
Soxhlet chloroforme 240nm



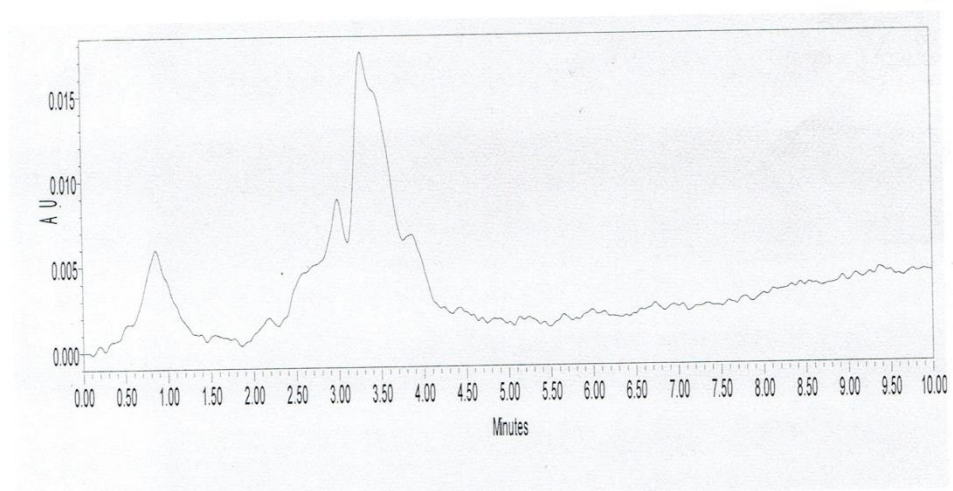
Soxhlet chloroforme 190 nm



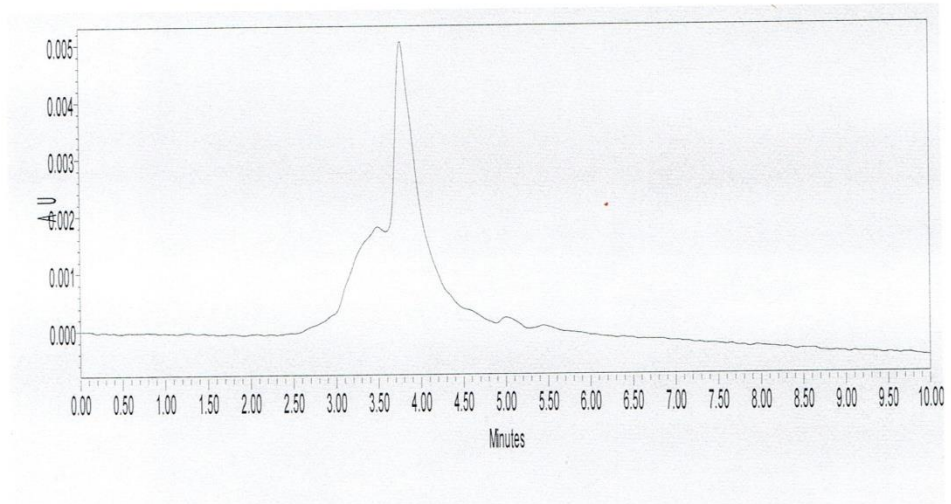
Maceration ether de petrole 330nm



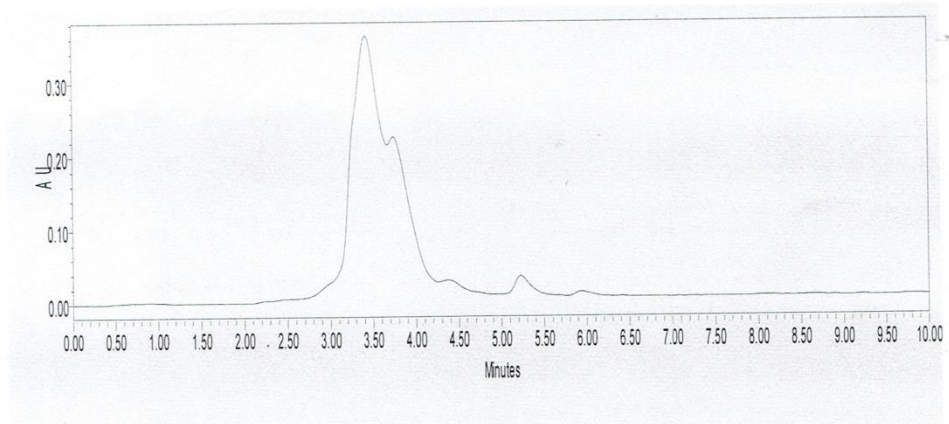
Maceration ether de petrole 190 nm



Soxhelet eau + eter de petrole 330 nm

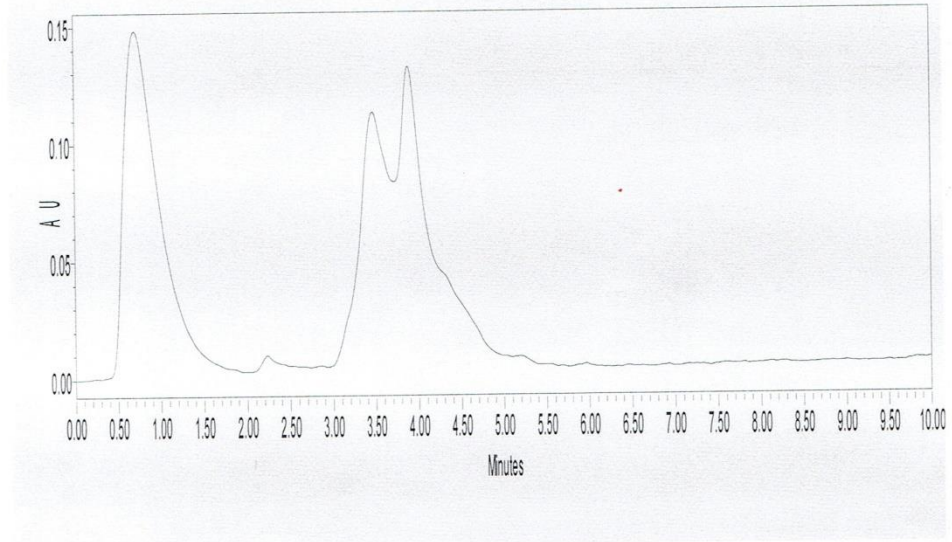


Soxhelet eau + eter de petrole 190 nm

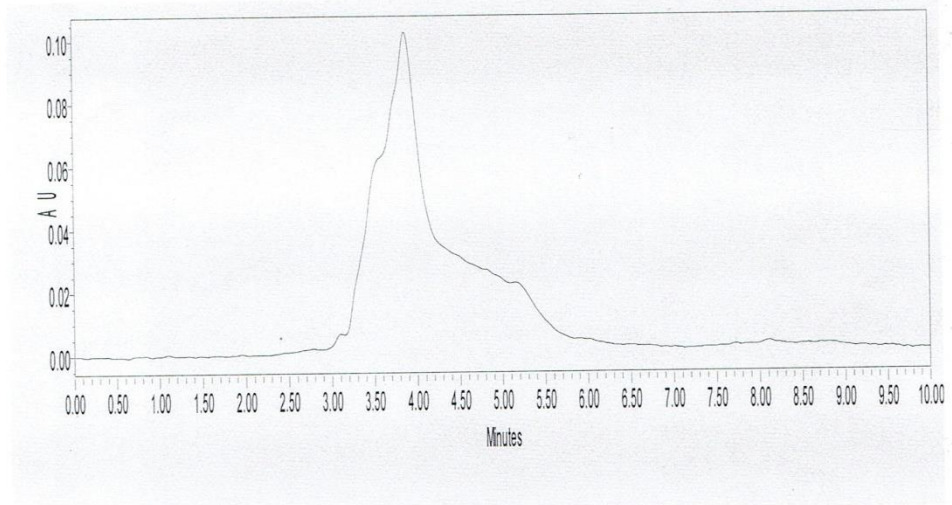




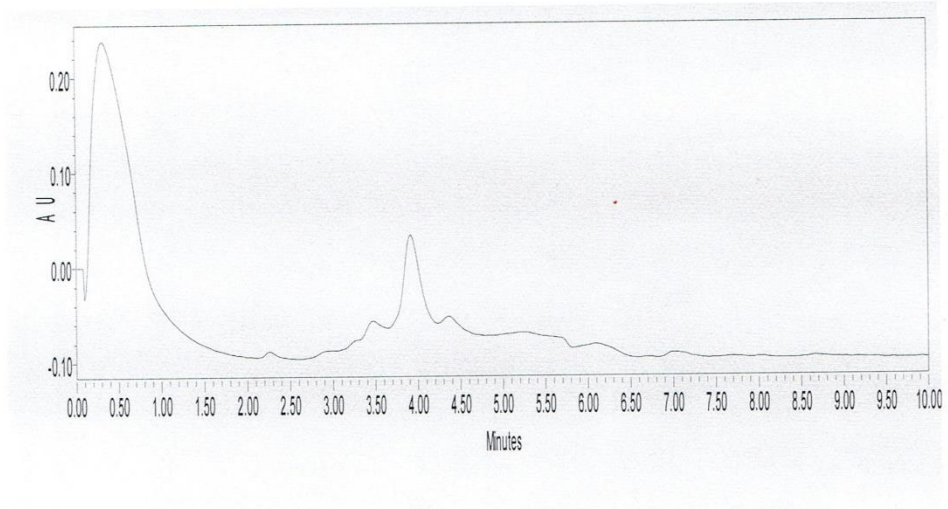
Maceration eau de fraction 190 nm



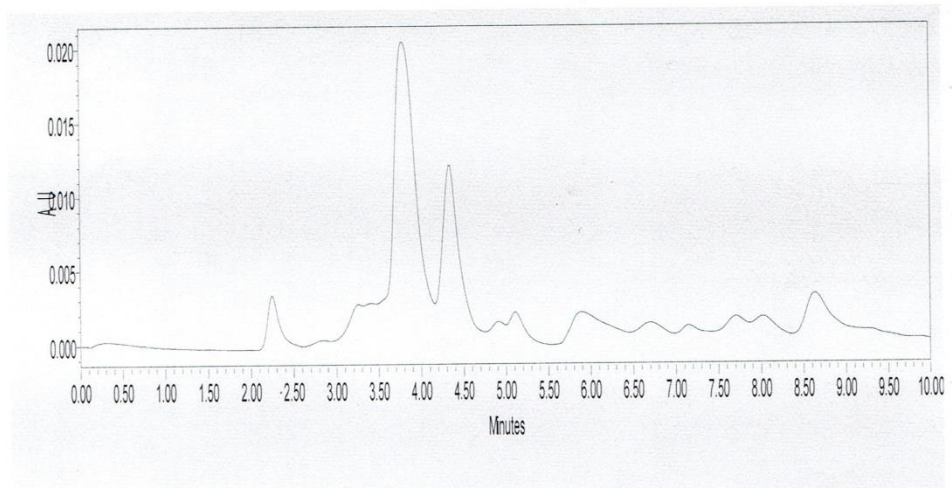
Soxhlet eau de fraction 190 nm



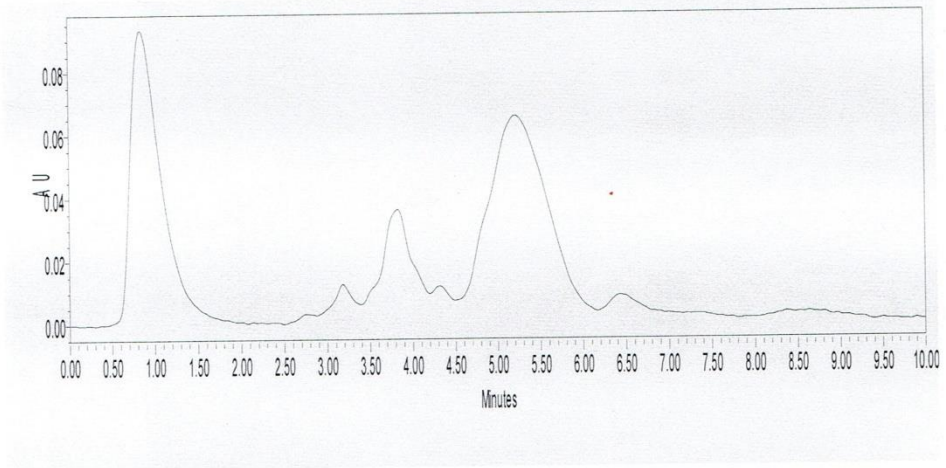
Maceration eau + acetate d'ethyl e 190 nm



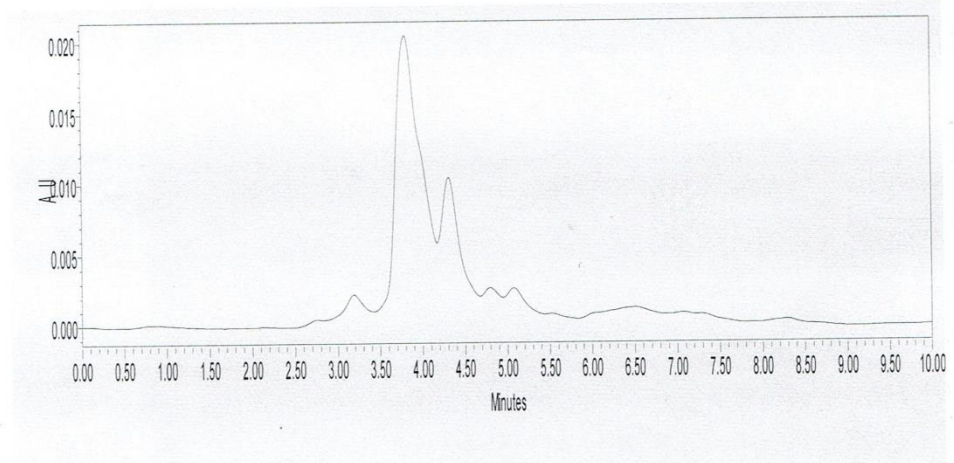
Maceration eau + acetate d'ethyl e 256nm



Soxhlet eau + acetate d'ethyle 190nm

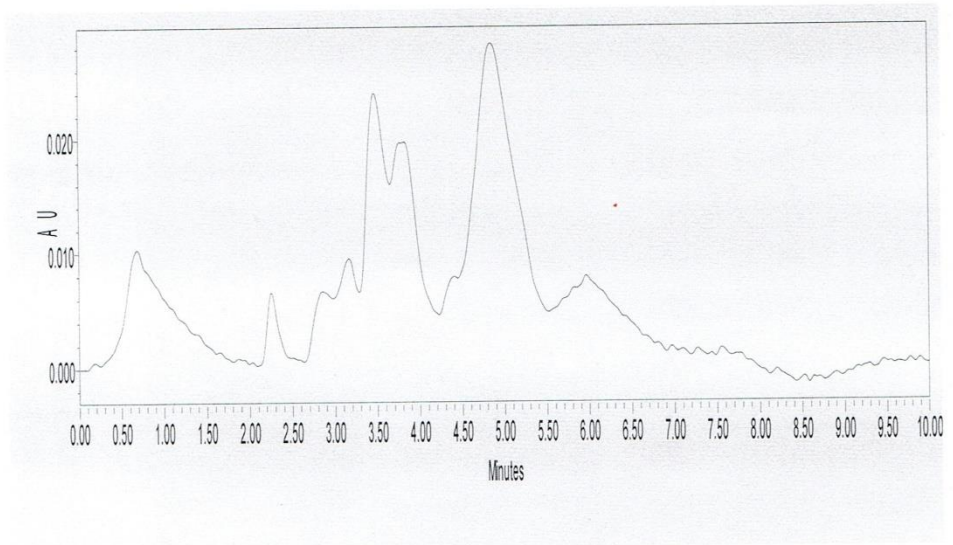


Soxhlet eau + acetate d'ethyl e 256 nm

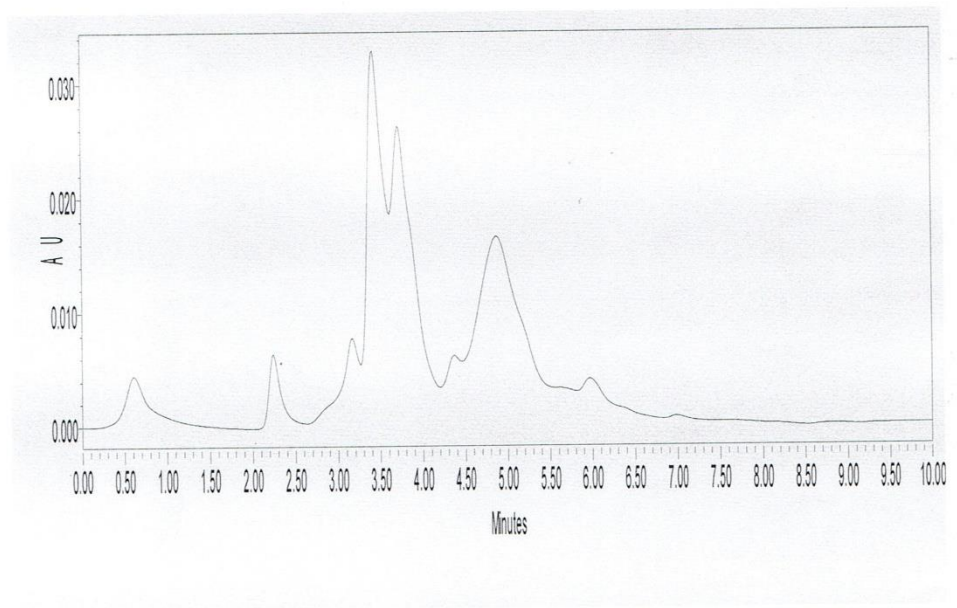




Maceration eau + butanol 190nm



Maceration eau + butanol 215 nm



## *Références bibliographiques*

## *Liste bibliographique*

- [1] Ladoh Yemeda, C.F., Dibong, S.D., Nyegue, M.A., Djembissi Talla, R.P., Lenta Ndjakou, B., Mpondo Mpondo, E., Yinyang, J. et Wansi, J.D. « Activité antioxydante des extraits méthanoliques de *Phragmanthera capitata* (Loranthaceae ) récoltée sur *Citrus sinens* ». *J.Appl Biosci*, 84:7636– 7643. (2014).
- [2] Al-Laith, A. A. A. «Antioxidant components and antioxidant/antiradical activities of desert truffle (*Tirmania nivea*) from various Middle Eastern origins». *Journal of Food Composition and Analysis*, 23(1), 15-22. (2010).
- [3] WE G-H., HU T., HUANG Z-L., JIANG J. «Characterization of water and alkali soluble polysaccharides from *Pleurotus tuber-regium sclerotia*, carbohydrate polymers », vol. 96: 284-290. 2013
- [4] AHMED J., TAHER A. «Effect of dring on rheological, thermal, and structural properties of desert truffles (*Terfazia claveryi*) powder dispersions. » *International journal of food properties*, vol. 19: 395-408. 2016
- [5] JANAKAT S. M., AL-FAKHIRI S. M., SALLAL A. K., «Evaluation of antibacterial activity of aqueous and methanolic extracts of the truffle *Terfezia claveryi* against *Pseudomonas aeruginosa*» *journal of Saudi Med*, vol. 26(6):952–955, (2005)
- [6] Neggaz S. et Fortas Z. « Tests of antibiotic properties of Algerian desert truffle against bacteria and fungi. » *Journal of Life Sciences*, ISSN 1934-7391, USA, 7 (3): 259-266, (2013).
- [7] MURCIA M-A., MARTINEZ M., VERA A., Morte A., GUTIERREZ A., HONRUBIA M., JIMENEZ A. M. «Effect of industrial processing on desert truffles (*Terfezia claveryi* Chatin and *Picoa juniperi* Vittadini), Proximate composition and fatty acids». *Journal of Science Food Agric.*, vol. 83 (6): 535-541. 2003
- [8] HAMZA A, ZOUARI N, ZOUARI S, JDIR H, ZAIDI S, GTARI M, NEFFATI M., «Nutraceutical potential, antioxidant and antibacterial activities of *Terfeziaboudieri* Chatin, a wild edible desert truffle from Tunisia arid zone. » *Arabian Journal of Chemistry*, vol. 1878-5352, (2013)
- [9] WANG S., MARCONE M. F. «The biochemistry and biological properties of the world's most expensive underground edible mushroom: Truffles. » *Food Research International*, vol. 44: 2567–2581, (2011).

- [10] François B, Irène B, Aurélie D, Sylvain F « développement-de-la-trufficulture-dans-le-chatillonnais comme activité de diversification » institut national agronomique paris-Grignon 2002.
- [11] -Chatin A. « Contribution à l'histoire naturelle de la truffe Terfess ou truffe d'Afrique et d'Arabie ». Genre *Terfezia* et *Tirmania*. Bull. Soc. Bot, 38: 54-64, (1891)
- [12] Mandeel Q. A., Al-Laith A. « Ethnomycological aspects of the desert truffle among native Bahraini and non-Bahraini peoples of the Kingdom of Bahrain. » Journal of Ethnopharmacology, pp.118–129.
- [13] Bokhary H.A. « Desert truffles ‘ Al-Kamah’ of the Kingdom of Saudi Arabia.1. Occurrence, identification and distribution. » Arab Gulf Journal of Scientific Research, 5:245-255. (1987).
- [14] KHAJASTCH S.M.B., AMIRI L., SHCIKHZADEH F., «Effect of the alcoholic extract of *Terfaziaboudieri* on reproductive hormones in male rats», International Journal of pharmacy and Biological Science, vol. 3(2):517-522. (2013)
- [15] Les Truffes et l'introduction de *Tuber melanosporum* Vittadini 1831, en Vendée)  
René PACAUD, « Les Truffes et l'introduction de *Tuber melanosporum* Vittadini, » en Vendée 1831
- [16] AWAMEH M-S., ALSHEIKH A., «Ascospore germination of black kame (*Terfezia boudieri*). » Mycologia, vol. 72 (1): 50-54. 1980
- [17] Tulasne L.R. et Tulasne C. « Fungi hypogea, Ed. » MPCHA, Paris, p. 222. (1851).
- [18] TRAPPE J-M. «The orders, families and genera of hypogeousAscomycotina (Truffles and their relatives). » Mycotaxonmy, vol. 9: 297-340. 1979
- [19] BRADAI L., BISSATI S., CHENCHOUNI H., «Desert truffles of the Algerian Sahara: Diversity and bioecology, Emir. » J. Food Agric, vol. 26(25): 425-435. 2014
- [20] Barseghyan, G.S. and S.P. Wasser. «The genus *Peziza* Dill. Ex Fr. (Pezizales, Ascomycota) in Israel. » Ascomycete.org, 2: 39-50, 2010.
- [21] LAESSOE T., HANSEN K. «Truffle trouble: what happened to the tuberales? » Mycological research, vol. 111, 1075- 1099, 2007.
- [22] KAGAN-ZUR V., ROTH-BEJERANO N., b-« Desert truffles. » Fungi, vol. 1(3) : 32-37. 2008

- [23] Delmas J. «La truffe et sa culture. » Ed. INRA, Paris, p. 55. , (1983)
- [24] FORTAS Z. « Etude de trois espèces de Terfez : caractères cultureux et cytologie de mycélium isolé et associé à *Helianthemum gutatum*. » Thèse de Doctorat d'état. Université d'Es-Sénia (Oran), 166p. . 1990
- [25] BESSAH G. «Contribution à l'étude de la symbiose mycorrhizienne entre deux espèces de Terfez : *Terfezia claveryi*, *Terfezia boudieri* avec le pin d'Alpe (*Pinus halepensis* Mill) dans la région du Djelfa. » Thèse Maj Institut National d'Agronomie EL-HARACH, 153 p., 1999
- [26] DIEZ J., MANJON J-L., MARTIN F. «Molecular phylogeny of the mycorrhizal desert truffles (*Terfezia* and *Tirmania*) host specificity and edaphic tolerance. » *Mycologie*, vol. 94 (2): 247-259, 2002
- [27] Trappe, J.M. « Use of truffles and false truffles around the world. In: Bencivenga, M., Granetti, B. (Eds.), Proceedings, Atti del Secondo Congresso Internazionale sul Tartufo. » Comunita Montana dei Monti Martinie del Serano, Spoleto, Italy, 19-30, 1990
- [28] Morte A., Lovisolo C., Schubert A. «Effect of drought stress on growth and water relations of the mycorrhizal association *Helianthemum almeriense*-*Terfezia claveryi*. » *Mycorrhiza*, 10(3) : 115-119. , (2000).
- [30] -Trappe J.M., Claridge A.w., Claridge D.L., Liddle L. «Desert Truffles of the Australian Outback: Ecology, Ethnomycology, and Taxonomy. » *Economic Botany*, 62(3): 497–506, (2008).
- [31]- Trappe J.M., Kovács G.M., Coleridge A.W., (2010). «Comparative taxonomy of desert truffles of the Australian Outback and African Kalahari. » *Mycological Progress*, 9: 131-143
- [32] KOVACS G-M., TRAPPE J-M. «Nomenclatural History and Genealogies of Desert Truffles. » in *Desert Truffles* Springer Berlin Heidelberg, 21-37 pp, 2014
- [33 ] Vázquez-García, J.A., Santiago-Martinez, G., Estrada Torres, A., « Influencia del pH en el crecimiento de quince cepas de hongos ectomocorrozogenos ». *Anales del Intitulo de Biología*, Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Botánica 73(1) :115.(2002)
- [34] ALSHEIKH A. M., TRAPPE J. M. «Desert truffles: The genus *Tirmania*. Trans. » *Br. Mycol. Soc.*, vol. 8 (1): 83-90, 1983

- [35] Alsheikh A.M. «Taxonomy and mycorrhizal ecology of the desert truffles in the genus *Terfezia*. » Ph.D. dissertation. Oregon State University, Corvallis, p 239, (1994).
- [36] Omer E.A., Smith D.L., Wood K.V., El-Menshawi B.S. «The volatiles of desert truffle : *Tirmania nivea*. » *Plant Foods for Nutrition*, 45:247-249, (1994).
- [37] Feeney J. « Desert Truffles Galore. » *Saudi Aramco World*, 53(5) :22-27, (2002).
- [38] KHABAR L. «Etudes pluridisciplinaires des truffes du Maroc et perspectives pour l'amélioration de production des « Terfess » de la forêt de la Mamora. » Thèse Doctorat d'Etat, Université de Mohamed V– Agdal, Rabat (Maroc), 167p, 2002
- [39] Khabar, L., Amrani, N. «Truffes du désert du Maroc : Etat actuel des recherches. Actes du 1er Symposium sur les Champignons Hypogés du Bassin Méditerranéen. » Rabat, Maroc, 115-124, 2004.
- [40] JANEX-FAVRE, M-C., PARGUEY-LEDUC, A., RIOUSSET, L. «L'ascocarpe hypoge d'une terfezFrancaise (*Terfezialeptoderma*Tul., Tuberales, Discomycetes). » *Bulletin trimestriel de la Sociétémycologique de France*, 104(3), 145-178, 1988
- [41] Laurence N. « Faire face à la montée de l'antibioresistance. » *John Libbey EUROTEXT*, 15 (4) : 286-9, (2016).
- [42] Azevedo N. «Aazonheiraea tubericuktura. Brana –Monogràfico I. » *Actas I. Congresso de Macromixologia Galaico-Luso*, pp : 5-19. , (1987).
- [43] Baeza A., Hernandez S., Javier Guillen F., MorenoG. Manjon J.L., Pascual R. «Radiocaesium and natural gamma emitters in mushrooms collected in Spain» *the Science of the Total Environment*, p: 318, (2004).
- [44]FORTAS Z. «Diversité des espèces de terfez (truffes des sables) des zones arides algériennes. » Séminaire international : Protection et préservation des écosystèmes sahariens « Ouargla », 51p, 2009
- [45] FORTAS Z., CHEVALIER G. b-« Effet des conditions de culture sur la mycorhization de l'*Helianthemum guttatum* par trois espèces de terfez des genres *Terfezia* et *Tirmania* d'Algérie. Can. » *Journal of Botanic*, vol.70: 2453-2460 , 1992

- [46] Navarro-Ródenas A., Pérez-Gilabert M., Torrente P., Morte A. «The role of phosphorus in the ectendomycorrhiza continuum of desert truffle mycorrhizal plants. » *Mycorrhiza*, 22 (7) :565-575, (2012).
- [47] Awameh M.S., Alsheikh A. « Laboratory and field study of four kinds of truffle, *Terfezia* and *Tirmania* species, for cultivation, *Mush. » Sc.*, 10: 507-517, (1979).
- [48] Slama A., Fortas Z., Boudabous A., Neffati M. «Cultivation of an edible desert truffle (*Terfezia boudieri* Chatin). » *African Journal of Microbiology Research*, 4(22) : 2350-2356, (2010).
- [49] Bawadekji A., Gargano M.L., Saitta A., Venturella G. «A new record of the desert truffle *Picoa lefebvrei* in Saudi Arabia. » *Mycotaxon*, 122: 243-247, (2012).
- [50] Jamali S., Banihashemi Z. « Fungi associated with ascocarps of desert truffles from different parts of Iran. » *J. Crop Prot.* 2012, 1 (1): 41-47, (2012).
- [51] BRADAI L., BISSATI S., CHENCHOUNI H. «Etude mycologique et bioécologique de la truffe blanche du désert (*Tirmania nivea* Desf. Trappe 1971) dans la région d'Oued M' ya (Ouargla, Sahara algérien). » *Revue des Bioressources*, Article original, vol. 3(1), 6-14, 2013
- [52] Chevalier G. «The European Desert Truffles. In Kagan –Zur V, Roth-Bejerano N, Sitrit Y, Morte A., , *Desert Truffles Phylogeny, Physiology, Distribution and Domestication*, *Soil Biology.* » 38 : 121-141, Springer, Berlin, (2014).
- [53] BORDALLO J-J., RODRIGUEZ A., KAOUNAS V., CAMELLO F., HONRUBAI M., MORTE A., «Two new *terfazia* species from southern Europe. » *Phytotaxa*, vol. 230(3): 239-249, 2015
- [54] Morte A, Zamora M, Gutiérrez A, Honrubia M. «Desert Truffle Cultivation in Semiarid Mediterranean Areas. In Azcón-Aguilar C., et al. (eds.), *Mycorrhizas Functional Processes and Ecological Impact*, chapter 15» , Springer-Verlag .Berlin Heidelberg, pp.221-233, (2009).
- [55] Bokhary, H. A. «Desert truffles" Al-Kamah" of the kingdom of Saudi Arabia. 1. Occurrence, identification and distribution. » *Arab Gulf Journal of Scientific Research*, 5(2) : 245-255, (1987).
- [56] HUSSAIN G., AL- RUQAIE I. M., « Occurrence, chemical composition and nutritional value of truffles, an overview. Pak. » *Journal of Biology Science*, vol. 2 (2) : 510-514, 1999
- [57] Morte A., Honrubia M., Gutiérrez A. « Biotechnology and Cultivation of Desert Truffles. » In A. Varma (ed.) *Mycorrhiza*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, pp.467-483, (2008).



- [58] Morte A., Navarro-Ródenas A., Nicolás E. «Physiological parameters of desert truffle mycorrhizal *Helianthemum almeriense* plants cultivated in orchards under water deficit conditions. » *Symbiosis*, 52(2): 133-139, (2010).
- [59] PEGLER D- N. « Useful Fungi of the World: the 'Poor man's tuffles of Arabia' and 'Manna of the Israelites'. » *Mycologist*, 16(1), 8-9, 2002
- [60] Malençon G. «Champignons Hypogés du Nord de l'Afrique. » *Ascomycetes*. Persoonia, (7) : 261-288 (1973).
- [61] Moreno, G., Diez, J., et Manjon, J. L. «*Terfezia boudieri*, first records from Europe of a rare vernal hypogeous mycorrhizal fungus. » *Persoonia*, 17(4), pp 637-641, (2002).
- [62] Moreno, G., Diez J., et Manjon JL. «*Picoa lefebvrei* and *Tirmania nivea*, two Rare hypogeous fungi from Spain. » *Mycol Res* 104(3), pp 378–381, (2000).
- [63] Kovacs G.M., Calonge D., Martin M.P. «The diversity of *Terfezia* desert truffles: new species and a highly variable species complex with intrasporocarpic nrDNA ITS heterogeneity. » *Mycologia*, 103(4) : 841-853, (2011).
- [64] Roth-Bejerano N., Navarro-Rodenas A., and Gutierrez A. «In: Types of Mycorrhizal Association. » In V. Kagan-Zur et al. (eds.), *Desert Truffles, Soil Biology 38*, Springer Berlin Heidelberg, pp 69-80, (2014).
- [65] Gutierrez A., Morte A., Honrubia M. «Morphological characterization of the mycorrhiza formed by *Helianthemum almeriense* Pau with *Terfezia clavaryi* Chatin and *Picoa lefebvrei* (Pat.) Maire. » *Mycorrhiza*, 13(6):299–307, (2003).
- [66] Mostowfizadeh-Ghalamfarsa R., Jamali S, Banihashemi Z. «Molecular phylogeny of three desert truffles from Iran based on ribosomal genome. » *Rostaniha* 11(2) : 151-162, (2010).
- [67] BORDALLO J-J., RODRIGUEZ A., Mohedano j - m., Laura m s.. «Five new *Terfezia* species from the Iberian Peninsula», 2013.
- [68] Kagan-Zur V., Akyuz M. « Asian Mediterranean Desert Truffles. In Kagan-Zur V., Roth-Bejerano N., Sitrit Y., Morte A., (eds), *Desert Truffles Phylogeny, Physiology, Distribution and Domestication* . » *Soil Biology*, 38 :159-172, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, (2014).

- [69] Loizides M., Hobart C., Konstandinides G., Yiangos Y. «Desert truffles : the mysterious jewels of antiquity. » *Field Mycology*, 13(1) : 17-21, (2011).
- [70] Comandini O., Contu M., Rinaldi A.C. «An overview of *Cistus* ectomycorrhizal fungi. » *Mycorrhiza*, 16: 281-395, (2006).
- [71] BORDALLO J.-J., RODRIGUEZ A., KAOUNAS V., CAMELLO F., HONRUBAI M., MORTE A., «Two new *terfezia* species from southern Europe. » *Phytotaxa*, vol. 230(3): 239-249. 2015
- [72] Ammarellou A., Saremi H. «Mycorrhiza between *Kobresia bellardii* (All.) Degel and *Terfezia boudieri* Chatin. » *Turk J Bot*, 32: 17-23, (2008).
- [73] ZITOUNI F-E. «Etude des associations mycorrhiziennes entre quatre espèces de terfez et diverses plantes Cistacées et ligneuses en conditions contrôlées. » *Mémoire de Magister*, Université d'Oran, 262p, 2010
- [74] Wang S., Marcone M. «The biochemistry and biological properties of the world's most expensive underground edible mushroom : Truffle. » *Food Research International*, 44 (9) : 2567–2581, (2011).
- [75] Kagan-Zur V, «Terfezias, a family of mycorrhizal edible mushrooms for arid zones. In *Combating Desertification with Plants*» (pp. 45-53). Springer US. (2001)
- [76] Dib-Bellahouel, S., Fortas, Z., « Antibacterial activity of various fractions of ethyl acetate extract from the desert truffle, *Tirmania pineyi*, preliminarily analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) ». *African Journal of Biotechnology.*, 10(47) 9694-9699(2011)
- [77] Janakat, S., & Nassar, M. «Hepatoprotective activity of desert truffle (*Terfezia claveryi*) in comparison with the effect of *Nigella sativa* in the rat». *Pakistan Journal of Nutrition*, 9(1), 52-56. (2010)
- [78] BOKHARY H-A., PARVEZ S., «Chemical composition of desert truffle *Terfezia claveryi*». *J. food Composition and analysis*, vol. 6 (3): 285-293. (1993)
- [79] DAHHAM S. S., AL-RAWI S. S., IBRAHIM A. H., MAJID A. S. A., MAJID A. M. S. A., - «Antioxidant, anticancer, apoptosis properties and chemical composition of black truffle *Terfezia claveryi*», *Saudi Journal of Biological Sciences*, Article original, vol. 01-31. (2016)

- [80] KERMANI I., - « Mycorhization controlée d'une Cistacée pérenne par les terfezen conditions gnotoxéniques et essai de transplantation sur le terrain ». Thèse de Magister, université d'Oran, 115p. (2013)
- [81] ABDUL MAJID A-M S., DAHHAM S-S., AL-RAWI S-S., IBRAHIM A-H., ABDUL MAJID A. S., - «Antioxydant, anticancer, apoptose propriétés et composition chimique de la truffe noire *Terfezia claveryi*». Saudi Journal of Biological Sciences. (2016)
- [82] AHMED A-A., Mohamed M-A., Hamid M-A., -Libyan truffles «*Terfezia boudieri* Chatin, Composition chimique et toxicité». Journal Food Science, vol. 46 (3): 927-929. (1981)
- [83] ACKERMAN L. G., VAN WYK P.L. DU PLESSIS L.M., - «Some aspects of the composition of the Kalahari truffle or N'abba». Since Arabia Food. Review, vol. 2(5): 145. (1975)
- [84] HIFNAWY M-S., AZZAM S.M., SOLIMAN S-N., SHAHEED I-B., ABDEL LATIF S-M., -«Egyptian desert truffles, androgénic produit naturel, possibilité d'abus en sport». In: Recent advances in doping analysis, Eds., W Schänzer, H Geyer, A Gotzmann, U Mareck-Engelke, Sport und buchstraub, koln, 299-303 pp. (2001)
- [85] EL ENSHASY H. A., HATTI-KAUL R., -« Mushroom immunomodulateurs: molécules à applications illimitées». Trends in Biotechnology, 31-12p. (2013)
- [86][GADALLAH ET ASHOUSH, « Value Addition on Nutritional and Sensory Properties of Biscuit Using Desert Truffle (*Terfezia claveryi*) Powder» 7(12):1171-1181 (2016)
- [87] AHMED j., - « Effect of pH and temperature on rheological and calorimetric behavior of the DECODE study group, European Diabetes Epidemiology Group, Diabetes Epidemiology: Collaborative analysis of diagnostic criteria in Europe». Glucose tolerance and mortality: comparison of WHO and American Diabetes Association diagnostic criteria, *Lancet*. 1999, vol. 354: 617-621.( 2013)
- [88] GABRIEL C., 1999-la truffe, la terre, la vie du labo au terrain .Ed. INRA .Pars.
- [89] SHAVIT E., SHAVIT E., - «The Medicinal Value of Desert Truffles». Springer Berlin Heidelberg, 323-340 p. (2014)

- [90] MANDAVILLE J.P., -« Bedouin ethnobotany: plant concepts and uses in a desert pastoral world» University of Arizona, Press, 325 p. (2011)
- [91] Volpato, G., Rossi, D., Dentoni, D, «A reward for patience and suffering : Ethnomycology and commodification of desert truffles among Sahrawi refugees and nomads of Western Sahara» *Econ Bot* XX(X) :1-14, Published online by The New York Botanical Garden Press, Bronx., NY 10458-5126. (2013)
- [92] BADALYAN S., -« Medicinal aspects of edible ectomycorrhizal mushrooms», *Soil biology* 34, Chapter 18. (2012)
- [93] SINGDEVSACHAN S-K., AUROSHREE P., MISHRA J., BALIYARSINGH B., TAYUNG K., THATOI H., - «Mushroom polysaccharides as potential prebiotics with their antitumor and immunomodulating properties», A review. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, vol.7:1-14. (2006)
- [94] SANCHEZ M-P., - «Polysaccharides ayant une activite immunomodulatrice chez les champignons indigènes du Québec». Thèse en vue d'obtention de grade doctorat, Université Laval de Québec, 119p. (2006)
- [95] DIB S., - « Etude de pouvoir antimicrobien et mycorrhizien de deux espèces de Terfez : *Tirmaniapinoi* (Maire) Malençon et *Terfezia leptoderma* Tul », Thèse de Doctorat, Université d'Oran Es-Senia, Algérie, 205p.( 2012)
- [96] KHAJASTCH S.M.B., AMIRI L., SHCIKHZADEH F., «Effect of the alcoholic extract of *Terfaziaboudieri* on reproductive hormones in male rats», *International Journal of pharmacy and Biological Science*, vol. 3(2):517-522. (2013)
- [97] AL-DAMEGH M-A., - «*Tirmania (Zubaidi)* and *Terfazia (Khallasi)* Fungi preparation method modulates body and testicular weights and blood and testicular testosterone concentration in Albino Rats», *Journal of American science*, vol., 10 (6).( 2104)
- [98] MEKAWAY A.A.I., - «*Terfaziaboudieri* as sources of anti-tumor and antiviral agent», *World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*, vol. 4(5): 294-315. (2015)
- [99] SHAVIT E., -«Truffles Roasting in the Evening Fires: Pages from the History of Desert Truffles». *Medicinal mushrooms*, vol. 3 (1) : 18-23. (2008)

- [100] Janakat S., Al Fakhiri, S., Sallal, A., «A promising peptide antibiotic from *Terfezia claveryi* aqueous extract against *Staphylococcus aureus in vitro*». Wiley inter science phytoterapy research, 18: 10-813.
- [100] Janakat, S. M., Al-Fakhiri, S. M., & Sallal, A. K. J. «Evaluation of antibacterial activity of aqueous and methanolic extracts of the truffle *Terfezia claveryi* against *Pseudomonas aeruginosa*». *Saudi medical journal*, 26(6), 447-450. (2005)
- [101] Gouzi H., Belyagoubi L., Abdelali K.N., Khelifi A, «*In vitro* antibactériel activities of aqueous extracts from Algeria desert truffles (*Terfezia* and *Tirmania*, ascomycetes) against *Psodomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*». *Into J Med Mushrooms*, 13(6) : 553-558. (2011)
- [102] Dogan H.H., Ayden S., «Determination of antimicrobial effect, antioxidant activity and phenolic contents of desert truffles in Turkey». *Afr J Traduit complément alterne Med*, vol 10 (4): 52–58. (2013)
- [103] Saddiq, A. A., Yousef, J. M., Mohamed, A. M., & Danial, E. N., « *In vitro* and *in vivo* safety evaluation of *Terfezia claveryi* ruiting bodies extract». *Romanian Biotechnological Letters*, 20(5), 10885-10892. (2015).
- [104] Neggaz, S., Fortas, Z., Chenni, M., El Abed, D., Ramli, B., & Kambouche, N., «In vitro evaluation of antioxidant, antibacterial and antifungal activities of *Terfezia claveryi* Chatin». *Phytothérapie*, 1-7. (2015).
- [105] GAO, J. M., Zhang, A. L., Chen, H., & Liu, J. K. «Molecular species of ceramides from the ascomycete truffle *Tuber indicum*». *Chemistry and physics of lipids*, 131(2), 205-213. (2004).
- [106],Hannan, M. A., Al-Dakan, A. A., Aboul-Enein, H. Y., & Al-Othaimen, A. A. «Mutagenic and antimutagenic factor (s) extracted from a desert mushroom using different solvents». *Mutagenesis*, 4(2), 111-114. (1989).
- [107] Wells, P. «Simply truffles: recipes and stories that capture die essence of die black traffics». Harper Collins Publishing, New York. (2011)
- [108] Hall, I., Brown, G.T., Zambonelli, A. Taming the Truffle. « The history, Lore and science of the ultimate mushroom». Ed. Timber Press. Oregon U.S.A., 304 p. (2007)

- [109] Luque de Castro, M.D., Pricgo-Capote, F. « Soxhlet extraction : past and present panacea ». *J Chromatography.*, 1217 : 2383-2389. (2009)
- [110] Schantz, M.M., Nichols, J.J., Wise, S.A. « Evaluation of Pressurized Fluid Extraction for the Extraction of Environmental Matrix Reference Materials». *Anal. Chem.*, 69: 4210-4219. (1997)
- [111] Shu, Y.Y., Lao, R.C., Chiu, C.H., Turfle, R. « Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Sediment Reference Materials By Microwave-Assisted Extraction ». *Chemosphere.*, 11: 1709-1716. (2000)
- [112] Bruneton, J. « Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales ». 4' Ed. Lavoisier., 1289 p.
- [113] Rahal A. « Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle Nationale ». 4ème édition, Alger .116 p. (2005).
- [114] Ammari H., Benslimani A., Rahal K., Tali Maamar H. « Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS ». Ministère de la santé, de la population et de la réforme hospitalière. 4ème Ed. Algérie, p: 84. (2005)
- [115] Clinical and laboratory Standards Institute., a. Mo2-A10. « Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests ; approved standards : 10th ed ». CLSI, Wayne, PA. (2005)
- [116] Fernandez, X., Chemat, F. *La chimie des huiles essentielles*. Ed. Vuibert, Paris, 288p. (2012)
- [117] Annie, S., Arun, S., Kuppusamy, R. et Issac, S. R. O.. « In Vitro Antioxidant Studies on the Benzyl Tetra Isoquinoline Alkaloïde Berberine". *Indian Biology and Pharmacology Bulltin*, 29(9) : 1906-1910. (2006)
- [118] Zoubiri S et al.«Chemical composition and larvicidal activity of AlgerianFoeniculum vulgare seed essential oil. *Arabian Journal Of Chemistry*».2014; 7:480-485.
- [119] Macheix JJ, Fleuriet A and Jay-Allemand C. *Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique*. Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, 2005, p. 4-5.

- [120] Marston, Andrew Hostettmann, Kurt “Separation and quantification of flavonoids” Andersen, Ø. M. & Markham, K. R. Flavonoids: CRC Press. 2006, p. 1-36
- [121] Amarowicz R., Troszyńska A., Shahidi F. «Antioxidant activity of almond seed extract and its fractions». *Journal of Food Lipids*, 12: 344–358. (2005)
- [122] Budic-letoc, I., Lovric, T., Pezo, I., Klujuzuric, J.G. «Study of dynamics of polyphenol extraction during traditional and advanced maceration processes of the babic grape variety». *Food Technology and Biotechnology*, 43(1): 47-53. (2005).
- [123] Neggaz. S «Etude des activités antimicrobiennes et antioxydantes des truffes du désert d’Algérie et criblage chimique de leurs substances bioactives. », 2016
- [124] Smith, R. I., Cohen, S. M., Doull, J., Feron, V. J., Googman, J. I., Marnett, L. J., Portoghese, P. S., Waddell, W. J., Wagner, B. M. et al. «A procedure for the Safety evaluation of natural complexes used as ingredients in food». *Essential oils, Food Chem. Toxicol*, 43; 345-363. (2005).
- [125] Al-Laith, A.A.A. «Nutritional and Antioxidant Properties of the White Desert Truffle *Tirtnania nivea* (Zubaidi). In Kagan-zur, V., Morte, A., Roth-Bejerano, N., Sitrit, Y., Chapter 18. Desert truffle, Phylogeny, Physiology, Distribution and Domestication». Springer-Verlag Berlin Heidelberg, London, 397p. (2014)
- [126] Hu, S.G., Li, L., He, X.W. «Solid-phase extraction of esculetin from the ash bark of Chinese traditional medicine by using molecular imprinted polymers». *Journal of Chromatography A*: 31-37. (2005).
- [127] Iwueke, A.V., Nwodo, O. F.C., 2008. «Antihyperglycaemic effect of aqueous extract of *Daniella clivai* and *S'areocephalus laefolius* roots on key carbohydrate metabolic enzymes and glycogen in experimental diabetes». *Biokemistri.*, 20: 63 - 70.
- [128] Smyth, T., Ramachandran, V. N., Smyth, W. F. «A study of the antimicrobial activity of selected naturally occurring and synthetic coumarins. *International journal of antimicrobial agents*». 33: 421 - 426, (2009)
- [129] Manach, C.; Williamson, G.; Morand, C.; Scalbert, A.; Rémésy, C. «Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans». I. Review of 97 bioavailability studies. *Am. J. Clin. Nutr* ; 81 : 230S-242S , (2005)

- [130] AIT BAZIZ.H & CHEMALI.A « Evaluation de l'activité antioxydante et de l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique d'une plante médicinale locale » 2017
- [131] Sulaiman S.F., Sjak A.B., Ooi K.L and Supriatno Seow E.M. « Effect of solvents in extracting polyphenols and antioxidants of selected raw vegetables». *Journal of food composition and analysis*, 24: 506-515. (2011).
- [132] Gomez-Caravaca, A.M., Gomez-Romero, M., Arraez-Roman, D., Segura-Carretero, A., Fernandez-Gutierrez, A. «Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees». *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*: 1220-1234. (2006).
- [133] PONCE A.G., FRITZ R., DE LVALLE C. ET ROURA S.I. « Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard». *Lebensm. - Wiss.u.-Technol*, 36:pp679-684, (2003)
- [134] Shan B, Cai Y Z, Brooks J D et Corke H. «The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts». *International Journal of Food Microbiology*, 117, 112-119, (2007).
- [135] Tian F Li B, Ji B, Yang J, Zhang G, Chen Y et Luo Y. «Antioxidant and antimicrobial activities of consecutive extracts from *Galla chinensis*: The polarity affects the bioactivities». *Food Chemistry*, 113, 173-179, (2009)
- [136] Turkmen N, Sari F Y et Velioglu S. « Effects of extraction solvents on the concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin-Ciocalteu methods». *Food Chemistry*, 99, 835-841, (2006).
- [137] Hayouni E, Abedrabba M, Bouix. M et Hamdi H. « The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L». fruit extracts. *Food Chemistry*, 105 (3), 1126-1134, (2007).
- [138] Falleh H, Ksouri R, Chaieb K, Karray-Bouraoui N, Trabelsi N, Boulaaba M et Abdelly C. « Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L». organs, and their biological activities. *C. R. Biologies*, 331, 372-379, (2008).



- [139] Georgantelis, D., Ambrosiadis, I., Katikou, P., Blekas, G et Georgakis, S A. « Effect of rosemary extract, chitosan and  $\alpha$ -tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4 °C». *Meat Science*, 76, 172-181, (2007).
- [140] Boussaada O, Chriaa J, Nabli R, Ammar S, Saidana D, Mahjoub A M, Chraeif I, Helal A N et Mighri Z. «Antimicrobial and antioxidant activities of methanol extracts of *Evax pygmaea* (Asteraceae) growing wild in Tunisia». *World J Microbiol Biotechnol*, 24, 1289-1296, (2008).
- [141] Hulin V., Mathot A.G., Mafart P. et Dufossé L. «Les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles et composés d'arômes ». *Sciences des aliments*, 18: 563-582, (1998).
- [142]. Cox SD, Mann CM, Markham JL, et al. «The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). » *J Appl Microbiol* 88:170-175, (2000)
- [143] Zhiri A., Baudoux. D. «Huiles Essentielles Chémotypées et leurs synergies. Inspir Development. 80 pages. 2005.
- [144] Akiyama, H., Fujii, K., Yamasaki, O., Oono, O. and Iwatsuki, K. « Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*». *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48 (4): 487-491, (2001).
- [145] Funatogawa, K., Hayashi, S., Shimomura, H., Yoshida, T., Hatano, T., Ito H. and Hirai, Y. «Antibacterial activity of hydrolysable tannins derived from medicinal plant against *Helicobacter pylori*». *Microbiology and Immunology*, 48(4): 251-261, (2004).
- [146] Scalbert, A. «Antimicrobial properties of tannins». *Phytochemistry*, 30: 3875- 3883, (1991).
- [147] CELIMENE C.C., MICALES J.A., FERGE L. and YOUNG R.A. « Efficacy of pinosylvins against white rot and brown rots fungi. » *Holz forschung*, 5.3 :pp491- 497, 1999.
- [148] Mekri .A & Maiouf. S « Extraction, caractérisation, activité antibactérienne et antioxydante des huiles essentielles des graines de fenouil (*Foeniculum vulgare*) » ,2018
- [149] Gabriela, P., Zrira, S., Boutakiout, A., Ungureanu, O., Simion, D., Chelaru, C. et Gabriel, L. « CHEMICAL COMPOSITION, ANTIOXIDANT ANTiANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS FROM MOROCCAN AROMATIC HERBS», *Revue Roumaine de Chimie*. 58 (11-12) : 891-897, (2013)

[150] Kivrak, L, «Analytical Methods Applied to Assess Chemical Composition, Nutritional Value and In Vitro Bioactivities of *Tefezia olbiensis* and *Tegezia clanyi* from Turkey». *Food Anal. Methods.*, 8:1279-1293, 2015.

[151] Chellal A, Lukasova E. “ Evidence for antibiotics in the two Algerien truffles *Terfezia* and *Tirmania*.” US National Library of Medicine National Institutes of Health 1995

[152] Aldebasi , Salah M, Khadri H “Novel antibacterial activity of *Terfizia claveryi* aqueous extract against clinical isolates of corneal ulcer” ResearchGate. 2013

[152] Rached, W. « Evaluation du potentiel antioxydant de plantes médicinale et analyse Phytochimique ». Thèse Magister. Oran : Université Es-Sénia. (2009).

[153] Wong SP, Leong LP, William-Koh JH “Antioxidant activities of extracts of selected plants”. *Food Chem* 99: 775–83(2006)

[154] Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Vasseur J., Cazin M., Cazin J.C. and Pinkas M. “Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations”. *Arzneimittle Forshing*. 46 (11):1086-1089. (1996).11

## *Liste des figures*

<b>figure</b>	<b>Titre</b>	<b>page</b>
<b>I.1</b>	Caractérisation morpho-anatomique de <i>Tirmania nivea</i> collectée à Oued M'ya (Ouargla).	<b>7</b>
<b>I.2</b>	Craquèlement du sol sableux indiquant la présence des ascocarpes de truffe	<b>11</b>
<b>II.1</b>	La truffe de Sahara.	<b>19</b>
<b>II.2</b>	Montage d'extraction de type soxhlet.	<b>20</b>
<b>II.3</b>	Extraction liquide-liquide dans une ampoule à décanter.	<b>22</b>
<b>II.4</b>	Protocole de fractionnement par extraction liquide-liquide.	<b>22</b>
<b>II.5</b>	Principe de l'extraction par macération.	<b>23</b>
<b>II.6</b>	Extraction de <i>T.claveryi</i> par macération.	<b>23</b>
<b>II.7</b>	Protocole de fractionnement par extraction liquide-liquide.	<b>24</b>
<b>III.1</b>	les différents extraits de <i>Terfezia claveryi</i> obtenus par extraction au soxhlet	<b>33</b>
<b>III.2</b>	les différents extraits de <i>Terfezia claveryi</i> obtenus par macération.	<b>34</b>
<b>III.3</b>	Teneur en polyphénols totaux de l'extraits Obtenus par soxhlet et macération	<b>36</b>
<b>III.4</b>	Teneur en flavonoïdes de l'extrait Obtenu par soxhlet et macération.	<b>38</b>
<b>III.5</b>	Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration des échantillons obtenus par soxhlet	<b>44</b>
<b>III.6</b>	Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration des Échantillons obtenus par macération	<b>45</b>
<b>III.7</b>	Spectre de F. acétate d'éthyle.	<b>50</b>

## *Liste des tableaux*

<b>tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>I.1</b>	Caractères distinctifs entre les genres <i>Tirmania</i> et <i>Terfezia</i> .	<b>6</b>
<b>I.2</b>	les caractéristiques morphologiques et anatomiques des terfès récoltés dans le sud Algérien.	<b>7</b>
<b>I.3</b>	Distribution des terfez dans les pays méditerranéens.	<b>8</b>
<b>I.4</b>	Distribution des terfez dans les pays du Moyen-Orient.	<b>9</b>
<b>I.5</b>	Distribution du terfèze sur d'autres continents .	<b>9</b>
<b>I.6</b>	Composition chimique et minérale de <i>Terfezia claveryi</i> , <i>Tirmania nivea</i> et <i>Tirmania pinoyi</i> .	<b>13</b>
<b>I.7</b>	Diamètres des zones d'inhibitions (mm) des différents extraits bruts de <i>T. boudiri</i> et <i>T pinoyi</i> testés sur des espèces bactériennes.	<b>16</b>
<b>I.8</b>	Concentrations minimal d'inhibitrice et bactéricide de l'extrait aqueux de <i>T. claveryi</i> .	<b>17</b>
<b>I.9</b>	les valeurs d'IC50 des différents extraits de <i>T. nivea</i> .	<b>17</b>
<b>II.1</b>	les souches microbiennes testées.	<b>19</b>
<b>III.1</b>	Rendement et caractéristiques des l'extraits obtenus par un Soxhlet	<b>33</b>
<b>III.2</b>	Rendement et caractéristiques des l'extraits obtenus par macération	<b>34</b>
<b>III.3</b>	criblage chimique des métabolites secondaires de <i>Terfezia claveryi</i>	<b>35</b>
<b>III.4</b>	Les teneurs en polyphénols et flavonoïdes des extraits obtenus par soxhlet et par macération	<b>37</b>
<b>III.5</b>	L'échelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne.	<b>39</b>
<b>III.6</b>	Diamètre des zones d'inhibitions en (mm) obtenu avec les souches testé extraits obtenus à l'aide d'un soxhlet.	<b>39</b>
<b>III.7</b>	Diamètres des zones d'inhibitions en (mm) obtenus avec les souches testés pour les extraits obtenus par macération	<b>40</b>
<b>III.8</b>	Les différentes concentrations minimales inhibitrices ( <b>CMI</b> ) en (mg/ml) obtenus par extraction au soxhlet.	<b>42</b>
<b>III.9</b>	Les différentes concentrations minimales inhibitrices ( <b>CMI</b> ) en (mg/ml)	<b>42</b>

	obtenus par extraction de macération.	
<b>III.10A</b>	les pourcentages d'inhibition et l'IC <sub>50</sub> des extraits obtenus par soxlet	<b>43</b>
<b>III.10B</b>	les pourcentages d'inhibition et l'IC <sub>50</sub> des extraits obtenus par macération	<b>43</b>
<b>III.11</b>	Interprétation de Spectre de l'extrait chloroformique	<b>46</b>
<b>III.12</b>	Interprétation de Spectre de l'extrait aqueux	<b>46</b>
<b>III.13</b>	Interprétation de Spectre de l'extrait aqueux	<b>47</b>
<b>III.14</b>	Interprétation de Spectre de F. aqueuse	<b>47</b>
<b>III.15</b>	Interprétation de Spectre de F. éther de pétrole	<b>47</b>
<b>III.16</b>	Interprétation de Spectre de F. hexane	<b>47</b>
<b>III.17</b>	Interprétation de Spectre de F. acétate d'éthyle	<b>48</b>
<b>III.18</b>	Interprétation de Spectre de l'extrait aqueux	<b>48</b>
<b>III.19</b>	Interprétation de Spectre de F. aqueuse	<b>48</b>
<b>III.20</b>	Interprétation de Spectre de F. éther de pétrole	<b>49</b>
<b>III.21</b>	Interprétation de Spectre de F. butanol	<b>49</b>
<b>III.22</b>	Interprétation de Spectre de F. acétate d'éthyle	<b>49</b>

*Liste des symboles et Abréviations.*



**ATCC**: American Type Culture Collection

**AC** : Absorbance du contrôle.

**AE** : Absorbance de l'échantillon

**ADN** : acide désoxyribonucléique

**AlCl<sub>3</sub>** : chlorure d'aluminium

**BHA** : Hydroxyanisolebutylé.

**BHT** : Hydroxytoluènebutylé.

**CMI** : Concentration minimale inhibitrice.

**CMB** : Concentration minimale bactéricide.

**CHCl<sub>3</sub>** : Chloroforme.

**DMSO** : diméthylsulfoxyde

**DPPH**: 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl.

**FeCl<sub>3</sub>** : Chlorure de fer.

**Faq** : fraction aqueux

**FTIR** : Infra-Rouge à Transformée de Fourier

**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** : Acide sulfurique.

**HCl** : Acide chlorhydrique.

**HPLC** : La chromatographie liquide à haute performance

**IC<sub>50</sub>** : Concentration inhibitrice a 50%

**G.M.H** : Gélose Mueller-Hinton

**NH<sub>4</sub>OH** : Ammoniaque.

**N-but** : N- butanol

**UV-VIS** : ultraviolet –visible

**EAG/gE** : équivalent acide gallique par gram échantillon

**Mg EQ/ gE** : milligramme d'équivalent de Quercétine par gramme d'extrait