



Université Mohamed Khider de Biskra  
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie  
Département des sciences de la nature et de la vie  
Filière : Sciences biologiques

Référence ..... / 2021

# MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Microbiologie Appliquée

---

Présenté et soutenu par :  
**Boucheri Zakiya**

Le : jeudi 8 juillet 2021

## Activité antioxydant des espèces du genre *Terfezia*

---

### Jury :

Dr.	Guellati Cherifa	MAA	Université Mohamed Khider de Biskra	Président
Dr.	Amairi Toufik	MAA	Université Mohamed Khider de Biskra	Examineur
Dr.	Ben Meddour Tarek	MCA	Université Mohamed Khider de Biskra	Encadreur

Année universitaire : 2020 – 2021

## Remerciements

عملا بقوله تعالى: "ولئن شكرتم لأزيدكم".

Nous te louons, Seigneur, louons les reconnaissants, nous te louons, Seigneur louons ceux qui se souviennent, nous te louons, Seigneur, merci beaucoup, bien Félicitations pour cela, comme nous vous remercions pour votre succès avec nous et pour Nous avoir donné force et détermination ce travail, que nous espérons que vous accepterez de notre part.

واقترء بقول الرسول صلى الله عليه وسلم: "من لم يشكر الناس لم يشكر الله".

Des couronnes d'amour et des chants de remerciement et de gratitude chantent au rythme de nos cœurs, Pour tous ceux qui ont contribué et donné un coup de main.

Tout d'abord, nous tenons à exprimer nos remerciements et notre gratitude au " Dr.Ben Meddour tarek " pour le grand effort et l'intérêt qu'il nous a donné afin de mener à bien cette recherche Grâce à ses précieux conseils et orientations, il ne les a pas lésinés malgré ses nombreuses préoccupations Nous adressons également nos sincères remerciements à nos professeurs pour leur aide, qui nous a beaucoup aidé.

Nous ne manquons pas non plus d'adresser nos salutations d'appréciation à tout le personnel du Laboratoire de l'Université centrale Pour leur bonne réponse et leur coopération avec nous en particulier "Khadijda" .

À tous ceux qui ont contribué avec nous avec un mot gentil de loin ou de près.

A tous ceux qui cherchent à allumer une bougie sur une route ou à poser une brique pour hisser le drapeau.

À tous les diplômés de la Direction de la microbiologie

Classe de 2021.

\* Merci \*

## Dédicaces

Au pays du million de martyrs, mon cher pays, l'Algérie. À la maison des prophètes et des messagers, Jérusalem.

A l'oeil qui a quitté le monde sans que mes yeux soient satisfaits...

A l'âme Celle qui habite mon âme...

A qui ses prières accompagnent tout mon chemin Voici \*ma mère\*.

A celui qui a planté en moi l'amour de l'étude, du travail et de l'assiduité Au grand et au patient... à mon autre être... \*Papa\* Cher.

Que Dieu vous fasse miséricorde et vous accorde la paix.

A qui tu as planté dans mon sang... dans mes battements de coeur, en moi et entre mes côtes... et dans Mes rêves... à mon invitation répondue.

A celle qui a oublié son temps et vécu mon temps... A la sœur de mon âme.

Au sourire silencieux... "Messaouda".

A la résidence et au domicile de l'innocence... "Saleh".

A Rihana le coeur... "Fatima".

Au printemps du coeur et à la lumière de l'oeil... "Mon oncle".

A celle qui a touché les coeurs et occupe chaque place... "Ma tante".

Aux ténèbres de la vie, "ma grand-mère"...

que Dieu prolonge sa vie.

A la race de l'affection et de la tendresse... aux oncles et tantes.

A la source de l'innocence et de l'amour, mes neveux

Aux maris de mes sœurs, à chacun des membres de la famille Boucheri, petits et grands.

A ceux avec qui les jours m'ont rapproché...

et les coeurs qui leur sont attachés... à ceux que j'adore Bref, "Amel" Nour "Sarah"

"Messaouda" "Layla" Salma" A tous vos proches sans exception.

A tous ceux que je connais de près ou de loin.

Je dédie cet humble effort.

## Sommaire

Remerciements	
Dédicace	
Sommaire	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Listes des abréviations	
Introduction .....	01

### Première partie : Partie Bibliographique

#### Chapitre 1

I.1. Généralités sur les truffes .....	04
I.2. Importance des truffes .....	05
1.3. Position taxonomique .....	07
1.4. Organisation morphologique des truffes marron .....	07
I.5. Composition des truffes.....	09
1.6.Répartition géographique des truffes du désert .....	09
1.6.1. Distribution géographique mondiale.....	09
1.6.2. Distribution géographique en Algérie.....	10
1.7.Activité antioxydante des truffes .....	10
1.8.Classification des antioxydants.....	11

### Deuxième partie :Partie expérimentale

#### Chapitre 2. Matériel et Méthodes

2.1. Matériel .....	13
2.2. Méthodes.....	15
2.2.1.Préparation des extraits .....	17

2.2.2. Activités antioxydants.....	19
------------------------------------	----

### **Chapitre 3. Résultats et Discussion**

Résultats et Discussion.....	23
Conclusion .....	38
Références Bibliographiques.....	40
Résumés.	

## Liste des tableaux

Tableau 1.1. Caractères distinctifs du genre <i>Terfezia</i> .....	08
Tableau 2.1. Le matériel utilisé. ....	13
Tableau 2.2. Types de truffes étudiées.....	15
Tableau 2.3. Les zones de récolte de truffes étudiées.....	16
Tableau 2.4. Les méthodes utilisées.....	16

## Liste des figures

Figure 3.1. Productivité et activité antioxydante de différents extraits de <i>T. claveryi</i> .....	24
Figure 3.2. Rendements d'extraction, détermination des composés phénoliques , des flavonoïdes, des tanins et de l'activité antioxydante des truffes de <i>T. boudieri</i> .....	25
Figure 3.3. Activités antioxydantes des extraits de <i>T. olbiensis</i> (A) et <i>T. claveryi</i> (B) par blanchiment au $\beta$ -carotène, DPPH, ABTS+.....	29
Figure 3.4. Effet de piégeage (%) de <i>T. boudieri</i> et des standards sur le DPPH.....	32
Figure 3.5. Valeurs EC50 des activités antioxydantes pour les extraits méthanoliques de truffes des genres <i>Terfezia</i> et <i>Tirmaniaa</i> .....	36

## Liste des abréviations

ABTS. Acide 2,2'-azino-bis-3-éthylbenzthiazoline-6-sulfonique.

AChE . Acétylcholinestérase.

BChE . Butyrylcholinestérase.

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

BHA. L'hydroxyanisole butylé.

FCR . Réactif de Folin-Ciocalteu.

BHA .Hydroxyanisole butylé.

BHT .Hydroxytoluène butylé.

GA.L'acide gallique.

FeCl<sub>3</sub>. 6H<sub>2</sub>O.Chlorure ferrique, hexahydraté.

K<sub>3</sub>Fe(CN<sub>6</sub>) . Le ferricyanure de potassium.

TCA. L'acide trichloracétique .

TPTZ . 2,4,6-tripyridyl-s-triazine.

Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> . Carbonate de sodium .

K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> . Persulfate de potassium.

# **Introduction**

### Introduction

La truffe est définie dans le American Heritage Dictionary of English Language comme "l'un des divers champignons charnus, ascomycètes et comestibles, principalement du genre *Tuber*, qui poussent sous terre sur ou près des racines des arbres et sont appréciés comme un mets délicat" (Pickett, 2000). Selon les mycologues, la truffe est la structure reproductive d'un champignon mycorhizien hypogé (Maciarello et Toker, 1994). Elle est réservée aux sporocarpes des Ascomycètes - les plus célèbres étant les corps fructifères des champignons *Tuberaceae*, qui sont des produits aromatiques de la forêt européenne (Giovannetti et al., 1994). Sur le plan économique, on dit que la truffe est l'aliment le plus cher, le plus délicat et le plus étrange que l'homme ait jamais connu. C'est un aliment lié à l'aristocratie et réservé aux riches. Elle est également connue pour être un trésor du biome profond (Maciarello et Toker, 1994).

Les truffes sont des fruits historiquement connus et elles étaient consommées par différents peuples il y a trois mille ans (Bokhary et al., 1990). Il est intéressant de noter que les truffes étaient consommées par les anciens Égyptiens et par les Européens dès le VI<sup>e</sup> siècle av. (Giovannetti et al., 1994). La truffe est mentionnée dans le Coran et dans la Bible comme un fruit comestible dans l'histoire de Jacob (troisième patriarche des Juifs, fils d'Isaac et de Rebecca, qui a vécu vers 1600 avant J.-C.). Les Arabes utilisaient la truffe comme champignon comestible et comme médicament pour les infections oculaires au début de l'an 600 de notre ère (Musselman, 2000).

Les truffes sont généralement considérées comme peu communes, elles sont peut-être plus communes qu'on ne l'estime, mais elles sont généralement difficiles à trouver. La raison pour laquelle elles sont difficiles à trouver est qu'elles poussent généralement sous différents types d'arbres et sous terre (McIlvaine et Macadam, 1973). Elles sont également plus courantes dans les sols sablonneux et près des racines des arbres (Cooke, 1895). En outre, les truffes sont souvent trouvées en association avec des plantes vasculaires, avec lesquelles elles établissent une relation mycorhizienne (Moore-Landecker, 1996).

En ce qui concerne les caractéristiques physiques, les truffes ont un diamètre d'environ deux pouces, elles sont soit lisses soit ridées en dessous, d'après l'aspect extérieur, elles sont plutôt lisses avec une couleur rouge-brun pâle ; tandis qu'à l'intérieur il y a une texture compacte, ressemblant aux pommes de terre mais plus molle, avec une couleur blanc marbre. (McIlvaine et Macadam, 1973).

Les truffes se distinguent également comme des fruits odorants, ils ont une odeur et une saveur fortes, ce qui les rend très attractifs pour les animaux, qui suivent l'odeur et creusent jusqu'à ce qu'ils trouvent les fruits (Webster, 1970). Ces caractéristiques d'odeur et de saveur fortes sont attribuées aux composants volatils, plutôt qu'à leurs voies de biosynthèse (Maciarelo et Toker, 1994).

On estime que les truffes comptent plus de cent vingt espèces, dont cinq appartiennent au genre *Tuber*. Les *Tuber* poussent principalement en Europe et sont souvent des truffes de forêt. Bien que la plupart de ces espèces appartiennent à l'Europe, elles sont largement répandues dans le monde entier. Cependant, on les trouve rarement en Amérique du Nord (Cooke, 1895). Les autres espèces connues sont *Tirmania* et *Terfezia* qui sont communément appelées truffes du désert. truffe du désert.

Les truffes sont principalement importantes en tant que source vitale de nourriture pour les animaux de la forêt, mais elles sont des gourmets importants dans de nombreux pays, en particulier dans l'industrie alimentaire, les restaurants et les marchés (Roman et Boa, 2004).

Les truffes ne sont pas une nourriture pour les pauvres et les prix varient selon les espèces, et même d'une saison à l'autre (Saleh et Byong,2006).

Un antioxydant est une substance qui, lorsqu'elle est présente à de faibles concentrations par rapport à celles d'un substrat oxydable, retarde ou empêche de manière significative l'oxydation de ce substrat . Les antioxydants naturels d'origine alimentaire comprennent les composés phénoliques et polyphénoliques, les chélateurs, les vitamines antioxydantes (notamment C et E) et les enzymes, ainsi que les caroténoïdes et la carnosine. Si les baies foncées, la grenade et le noni sont des sources courantes d'antioxydants, les principales sources d'antioxydants sont l'ail, le brocoli, le chou, les oignons, le chou-fleur, les betteraves rouges et d'autres aliments . Le café et le thé vert sont également connus pour avoir une concentration élevée de ces antioxydants .

Les antioxydants présents dans les aliments peuvent provenir de composés présents naturellement dans les aliments ou de substances formées pendant la transformation (Shahidi et Wanasundara, 1992). Au cours du processus normal d'oxydation, les antioxydants forment des radicaux libres hautement réactifs. Ils forment également de telles espèces à partir des radiations ionisantes, jouant ainsi un rôle important dans notre vie. Ces radicaux peuvent facilement réagir avec d'autres molécules et les endommager.

**Partie**  
**Bibliographique**  
**- Chapitre 1**

### 1.1. Généralités sur les truffes

Truffe, également connus sous le nom « diamant noire » (Tang et al., 2008) est un champignon ascomycète hypogé et mycorhizien, appartenant au genre *Tuber*, comestible et très appréciée à l'échelle mondiale. Les truffes vivent en symbiose en formant souvent, avec les racines des plantes vasculaires des mycorhizes. notamment les plantes appartenant à la famille des Cistacées afin d'accomplir leur cycle de vie.

Leur forme est généralement globuleuse, avec une face extérieure ridée. Le mot *terraetufule*, premier terme donné pour désigner la truffe, est issu de la ressemblance physique entre la truffe et le tuf qui constitue une pierre poreuse typique de l'Italie centrale. Par la suite, ce mot fut transformé en « tertufole » et « tartufo » en Italie, « truffe » en France, « trüffel » en Allemagne, truffle en Angleterre.

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

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 »).

Le terme classique des truffes du désert «Al-Kamah» signifie «couvert» ou «caché», alors que le nom «Al-Faga'a» correspond à un craquellement du sol au-dessus du corps fructifère suite à son gonflement.

Le nom scientifique du genre *Terfezia* dériverait de «Terfez» ou «Terfâs» qui est une appellation maghrébine, mais suggère qu'il peut être dérivé de Latin «*Terrae fex*» signifiant «production de la terre». Les espèces d'Afrique ou d'Asie sont souvent nommées selon les fonctionnaires coloniaux ou des scientifiques.

Aucun environnement n'est requis pour les truffes mais leur répartition géographique étaient limitées aux zones arides et semi-arides, principalement dans les pays du bassin méditerranéen, en Iraq, Koweït, le Sahara, l'Arabie Saoudite et une partie du Maghreb (Khanqa, 2006), où la plupart sont de genre *Terfazia* et *Tirmania*, ces derniers aussi nommés «truffes du désert».

En outre, certaines espèces de truffes ont été trouvées en Europe, principalement le genre *Tuber* : *Tuber albidum*, *T. asa*, *T. excavatum*, *T. rufum*, *T. uncinatum* en Afrique du Sud, en Amérique du Nord, au Japon et en Chine.

Le genre *Tuber* se développe sous des climats tempérés qui présentent une alternance de saisons, l'éventail des amplitudes que peuvent prendre les variables climatiques des zones truffières est important. La truffe genre *Tuber* se trouve généralement entre les 44° et 47° de latitude Nord et 100 à 1000 mètres d'altitude (Bezziou et Khelfaoui, 2016).

Alors que, le développement des truffes dans les déserts chauds se produit après la chute des pluies qui annoncent la fin de l'hiver et le début de la saison chaude, avec une répartition temporelle spécifique de quantités de précipitations le long de l'année, mais aussi en fonction du type de sol, de climat et l'abondance des plantes hôtes. En général, la répartition des espèces de truffe est étroitement liée aux conditions climatiques et édaphiques.

### 1.2. Importance des truffes

Les truffes sont considérées comme l'une des formes les plus anciennes de la nourriture, en particulier dans les régions arides, elles sont utilisées comme un substitut de viande et consommées en grandes quantités en raison de leur valeur nutritive, de leur goût très délicieux et de leur arôme musqué. Elles ont un profil nutritionnel unique d'acide gras insaturé, des vitamines, des minéraux et des protéines.

Le goût et l'arôme typique des truffes est le résultat d'une combinaison inimitable de plusieurs composés organiques volatils, tels que les aldéhydes, les alcools, les cétones, les acides organiques et des composés soufrés sont encore indiqués que les constituants chimiques de ces champignons sont considérés comme responsables de leur arôme typique.

Le bis(méthylthio)méthane, l'hexanal, le 2 et 3-méthylbutanal (aldéhyde) ont été signalés en tant que des composés quantitativement prédominants de la fraction volatile des truffes, ainsi que l'éthanol, le sulfure de diméthyle, l'acétaldéhyde, l'acétone et le 1-propanol, avec des fluctuations quantitatives et qualitatives en fonction des variables telles que le type et l'origine géographique de la truffe.

Cependant que, les composés contenant le soufre ainsi qu'une liste des terpénoïdes, ont été rapportés comme volatiles discriminants liés à l'origine géographique .

En effet, plus de leur valeur nutritionnelle et leur goût très apprécié, les truffes ont également des propriétés curatives .Elles sont utilisées dans la médecine traditionnelle pour le traitement des yeux .

Kagan-zur et al (2013) ont signalé que le jus de truffe du désert, notamment de *Tirmania nivea*, *Terfezia clavaryi* et *Terfezia boudieri*, est utilisé dans le Moyen-Orient pour traiter les maladies des yeux et de la peau. Ils ont montrés également, que dans le Kalahari africain, où la truffe est connue sous le nom « Mahupu » dans la langue setswana du Botswana, est utilisé pour induire la naissance chez les humains et le bétail. Le philosophe et le médecin persan « Ibn Sina » a recommandé l'utilisation de truffes du désert comme un remède pour un certain nombre de maux, tels que la faiblesse, les vomissements et les plaies .

Des études récentes (Kagan-zur et al., 2013) montrent que les truffes représentent une source des composés thérapeutiques avec des activités anti-inflammatoires, antioxydantes, antimicrobiennes, immunosuppresseurs, antimutagènes et les propriétés anti-cancérigènes vaste mais non encore largement exploité.

En outre, des nouvelles études sur les propriétés bioactives des truffes du désert ont également indiqué la présence d'activité antimicrobienne, antivirale, antimutagène, hépatoprotecteur, et des propriétés anti-inflammatoires .

D'autre part, les truffes sont les champignon les plus chères du monde donc d'un intérêt économique très important (Boa, 2004), notamment le genre *Tuber* et *Terfezia* connus comme excellents champignons comestibles .

Le prix de la truffe a dépassé les 1000 euros (680 £) par kilogramme (Liu et al., 2008).

En Arabie Saoudite le coût d'un kg de truffes atteint jusqu'à 200 riyals saoudiens (55 \$) cependant qu'en France, le prix de la truffe avait atteint jusqu'à 200 \$ en 1984. Le coût élevé de la truffe est peut être due à leur carence et à leur rareté pendant la mauvaise saison de récolte (**Bezziou et Khelfaoui,2017**).

### 1.3. Position taxonomique

Les clés de la classification des Terfez selon plusieurs auteurs est basée essentiellement sur les caractéristiques du Péridium (aspect: couleur) et sur celles des spores (forme; ornementation), des caractères complémentaires (forme outille des corps fructifères, coloration de la gléba ; disposition des veines, odeur) .

Selon la classification de (Trappe, 1979). Les Terfez appartiennent à :

L'ordre auquel sont rattachées ces espèces fait toujours l'objet de recherche ; certains auteurs les rattachent à l'ordre des Tubérales, d'autre Pezizales. L'identification de genre est basée sur la propriété des asques par la méthode Chloro-ido-iodure ou réactive de Melzer ; le principe de cette méthode est basé sur la coloration des parois amyloïdes suite au taux et la présence d'amidon dans les parois.

La truffe du désert comprend une quatorze (14) espèces, réparties sur deux espèces principales *Terfezia* et *Tirmania* ; Selon Trappe (1979), le genre *Terfezia* regroupe douze (12) espèces et celui de *Tirmania* est représenté par deux (02) espèces (**Benattia et Messaoudi,2018**)

#### Le genre *Terfezia*

- Terfezia claveryi* (Chatin).
- Terfezia spinosa* (Hark).
- Terfezia longii* (Gilkey).
- Terfezia arenaria* (Moris).
- Terfezia leptoderma* (Tul).
- Terfezia gigantea* (Imai).
- Terfezia decaryi* (Heim).
- Terfezia boudieri* (Chatin).
- Terfezia pfeilii* (Henn).
- Terfezia austroafricana* (Marasas et Trappe).
- Terfezia erimita* (Malençon).

#### Le genre *Tirmania*

- Tirmania nivea* (Desf) Trappe.
- Tirmania pinoyi* (Maire)  
Malençon.

### 1.4. Organisation morphologique des truffes marron

Les truffes du genre *Terfeziaceae* diffèrent des autres familles de l'ordre du *Tuberale* par les points suivants: absence d'un hymenial palissade, c'est à dire d'une barrière extérieure et présence

d'une gléba solide que ce soit complètement fertile ou avec des zones fertiles séparées par d'autres stériles au autrement des veines anatomiquement indifférenciées. Le péridium est lisse et la composition de paroi ascospore est complexe, a signalé présence d'une endospore chez *Terfezia claveryi*. Selon Fortas (1990), on peut résumer les caractères distinctifs de genre *Terfezia* dans le tableau suivant (Sidi Boulouar,2016) :

**Tableau 1.1.**Caractères distinctifs du genre *Terfezia* (Fortas, 1990).

	<b>Critères</b>	<b>Genre de <i>Terfezia</i></b>
<b>Morphologie de l'ascocarpe</b>	Forme	Subglobuleuse à turbinée ou irrégulière.
	Diamètre	2à10cm
	Configuration de la surface	Lisse, glabre
	Couleur externe	Jaune-brunâtre à brun ou brun –noir.
	Structure de la gléba	Solide comportant un réseau de veines stériles blanches délimitant les nodules fertiles jaunâtres à brunâtres.
<b>Péridium</b>	Cuticule externe	hyphes entrelacées ou mêlées à des cellules isodiamétriques.
<b>Asques</b>	Forme	Globuleuse
	Nombre de spores par asque à maturité	5-8
	Arrangement des spores dans l'asque	Irrégulièrement groupées
	Réaction de Melser	Jaune à orange (non amyloïde).
	Arrangement des asques.	Indéhiscents, répartis au hasard dans les tissus.
<b>Spores</b>	Forme	Sphérique
	(Les spores de toutes les	Avec des épines, papilles libres ou

	espèces sont lisses à l'état jeune).	incluses dans un mucilage ou avec un réseau.
--	--------------------------------------	--

### I.5. Composition des truffes

Les compositions chimiques d'une même espèce de truffes diffèrent selon leur région de récolte. Cette diversité est probablement due aux nombreux facteurs environnementaux tels que la quantité de pluie, le temps, les types de sols et les changements climatiques .

En général , les truffes sont très riches en glucides, en protéines avec un contenu important d'acide aminés notamment la méthionine, cystéine, et lysine. Elles contiennent 72% d'eau et 7,6% de fibres, elles sont riches en minéraux tels que le Phosphore, le Calcium, le Magnésium, le Potassium, le Sodium, le Fer, le Zinc, le Soufre, le chlore et le Silicone .

Selon Kagan-zur et al (2013) et Qhanaqa(2006) la teneur en protéines de truffes varie de 19,59 à 27,18%, de 2,81 à 7,42% d'acides gras, 7,2 à 13,02% de fibre brute, 4,64 à 6,39% de cendres et de 1,5 à 5,1 mg/100g d'acide ascorbique à partir de 20% de matière sèche.

Ainsi, la matière sèche des truffes du désert est composée de 20-27% de protéines, 7,5% d'acide gras saturé et insaturé, 60% de glucides et 7-13% de fibre avec 2-5mg/100g d'acide ascorbique(Bezziou et Khelfaoui,2017).

### 1.6.Répartition géographique des truffes du désert

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 (Sidi Boulenouar,2016).

#### 1.6.1. Distribution géographique mondiale

Elle est largement distribuée en périphérie des régions semi-arides à arides voire à climat sub-saharien (Trappe, 1990 ; Morte et al., 2000) autour du bassin méditerranéen (Maghreb : *Delastria rosea* ,*Terfezia arenaria* ,*Terfezia clavaryiet* , *Terfezia eremita*, *Tirmania nivea* *Tirmaniapinoyi* ,*Tuber asa* et *Picoa juniperi* ,en Europe: *Terfezia leptoderma*, *Terfezia olbiensis*

(France) *Terfezia leonis* et *Terfezia arenaria*(Portugal) . Et il a été prouvé que le Moyen-Orient (Egypte:*Tirmania nivea*, *Terfezia claveryi* ,*Picoa juniperi*, *Terfezia claveryi* et *Tirmania nivea*;Bahreïn et Qatar :*Phaeangium Lefebvrei*,*Terfezia claveryi* et *Tirmania nivea*; Jordanie: *Terfezia claveryi*;Syrie: *Terfezia claveryi* ,*Tirmania nivea* et *Tirmania pinoyi*) est l'habitat préféré des truffes du désert :

Certaines espèces se trouvent dans d'autres régions du monde telles que les États-Unis, la Chine, le Japon, l'Afrique du Sud et le Mexique telles que : *Terfezia olbiensis*, *Terfeziagigante*, *Terfezia gigante* et *Terfezia pferlii* (Trappe et al., 2008, 2010; Kovacs et al., 2008 ; Kagan-Zur et Roth-Bejerno, 2008 ; Vazquez Garcia et al., 2002).

### 1.6.2. Distribution géographique en Algérie

En Algérie, on trouve *Terfezia arenaria*,*Tirmania pinoyi* ,*Tirmania nivea* et *Tirmania lefebvrei* poussant dans trois régions (Alsheikh et Trappe, 1983 ; Alsheikh, 1994 ; Fortas, 1990):

- Dans les régions semi –arides du littoral : Mostaganem,Annaba ,Taref.
- Dans les régions semi- arides steppiques : Batna, Msila, Biskra, Djelfa, El- Aricha,Saida, Naama,El-Bayadh.
- Dans les régions sahariennes : Bechar, Tindouf, Ouargla, Tamanrasset, Timimoun, Touggourt.

### 1.7. Activité antioxydants des truffes

Dans certains cas, l'organisme s'en sert pour combattre les infections. Dans d'autres cas, les dommages peuvent concerner les propres cellules de l'organisme. La présence de composés extrêmement facilement oxydables dans le système peut "éponger" les radicaux libres avant qu'ils n'endommagent d'autres molécules essentielles. L'activité antioxydante est une propriété fondamentale importante pour la vie. Il a été démontré que de nombreuses fonctions biologiques, dont l'antimutagénicité, l'anticarcinogénicité et l'antivieillessement, découlent de cette propriété. En outre, de nombreux antioxydants naturels présentent un large éventail d'effets biologiques tels que des effets antibactériens, antiviraux, anti-inflammatoires, antiallergiques, antithrombique et vasodilatateur.

Le mode d'action des antioxydants peut être décrit par les quatre voies suivantes :

1. Réactions de rupture de chaîne, par exemple l'alpha-tocophérol qui agit en phase lipidique pour piéger les espèces réactives de l'oxygène "ROS" radical.
2. Réduction de la concentration des espèces réactives de l'oxygène, par exemple le glutathion.
3. Piégeage des radicaux initiateurs comme la superoxyde dismutase qui agit en phase aqueuse pour piéger les radicaux libres superoxyde.
4. Chelating the transition metal catalysts où un groupe de composés remplit une fonction antioxydante en séquestrant les métaux de transition qui sont des pro-oxydants bien établis. Ainsi, la transferrine, la lactoferrine et la ferritine ont pour fonction de contrôler le stress oxydant induit par le fer, tandis que la céruloplasmine et l'albumine sont des séquestrants du cuivre. séquestrant le cuivre (Saleh et Byong, 2006).

### 1.8. Classification des antioxydants

Le système de défense antioxydant contre le stress oxydatif est composé de plusieurs lignes de phases, et les antioxydants sont classés en quatre catégories en fonction de leur fonction.

- 1) La première ligne de défense est constituée par les antioxydants préventifs, qui suppriment la formation de radicaux libres (enzymes : glutathion peroxydase, catalase ; sélénoprotéine, transferrine, ferritine, lactoferrine, caroténoïdes, etc.)
- 2) Antioxydants piégeurs de radicaux, qui suppriment l'initiation de la chaîne et/ou brisent les réactions de propagation de la chaîne : les antioxydants piégeurs de radicaux.
- 3) Antioxydants réparateurs et de nova (sorne des enzymes protéolytiques, enzymes réparatrices de l'ADN, etc.)
- 4) La quatrième catégorie est une adaptation où le signal de production et les réactions des radicaux libres induisent la formation et le transport de l'antioxydant approprié au bon endroit (Saleh et Byong, 2006).

# **Matériel et méthodes**

## **-Chapitre 2**

## 2. Matériel et Méthodes

### 2.1. Matériel

Dans ce tableau j'ai mis les appareils et produits utilisés dans ces expériences, car nous constatons que certains appareils et produits sont similaires et différent d'une expérience à l'autre.

**Tableau 2.1.** le matériel utilisé.

Article	Matériel
Gouzi et al, 2013	-DPPH 0.1 mM, , TPTZ, ABTS7 mM, Trolox, FeCl <sub>3</sub> , TCA, K <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub> ,K <sub>3</sub> Fe(CN) <sub>6</sub> ,(Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> ) ,BHA, l'acide acétique, GA, échantillon de truffe 5 g ,50 mL de méthanol à 25°C,1,58 mL de H <sub>2</sub> O, 100 µL de réactif FC, Le réactif FRAP de 2,5 ml,Un mélangeur commercial,Une bouteille en verre hermétique,Un papier filtre Whatman No. 1,Un évaporateur rotatif (Büchi Rotavapor R-144, Suisse),Un appareil Thermo Scientific HeλIOS γ UV/Vis,Un spectrophotomètre.
Neggaz et al,2015	-La poudre de truffe séchée de (100 g),Dichlorométhane,Chloroforme et Acétate d'éthyle:500 mL,méthanol 600 mL,DPPH (0,2 mM) ,L'appareil Soxhlet,Un évaporateur rotatif,Une fiole Erlenmeyer,Un papier filtre Whatman No.1 .
Dundar et al, 2011	-Le DPPH, le chlorure ferreux, le monolaurate de polyoxyéthylènesorbitane , l'atocophérol, la Ferrozine , BHA ,TCA,5 g de chaque échantillon de champignons ,L'eau déminéralisée, L'éther de pétrole,1mL de HNO <sub>3</sub> ,1mL de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ,1mL de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ,L'hélium,Tampon acétate (0,05 M),Méthanol,Eau distillée 15% (v/v),Acetonitril,Eau distillée 90% (v/v),L'éthanol, 5 g d'échantillon de <i>T. boudieri</i> ,L'acide linoléique, Réactif Folin Ciocalteau,Un bain de glace,Un congélateur,Un appareil Soxhlet, Des papiers filtres, Un four Homogénéisateur, Des bouteilles en polyéthylène,Un creuset en porcelaine, Une flamme air/acétylène ,Un spectromètre d'absorption atomique,Un moulin, du papier Whatman, Un évaporateur rotatif, Une bouteille en plastique, Une boîte doublée d'une feuille d'aluminium avec deux, Lampes fluorescentes

Doğan et Aydın, 2013	<p>- 100g de l'échantillon en poudre, 0,5 ml Méthanol, 3ml de DPPH, Le dosage de l'acide <math>\beta</math>-carotène, linoléique, 2,5 mL de tampon phosphate de sodium 200 mM (pH 6,6), 2,5 mL de ferricyanure de potassium à 1%, 2,5 mL d'acide trichloracétique à (10% p/v), 5 mL d'eau désionisée et 1 mL de chlorure ferrique à 0,1%, Un déshydrateur, Un appareil Soxhlet, Un papier, filtre Whatman n°4, Un évaporateur rotatif, Du spectrophotomètre Hitachi U-2001.</p>
Kivrak, 2014	<p>- Des sucres, étalons phénoliques, acide 3, 4-dihydroxybenzoïque, acide gentisique, pyrocatechol, bromhydrate de galantamine, acide p-hydroxybenzoïque, 3,4-dihydroxybenzaldéhyde, hydrate de catéchine, acide vanillique, réactif de Folin-Ciocalteu, acétate d'ammonium, hydroxytoluène butylé, anguille électrique acétylcholinestérase, L'éther de pétrole, 0,1 % (v/v) d'acide formique dans une solution de méthanol à 20 % (v/v), solvant A (0,5 % d'acide acétique dans l'eau), hexane, acétate d'éthyle, méthanol, DPPH (0,4 mM), ABTS (7 mM), sulfate de potassium (2,45 mM), Un appareil Milipore Elix Advantage 10 et MilliQ Advantage A10, Un appareil Soxhlet, Un appareil Waters à ultra performance, Centrifugeuse Whatman, Un filtre Whatman no 4, Un détecteur d'indice de réfraction, Micro-ondes, Flacon, lyophilisateur Christ, évaporateur rotatif Heidolph</p>
Saleh et Byong, 2006	<p>- 8 g de chaque espèce de Terfezia et Tirmania (400 g chacun), 300 ml d'eau distillée, solutions d'extraction (méthanol, éthanol, eau et acétate d'éthyle): 40 mL</p> <p>- Propyle galilate, BHA, BHT, 2,4 mg de DPPH, 50 ml Acide linoléique, 5 mg de p-carotène, 50 ml de chloroforme, 100 ml d'eau distillée, l'azote le gaz, l'hexane, 10 mL d'eau, des échantillons de truffes lyophilisées 0,1g, extraits (méthanol, de l'éthanol et de l'eau : 1 ml), Filtre : Y4 et 1h Inch (6,5 et 13,0 mm), Un lyophilisateur, Un mixeur ménager (Philips), une centrifugeuse Beckman, Evaporateur rotatif, agitateur (Forma Scientific, USA), une centrifugeuse, une fiole jaugée, un spectrophotométrie (Ultrospec 100 UVNis ; Biochrom Ltd.)</p>

<b>Hamza et al, 2013</b>	-Les étalons DPPH, n-hexane (2 ml) , les esters méthyliques, 50mg de lipides,51l de n-hexane2M d'hydroxyde de potassium,La poudre de truffe séchée (25 g et 50 g),des solvants de polarité croissante: pétrole ,éther, dichlorométhane, chloroforme, éthyle,acétate et du méthanol:300 ml,l'azote,la poudre de champignons (50 g), 200 ml d'eau distillée,le dosage du b-carotène/acide linoléique,Un spectrophotomètre (UV mini-1240) modèle Shimadzu, Clevenger ,des Flacons, un Mélangeur vortex,le papier filtre Whatman No.1, Soxhlet.
<b>Saad Sabbar et al, 2016</b>	-Lignée cellulaire de carcinome cérébral humain,Lignée cellulaire de cancer du sein hormono-sensible et invasive MCF-7,les solvants: 500 mL (hexane, acétate d'éthyle, éthanol, méthanol et eau),100 g de l'échantillon,200 µ M de DPPH, l'acide ascorbique,1,5 ml de réactif FRAP,une solution de FeSO4 , 1 ml de la solution ABTS + ,40 ml déminéralisés de l'eau, Un évaporateur rotatif (Buchi , USA) , Un four .

## 2.2. Méthodes

Grâce à mon étude des articles, j'ai trouvé que chaque article diffère en termes de type de truffes et de zones de récolte, j'ai donc mis le premier tableau et l'ai nommé les types de truffes et le deuxième était les zones de récolte. Le tableau représente les différentes méthodes utilisées dans ces expériences.

**Tableau 2.2 .Types de truffes étudiées**

Article	Type de truffes
<b>Gouzi et al, 2013</b>	<i>Tirmania nivea</i> , <i>T. pinoyi</i> , <i>T.arenaria</i> .
<b>Neggaz et al, 2015</b>	<i>T. claveryi</i> Chatin.
<b>Dundar et al, 2011</b>	<i>T. boudieri</i> .
<b>Doğan et Aydın, 2013</b>	<i>T. boudieri</i> .
<b>Kivrak, 2014</b>	<i>T. claveryi</i> , <i>T. olbiensis</i> .
<b>Saleh et Byong, 2006</b>	<i>Terfezia</i> et <i>Tirmania</i> .
<b>Hamza et al, 2013</b>	<i>T. boudieri</i> .
<b>Saad Sabbar et al, 2016</b>	<i>T. claveryi</i> .

Tableau 2.3. Les zones de récolte de truffes étudiées.

Article	Zone de récolte	Date de récolte
Gouzi et al, 2013	Algérie (Djelfa).	Mars et Avril 2011
Neggaz et al, 2015	Algérie (Tiaret).	/
Dundar et al, 2011	Sud-est de la Turquie (Hilvan-Sanliurfa, Yenice/ Ceylanpinar / Sanliurfa, Polatli / Ceylanpinar/Sanliurfa, Kiziltepe-Mardin et Malatya).	Avril et Mai 2006
Doğan et Aydın, 2013	Turquie (de Karaman-Mara, sous Helianthemum, salicifolium).	8 Avril 2001
Kivrak, 2014	Du sud-ouest de la Turquie.	2012
Saleh et Byong, 2006	Le désert d'Arabie Saoudite.	Février 2005
Hamza et al, 2013	La région sud de la Tunisie.	Mars et Avril 2009
Saad Sabbar et al, 2016	La région occidentale de l'Irak.	/

Tableau 2.4. Les méthodes utilisées.

Article	séchage du truffes	Conservation du truffes
Gouzi et al, 2013	à température ambiante jusqu'à poids constant.	Dans l'obscurité et dans une bouteille en verre hermétique à température ambiante.
Neggaz et al, 2015	à l'ombre	Température ambiante dans un endroit sec et à l'abri de la lumière.
Dundar et al, 2011	Séchés à l'air libre entre des papiers filtres.	Surgelés à 34 °C.
Doğan et Aydın, 2013	à 37-40°C pendant 5 jours.	L'obscurité à 4°C.
Kivrak, 2014	/	à 18°C et protégés de la lumière
Saleh et Byong, 2006	Lyophilisées dans un	-20 °C

	lyophilisateur pendant 48h.	
<b>Hamza et al, 2013</b>	à l'ombre jusqu'à la constance de la masse(20 jours).	Température ambiante dans un endroit sec et à l'abri de la lumière. L'extrait a été filtré et lyophilisé.
<b>Saad Sabbar et al, 2016</b>	35 - 40°C.	-20 C°.

### 2.2.1.Préparation des extraits

- Chaque échantillon de truffe moulue 5 g a été extrait par agitation avec 50 ml de méthanol à 25°C à 150 tr/min pendant 24 h et filtration sur papier filtre Whatman n°1. Le reste est ensuite extrait avec 50 ml de méthanol supplémentaires. Les extraits méthanoliques combinés ont ensuite été évaporés sur un évaporateur rotatif (Büchi Rotavapor R-144, Suisse) à sec par rotation prolongée Evaporation rotative sous pression réduite à 45°C jusqu'à obtention d'un poids constant .Les extraits séchés ont été redissous dans du méthanol à une concentration de 250 mg/ml et conservés dans l'obscurité à 4°C (**Gouzi et al, 2013**) .

- **Extraction Soxlet** Extraire la poudre de truffe séchée de *T. claveryi* (100 g) par appareil Soxhlet en utilisant des solvants de polarité croissante pendant 24 h pour chaque solvant. Le volume de chaque solvant utilisé est de 500 ml qui a ensuite été évaporé sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif puis pesé pour calculer le rendement des extraits et conservé à 4°C jusqu'à utilisation.

**-Extraction par macération au méthanol** 10 g de poudre de *T. claveryi* et 100 mL de méthanol sont introduit dans un erlenmeyer. Le tout est mis en macération pendant 24 h à température ambiante. L'extrait a été filtré à travers un papier filtre Whatman No.1 et le filtrat a été recueilli , puis le méthanol de l'extrait brut a été éliminé à l'aide d'un évaporateur rotatif, L'extrait obtenu a été conservé à l'obscurité à +4°C jusqu'à une analyse plus approfondie (**Neggaz et al, 2015**).

- 5 g la graisse brute a été déterminée par extraction d'un poids connu d'échantillon de champignon en poudre avec de l'éther de pétrole, en utilisant un appareil Soxhlet. La teneur en cendres a été déterminée par incinération .

-5 g d'échantillon mélangée avec 100mL d'éthanol à température ambiante à 150 tr/min pendant 24 h.

-Les champignons frais ont été séchés dans une étuve à 105 °C pendant 24 h après séchage à l'air pendant plusieurs jours. Les échantillons séchés ont été homogénéisés à l'aide d'un homogénéisateur à grenat et conservés dans des bouteilles en polyéthylène préalablement nettoyées jusqu'à l'analyse. 1 g de l'échantillon a été placé dans un creuset en céramique et incinéré à 450 °C pendant 20 h ; Puis les cendres sont dissoutes dans 1 ml de HNO<sub>3</sub> concentré, évaporées à sec, réchauffées à 450 °C pendant 4 heures, traitées avec 1 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré, 1 ml de HNO<sub>3</sub> et 1 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, puis diluées avec de l'eau déminéralisée jusqu'à doubler jusqu'au volume 10 ml. Les échantillons blancs ont été traités de la même manière (Colak et al., 2007)( **Dundar et al, 2011**) .

- 100 g de l'échantillon en poudre ont été extraits sous agitation dans du méthanol à 60°C pendant 6 h dans un appareil Soxhlet.L'extrait a ensuite été filtré sur papier filtre Whatman n° 4 et concentré sous vide à 45°C en utilisant un évaporateur rotatif. Les extraits ont ensuite été séchés et conservés à l'obscurité à 4 °C (**Doğanet Aydın, 2013**).

- la matière grasse brute a été évaluée en extrayant un poids connu de échantillon en poudre avec de l'éther de pétrole, à l'aide d'un appareil Soxhlet , la quantité de cendres a été déterminée en brûlant à 650±15°C.

-4 extraits différents ont été utilisés, l'hexane, l'acétate d'éthyle, le méthanol et l'eau.5 échantillons de champignons ont été extraits une fois pendant 24 h à température ambiante en utilisant ces solvants, puis les extraits combinés ont été filtrés sur Whatman #4, individuellement. Des extraits constitués d'hexane, d'acétate d'éthyle et de méthanol évaporés (évaporateur rotatif Heidolph, Hei-VAP Precision) ont été lyophilisés et les extraits aqueux combinés ont été congelés (Christ Freeze Dryer, Alpha 1-4 LD plus, Allemagne). Les extraits sont conservés dans des fichiers gelés jusqu'au jour de l'étude.(**Kivrak,2014**).

- 800 g d'ascocarpes de truffes fraîches de Tirmania et Terfezia (400 g chacun) ont été coupés en petits morceaux et des portions, 100g ont été trempées dans 300 mL d'eau distillée pendant 24 h.Chaque échantillon a été extrait avec des solutions d'extraction (méthanol, éthanol, eau et acétate d'éthyle), 40g d'échantillon avec 40 mL des solvants et mélangés dans un agitateur pendant 2 h à 37 C°. Les extraits ont ensuite été centrifugés à 8

000 rpm à -4 C° pendant 15 min à l'aide de la centrifugeuse Beckman 12-21 (USA).le méthanol et l'éthanol ont été évaporés par évaporateur rotatif 40°C, dissous avec la moindre quantité de solvant (10 mL de méthanol) pour 10g de Tirmania et Terfezia et conservés à -20°C (Saleh et Byong,2006).

• **Extraction des composés volatils** La matière sèche de la truffe a été soumise à une hydrodistillation pendant 4 h à l'aide d'un appareil type Clevenger et du solvant collecteur utilisé était du n-hexane (2 ml), Après évaporation du solvant sous flux d'azote, les composés volatils étaient stockés dans des flacons protégés de la lumière à 20 C°.

- **Extraction des lipides** Les lipides de la truffe ont été extraits à l'aide de chloroforme/méthanol Zouari et al. (2010).La poudre de truffe séchée (25 g) a été extraite au soxhlet en utilisant des solvants de polarité croissante pendant 6 h pour chaque solvant. Le volume de chaque solvant utilisé est de 300 ml(Hamza et al, 2013).

• 100 g de l'échantillon ont été extraits avec 500 mL de solvants: (hexane, acétate d'éthyle, éthanol, méthanol et eau) à 40 C° selon la **méthode de macération à chaud**.Les extraits ont été filtrés et concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif (Buchi, Etats- Unis), et conservés à 20 °C (Saad Sabbar et al, 2016) .

### 2.2.2. Activités antioxydants

• L'efficacité de piégeage du DPPH<sup>•</sup> des extraits de truffes a été déterminée selon la méthode de Blois<sup>13</sup> avec quelques modifications. Différentes concentrations d'extrait de truffe du désert méthanolique (0,1 ml) ont été ajoutées à 2,9 ml de solution de méthanol contenant des racines de DPPH (0,1 mM). L'absorbance a été mesurée à 517 nm, après quoi le mélange a été vigoureusement agité et laissé au repos à température ambiante pendant 30 minutes dans l'obscurité. Le méthanol a été utilisé sous forme de poudre blanche afin qu'il ne soit pas absorbé. BHA, AA et Trolox ont été utilisés comme témoins positifs, tandis que l'absence d'extrait de truffe méthanolique était le témoin négatif (Gouzi et al, 2013).

• Détermination de l'activité de piégeage radicalaire du DPPH par une méthode spectrophotométrique basée sur la réduction d'une solution méthanolique de DPPH. 50 µl de chaque extrait à différentes concentrations (5, 15, 25 et 40 mg/mL) ont été ajoutés à 2 mL de solution de méthanol DPPH (0,2 mM). On a laissé le mélange réagir à température ambiante dans l'obscurité pendant 30 minutes. Le A-tocophérol est utilisé comme contrôle

positif. Après 30 min, l'absorbance (A) a été mesurée à 517 nm. L'expérience a été répétée trois fois pour chaque échantillon d'essai (Neggaz et al, 2015).

- Activité antioxydante totale par la méthode carotène acide linoléique. Dans cet essai, la capacité antioxydante est déterminée en mesurant l'inhibition des composés organiques volatils et des hydroperoxydes de diène conjugué résultant de l'oxydation de l'acide linoléique. L'amplitude de la capture radicalaire a été déterminée par une méthode spectroscopique basée sur la réduction de solution éthanolique de DPPH selon la méthode de Blois (1958). Chaque extrait (0,1-10 mg/mL) dans de l'éthanol (1 mL) a été mélangé avec 4 mL d'une solution éthanolique contenant des racines de DPPH. Agiter vigoureusement et laisser reposer 30 minutes dans l'obscurité. Ensuite, l'absorbance à 517 nm contre le vide a été mesurée par un spectrophotomètre ( Dundar et al, 2011).

- 0,5 mL d'extrait méthanolique dans une gamme de concentrations (0,5 à 5 mg/mL) a été ajouté à 3 mL de solution de radicaux libres DPPH dans le méthanol (la concentration finale de DPPH était de 0,2 mM). Le mélange a été agité vigoureusement et laissé au repos pendant 30 min dans l'obscurité, puis l'absorbance à 517 nm a été mesurée contre le vide en utilisant un spectrophotomètre Hitachi U-2001. Le BHT et le BHA ont été utilisés comme témoins standard. Le dosage de l'acide  $\beta$ -carotène-linoléique a été réalisée comme décrit par Taga et al. (1984). Le contenu phénolique total de l'extrait brut de méthanol a été déterminé par la méthode Folin-Ciocalteu avec quelques modifications selon Singleton et Rossi (1965). L'acide gallique, la catéchine, l'acide caféique, l'acide coumarique, l'acide férulique, l'acide cinnamique et la quercétine ont été analysés en tant que formulations phénoliques standard. Les échantillons ont été analysés en trois exemplaires (Doğanet Aydın, 2013) .

- L'activité de piégeage des radicaux libres de l'extrait de champignon a été déterminée en utilisant le protocole de radicaux libres DPPH (Brand-Williams et al. 1995) avec une légère modification Solutions d'extraction de différentes concentrations 40 l et éthanol. La solution 120 L contenait des racines de DPPH 0,4 mM incubées à température ambiante dans l'obscurité pendant 30 min. La spectroscopie de l'activité de piégeage de l'ABTS a été déterminée selon la méthode (Öztürk et al. 2011 ; Re et al. 1999). Les activités inhibitrices de AChE et de la BChE ont été mesurées en modifiant légèrement la méthode spectrophotométrique (Ellman et al. 1961)(Kivrak, 2014) .

• L'activité antioxydante est déterminée en mesurant la diminution de l'absorption de DPPH à 515 nm. En conséquence de la décoloration, l'absorption a diminué lorsque le radical DPPH a été réduit par un antioxydant en donnant de l'hydrogène pour former la molécule DPPH-H. Des échantillons de truffes lyophilisées (0,1 g) ont été extraits avec du méthanol, de l'éthanol et de l'eau (1 ml) pendant 2 h dans un agitateur puis centrifugés à 3000 rpm pendant 10 min dans une centrifugeuse sûre. L'extrait (0,1 ml) a été mis à réagir avec 3,9 ml de  $6 \times 10^{-5}$  mol/L de solution de DPPH (2,4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol). L'absorbance (A) a été déterminée à 515 nm à 0 et 30 min. Les solvants d'extraction (méthanol, éthanol et eau) étaient des blancs. L'activité antioxydante a été calculée en pourcentage de changement de couleur. Les tests AH étaient trois fois supérieurs à la moyenne (Saleh et Byong, 2006) .

• L'activité de piégeage des radicaux DPPH et l'antioxydant activité utilisant le dosage de  $\beta$ -carotène/ acide linoléique des extraits de *T. boudieri* (Yildirim et al., 2001 ; Koleva et al., 2002 ; Zouari et al, 2011). Ont été présentées avec des valeurs IC50.

- Les valeurs IC50 ont été calculées à partir du graphique de l'activité de piégeage des radicaux DPPH ou des pourcentages d'activité antioxydante en fonction de la concentration de l'extrait.

- Des valeurs IC50 plus faibles reflétaient meilleures activités de piégeage ou d'antioxydation (Hamza et al, 2013) .

• Le dosage DPPH a été réalisé pour évaluer l'activité de piégeage des extraits de Bondet et al.

-Le dosage FRAP a été réalisé selon la méthode (a~ ordevic´ et al., 2010) avec des modifications mineures. Des extraits de truffes (50 L) à des concentrations (3,25 à 100 M) ont été ajoutés à 1,5 ml de réactif FRAP fraîchement préparé. Après 45 minutes d'incubation, l'absorbance à 593 nm a été mesurée à l'aide d'un Pro200 Tecan infinity (Suisse). Une courbe de référence a été générée en utilisant une solution de FeSO<sub>4</sub>.

- L'activité de piégeage des radicaux ABTS a été déterminée selon la méthode de (Re et al, 1999) (Saad Sabbar et al, 2016).



# **Résultats et discussion**

## **- Chapitre 3**

### 3. Résultats et Discussions

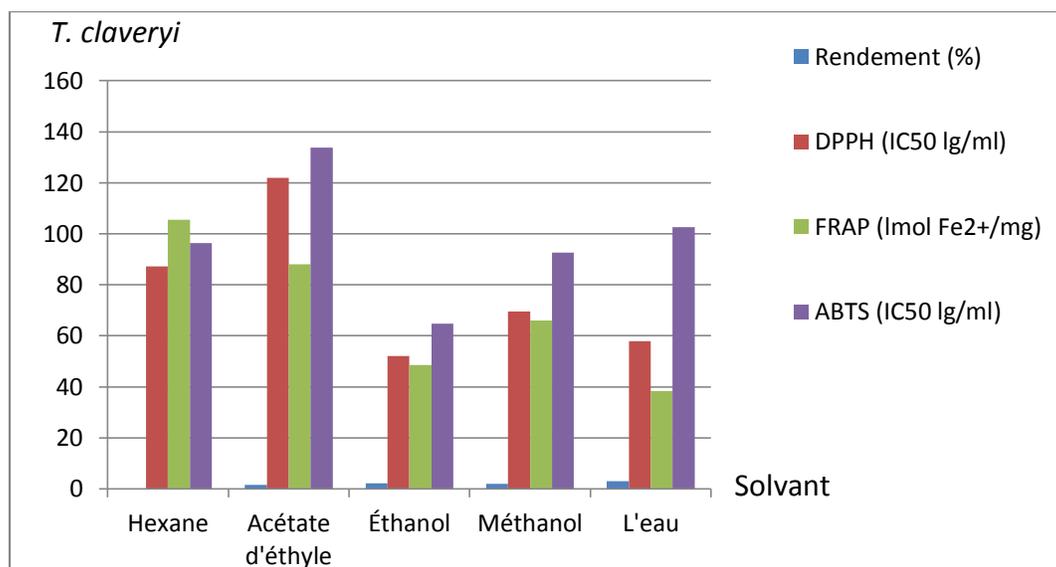
\* Dans cet article, les propriétés antioxydantes, cytotoxiques et antiangiogéniques d'extraits solubles de *T. claveryi* ont été évaluées. Il s'agit de la première étude portant sur les caractéristiques de la DPPH, du FRAP, de l'ABTS, de la cytotoxicité, de l'apoptose et de l'angiogénèse de la truffe noire *T. claveryi* d'Irak. De plus, la composition chimique principale de l'extrait le plus actif a été analysée par analyse GCMS, l'extraction variant en fonction de la polarité du solvant. Le rendement d'extrait le plus élevé était une extraction à l'eau de 2,89 %, tandis que l'extraction la plus faible était une extraction à l'acétate et à l'éthyle de 1,63 %.

Tous les extraits de truffes de *T. claveryi* se sont avérés avoir un certain degré d'activité de piégeage des radicaux. Alors que les résultats ont montré que l'activité du DPPH était fortement affectée par les solvants d'extraction.

De plus, l'extrait éthanol-hexane s'est avéré avoir les propriétés FRAP les plus élevées, suivi du méthanol avec un IC de 50 de 48,53 et 66  $\text{Imol Fe}^{2+}/\text{mg}$ . L'acétate d'éthyle et l'extrait aqueux ont montré un FRAP inférieur avec une CI50 de 88 et 83,24  $\text{Imol Fe}^{2+}/\text{mg}$ . Cependant, l'extrait à l'hexane a montré une CI50 FRAP inférieure de 105,8  $\text{Imol Fe}^{2+}/\text{mg}$ . Malgré le fait que certains extraits ont montré des tendances similaires dans l'activité FRAP à l'activité DPPH, d'autres extraits n'ont pas montré cette tendance d'activité, comme l'acétate d'éthyle et l'extrait aqueux.

ABTS+ a été réalisé pour déterminer la capacité antioxydante totale (TAC) de la truffe *T. claveryi*. Les résultats du test de la boîte ABTS ont montré que les extraits à l'éthanol de *T. claveryi* avaient la plus grande activité inhibitrice à une concentration IC de 64,76  $\text{g/ml}$  suivis par le méthanol et l'hexane, 92, 63 et 96,28  $\text{g/ml}$ . Montrer l'extrait aqueux. L'inhibition la plus faible était (CI50 de 133,71  $\text{mcg/mL}$ ), tandis que la moins efficace était de 102,5  $\text{mcg/mL}$  pour un seul extrait d'acétate d'éthyle. D'autre part, les extraits à l'éthanol ont montré une activité antioxydante très proche de l'acide ascorbique standard qui était de 58,4  $\mu\text{g/ml}$ , ce qui est similaire aux résultats du DPPH. Ce résultat a montré que l'activité antioxydante d'ABTS<sub>s+</sub> soutient le résultat DPPH. Ceci a été précédemment confirmé par Awika et al .(2003), dans laquelle ils notent une forte relation entre les scores ABTS et DPPH. Ces résultats indiquent l'importance de cet antioxydant dans les propriétés chimiques des truffes de *T. claveryi*.

Dans cette étude, les résultats des antioxydants ont montré une variété d'activités de piégeage des antioxydants qui variaient d'un extrait à l'autre. Cependant, l'extrait à l'hexane de *T. claveryi* qui montre l'inhibition la plus puissante contre la plupart des cellules testées, a montré l'activité FRAP la plus élevée, une DPPH modérée et des propriétés antioxydantes ABTS. De plus, l'inhibition de la croissance cellulaire par les extraits de *T. claveryi* pourrait être due au pouvoir du solvant à surpasser les propriétés antioxydantes, en plus de l'effet synergique de plusieurs constituants bioactifs et de certains antibiotiques peptidiques présents dans *T. claveryi* *Badalyan (Saad Sabbar et al, 2016)*.

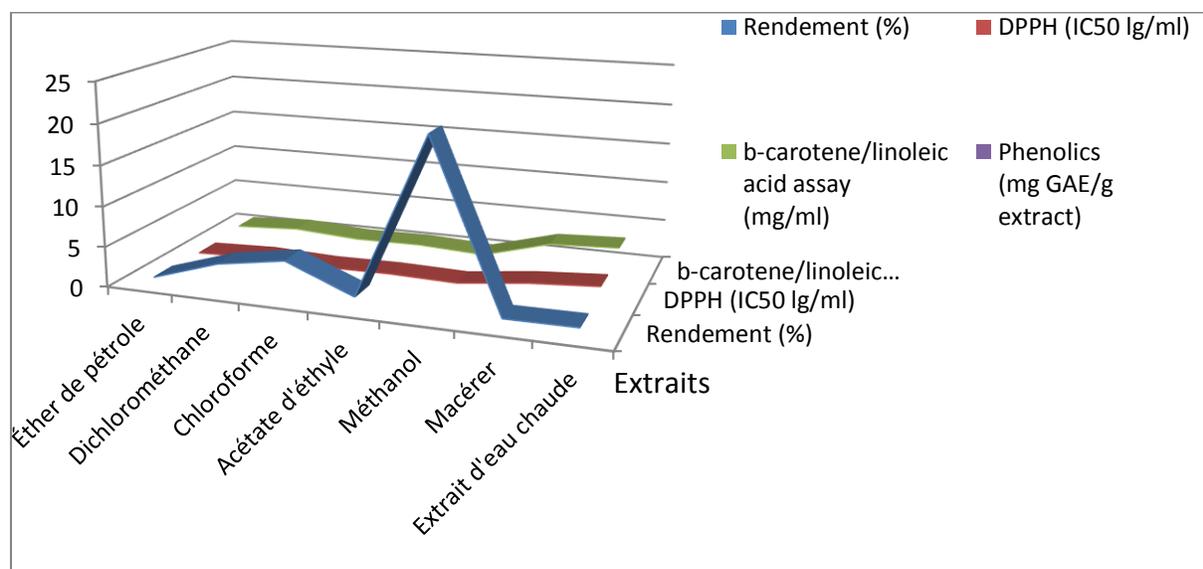


**Figure 3.1.** Productivité et activité antioxydante de différents extraits de *T. claveryi*.

\* Dans cet article, L'élimination des radicaux libres est l'un des mécanismes connus par lesquels les antioxydants empêchent l'oxydation des lipides. Le radical libre DPPH a une absorption caractéristique à 517 nm (couleur violette), qui est fortement réduite lors de l'exposition à la litière radicalaire (en fournissant des atomes d'hydrogène ou en donnant des électrons). Les extraits de truffes de *T. boudieri* ont subi l'activité de piégeage radicalaire du DPPH, comme indiqué par les valeurs IC<sub>50</sub> (Fig. 3.2). Ces extraits ont été capables de réduire efficacement les radicaux libres stables DPPH avec des valeurs IC<sub>50</sub> allant de 0,2 à 1,8 mg/mL, tandis que la valeur IC de l'antioxydant synthétique butylhydroxyisoleate était de 11 /g/mL. L'extrait méthanolique contenant les quantités les plus élevées de phénols et de flavonoïdes a montré l'activité la plus élevée pour éliminer les radicaux DPPH (Fig. 3.2). Ces résultats étaient

cohérents avec le fait que l'activité de piégeage des radicaux libres est fortement influencée par les composés phénoliques dans l'échantillon (Cheung et al. 2003).

Le potentiel des extraits de *T. boudieri* à inhiber la peroxydation lipidique a été évalué à l'aide du test de blanchiment  $\beta$ -carotène/acide linoléique, qui mesure la capacité des extraits à inhiber la formation d'hydroperoxyde conjugué lors de la lixiviation de l'oxydation de l'acide linoléique. Les résultats présentés à la figure 3.2 ont montré que les extraits de *T. boudieri* étaient efficaces pour inhiber l'oxydation de l'acide linoléique avec des valeurs de CI allant de 0,36 à 3,1 mg/ml. Bien que le produit chimique butylhydroxyisole présente l'activité antioxydante la plus élevée (valeur IC = 8,2 g/ml), les composés naturels sont d'une importance accrue par rapport aux composés synthétiques. Comme constaté dans l'activité de piégeage des radicaux du DPPH, l'extrait méthanolique a montré l'activité antioxydante la plus élevée (Fig. 3.2). Dans des études antérieures, les activités antioxydantes de l'extrait méthanolique ont été rapportées pour plusieurs champignons commerciaux et médicinaux (Mau et al. 2004). Ces études ont également affirmé que les extraits méthanoliques d'espèces fongiques présentaient l'activité antioxydante la plus élevée par rapport à la peroxydation lipidique (Hamza et al, 2013).



**Figure 3.2.** Rendements d'extraction, détermination des composés phénoliques, des flavonoïdes, des tanins et de l'activité antioxydant (valeurs IC50) des truffes de *T. boudieri* (n = 3).

\* Détermination de l'activité antioxydante à l'aide de la méthode de blanchiment au B-carotène L'activité antioxydante a été déterminée par la méthode du système d'oxydation à l'acide linoléique, où la quantité de peroxydes formés dans une émulsion pendant l'incubation a été déterminée par spectrophotométrie en mesurant l'absorbance à 470 nm. Une absorption plus élevée est une indication de concentrations plus élevées de stagières en peroxy.

Les activités antioxydantes des extraits à l'éthanol dérivés des échantillons de *Termania* et *Tervisia* étaient les plus efficaces, mais les extraits de méthanol ont également montré une forte activité avec un pourcentage plus élevé dans les deux échantillons. L'extrait aqueux dans les deux échantillons a montré un niveau d'activité moyen.

Le test d'oxydation de l'acide linoléique utilisé pour déterminer l'activité antioxydante mesure l'inhibition de l'auto-oxydation de l'acide linoléique.

Sur la base de ces résultats, les sujets ont été divisés en deux groupes selon les pourcentages d'inhibition de l'auto-oxydation de l'acide linoléique.

Le premier groupe comprenait des substances à haute activité antioxydante : extrait éthanolique de *Termania* (99,8 % d'inhibition), extrait méthanolique de *Termania* (98,3 %), extrait éthanolique de *Terfezia* (95,5%) et extrait méthanolique de *Terfezia* (94,2 %). Ces matériaux ont montré des niveaux très élevés d'activité antioxydante après 60 minutes d'incubation à 50 °C. Dans des conditions similaires, un deuxième groupe de substances, l'extrait aqueux de *Termania* (76,8 %) et l'extrait aqueux de *Terfezia* (70,2 %) ont montré des niveaux moyens d'activité antioxydante après 60 min d'incubation à 50 °C. Dans cette expérience, tous les échantillons ont montré une activité antioxydante d'au moins 70,2 %. Par conséquent, ces résultats montrent que les truffes *Tirmania* et *Terfezia* présentaient une activité antioxydante élevée.

Des expériences similaires ont été réalisées pour comparer les activités antioxydantes de conservateurs alimentaires tels que le gallate de propyle, le BHA (butyl hydroxyanisole) et le BHT (butyl hydroxytoluène). Ils ont montré une activité antioxydante de 99,8%, 96% et 88,5%.

Alors que *Tirmania* a une activité antioxydante plus élevée que *Terfezia*. L'écart type de *Tirmania* variait de 0,2 à 1,0, tandis que l'écart type de *Terfezia* variait de 0,1 à 3,0. Activités

antioxydantes (en pourcentage) de 6 extraits courants et de 3 antioxydants chimiques. Les résultats ont montré que les extraits au méthanol et à l'éthanol de Terminalia et Tervisia sont des antioxydants très puissants, par rapport aux antioxydants courants, tandis que les extraits aqueux ont montré un niveau d'activité modéré.

Le potentiel antioxydant des extraits de truffes a été évalué à l'aide de la racine stable DPPH. L'activité de piégeage des radicaux libres des extraits de truffes a été déterminée en utilisant la fraction 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH"). Ce système a permis aux extraits de truffes de réagir avec le DPPH en solution. Réduire le DPPH. L'ordre de l'activité antioxydante de la truffe dans cette méthode était similaire à celle du système d'oxydation. Acide linoléique sauf que l'extrait méthanolique de Terfezia présentait une activité antioxydante plus élevée que celle de l'éthanol. Ces échantillons étaient par ordre décroissant, gallate de propyle (97,4%) > extrait éthanolique de termania (95,5%) > Extrait méthanolique de termmania (95,4%) > Méthanolique de Terfezia (95,3%) > BHA (93,0%) > Extrait éthanolique de Terfezia (92,5%) > BHT (86,2%) > Extrait aqueux de Terfezia (79,3%) > Aqueux Extrait de Terfezia (76,3%) (%). Pour les tests DPPH, les extraits de truffe ont agi comme un capteur direct de radicaux libres, et leur efficacité était similaire à celle des antioxydants courants et similaire aux résultats obtenus à partir du système d'oxydation de l'acide linoléique, indiquant que les extraits de truffes ont montré une bonne activité de résistance aux radicaux libres.

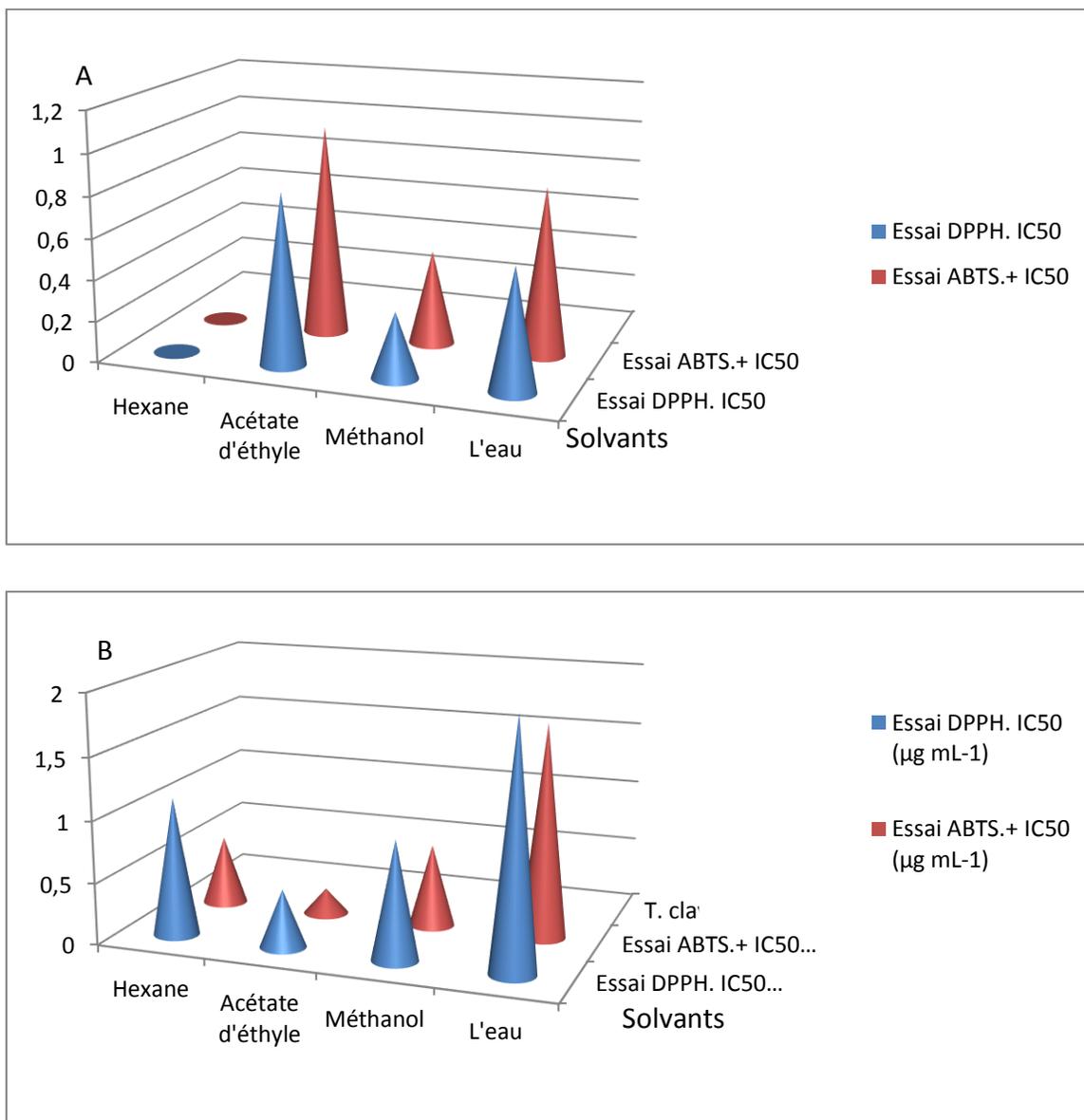
Les résultats représentent également deux groupes d'extraits, le premier groupe ayant une activité antioxydante très élevée (extraits éthanol et méthanol des truffes Tirmania et Terfezia ainsi que gallate de propylène et BHA) et un second groupe ayant une activité antioxydante modérée (extrait aqueux des truffes Tirmania et Terfezia et BHT). (extrait aqueux de truffes Tirmania et Terfezia et BHT).

Les résultats ont montré que les extraits au méthanol et à l'éthanol de Tirmania et Terfezia sont des antioxydants très puissants, par rapport aux antioxydants courants, tandis que les extraits aqueux ont montré un niveau d'activité modéré. L'analyse statistique a montré que l'extraction du  $\alpha$ -carotène était significativement affectée par les échantillons de truffes (Tirmania et Terfezia) et les solvants d'extraction ( $p < 0,01$ ), sans aucune interaction. Le rendement en  $\alpha$ -carotène était significativement plus élevé ( $P < 0,01$ ) pour les échantillons de Tirmania de Terfezia. Il n'y avait

pas de différence significative dans les extraits au méthanol ou à l'éthanol de la méthode de blanchiment au B-carotène à Termania et Tervizia, où le rendement en eau était le plus faible ( $P < 0,01$ ). Il y avait une interaction significative ( $P < 0,01$ ) entre les échantillons de truffes et les solvants d'extraction pour extraire le DPPH. Pour Trimania, l'extraction à l'eau a produit la concentration la plus faible ( $P < 0,01$ ) de DPPH, mais il n'y avait pas de différence significative entre les extraits au méthanol ou au méthanol. Mais pour Terfezia, il y avait une différence significative ( $P < 0,01$ ) entre les trois solvants d'extraction. L'extraction au méthanol a donné la concentration la plus élevée de DPPH avec un rendement inférieur d'extrait d'éthanol et l'eau était la plus faible. Les échantillons crus, congelés et en conserve de Terfezia ont été testés pour leur activité antioxydante. Les échantillons ont été extraits avec de l'éthanol. L'efficacité antioxydante du Terfezia cru, congelé et en conserve était de 95,7%, 94,1% et 72,9%. Alors que les résultats des échantillons en conserve indiquent que l'activité antioxydante de Terfezia peut être perdue pendant le processus de mise en conserve (Saleh et Byong,2006).

\*Dans cet article, les échantillons de champignons étudiés ont montré des propriétés intéressantes en tant qu'antioxydants, et les composés phénoliques trouvés dans ces espèces pourraient être liés aux propriétés mentionnées. La courbe de données montre l'activité antioxydante des différents extraits de *T. olbiensis* et *T. claveryi*, pour inhiber la peroxydation lipidique (dosage  $\beta$ -carotène/acide linoléique) et l'activité de piégeage des radicaux libres (dosages DPPH<sup>·</sup> et ABTS<sup>+</sup>) par rapport à l' $\alpha$ -tocophérol, BHT et BHA. Les aliments riches en antioxydants sont prisés par les consommateurs pour leur impact positif sur les effets néfastes des espèces radicalaires réactives à l'origine du stress oxydatif. On pense qu'il influence l'incidence de nombreuses maladies dégénératives chez l'homme, telles que l'inflammation, le vieillissement, le cancer et les maladies cardiaques.

Certains types de truffes sont plus comestibles et riches en antioxydants que d'autres. Dans cet article, trois tests évaluant la capacité antioxydante comprennent le blanchiment du bêta-carotène, de ABTS et du diphényl-1-picrylhydrazyl. L'activité DPPH a été mise en œuvre. D'après la courbe, il est clair que l'activité antioxydante augmente avec l'augmentation des quantités d'extraits. Les résultats étaient statistiquement significatifs ( $P < 0,05$ ) par rapport au groupe témoin. Dans les extraits à l'hexane du dosage carotène/acide linoléique, *T. olbiensis* et *T. claveryi* avaient une valeur d'inhibition IC<sub>50</sub> : 14,71 et 16,13 g/ml. La valeur d'inhibition de



**Figure 3.3.** Activités antioxydantes des extraits de *T. olbiensis* (A) et *T. claveryi*(B) par blanchiment au  $\beta$ -carotène, DPPH, ABTS+.

**A:** *T. olbiensis*

**B:** *T. claveryi*

l'extrait d'acétate d'éthyle chez *T. olbiensis* et *T. claveryi* avec IC50 était de : 22,48 et 23,41 g/ml p, tandis que les extraits aqueux des échantillons de champignons étudiés ont montré la moins d'inhibition. Tous les extraits de truffes étudiés ont indiqué une activité inhibitrice de la peroxydation lipidique inférieure à celle du BHA, du BHT et de l' $\alpha$ -tocophérol.

Dans le dosage DPPH<sup>·</sup>, des extraits à l'acétate d'éthyle de *T. olbiensis* et de *T.* ont montré une activité à partir de l' $\alpha$ -tocophérol.

Dans le test ABTS<sup>+</sup>, les extraits d'acétate d'éthyle de *T. olbiensis* et *T. olbiensis* ont montré une activité de piégeage des radicaux libres plus faible.

Dans les trois tests évaluant la capacité antioxydante, les extraits d'échantillons les plus actifs étaient l'acétate d'éthyle et l'extrait d'hexane. Les résultats obtenus à l'aide des dosages carotène/acide linoléique et des dosages DPPH AB et ABTS étaient donc complémentaires.(Kivrak, 2014).

\*Dans cet article, les effets de piégeage des radicaux DPPH de *T. boudieri*, ainsi que ceux de BHA et BHT ont été augmentés en augmentant la concentration de 0,5 à 5 mg/mL. Les valeurs de piégeage à 0,5 mg/ml étaient de 0,04 mg/ml pour *T. boudieri*, 0,047 mg/ml pour le BHT et 0,038 mg/ml pour le BHA, tandis que les valeurs de piégeage à 5 mg/ml étaient de 0,031 mg/ml pour *T. boudieri*, 0,035 mg/mL pour le BHT et 0,028 mg/mL pour le BHA. L'effet de piégeage de l'extrait de *T. boudieri* sur les racines de DPPH augmente avec l'augmentation des concentrations. La valeur IC<sub>50</sub> de l'extrait de *T. boudieri* était inférieure à celle du BHA et supérieure à celle du BHT.

Les valeurs IC<sub>50</sub> étaient de 0,58 mg/ml pour *T. boudieri*, 0,43 mg/ml pour le BHA et 0,72 mg/ml pour le BHT. Une valeur IC inférieure indique une activité antioxydante plus élevée, la capacité antioxydante de *T. boudieri* est supérieure à celle du BHA.

Les valeurs d'inhibition pour l'extrait de *T. boudieri* et les standards pour les racines DPPH à une concentration de 0,5 mg/ml étaient de 55% pour *T. boudieri*, 60,60% pour le BHA et 53% pour le BHT.

Les valeurs d'inhibition pour *T. boudieri* ont été déterminées comme étant supérieures à celles du Trolox, mais similaires à celles du BHT et inférieures à celles du Trolox.BHA. L'extrait de *T. boudieri*, le BHT, le BHA et le Trolox ont montré une inhibition de 68,6 %, 73,7 %, 80,8 % et 50,51 %.

La quantité de composés phénoliques dans l'extrait au méthanol de *T. boudieri* a été déterminée à 0,21 mg/g d'équivalent d'acide gallique. Certains acides phénoliques et flavonoïdes

sélectionnés ont été séparés de l'extrait et comparés aux normes d'origine en utilisant la HPLC pour l'identification. La structure phénolique de *T. boudieri* a été rapportée ici pour la première fois. Sept composants de *T. boudieri* ont été analysés et quatre ont été identifiés comme la catéchine, l'acide coumarique, l'acide férulique et l'acide cinnamique. La catéchine était l'acide phénolique prédominant à la dose de 20 mg/g, suivi de l'acide férulique à la dose de 15 mg/g, de l'acide coumarique à la dose de 10 mg/g et de l'acide cinnamique à la dose de 6 mg/g. Cependant, l'extrait ne contient pas de flavonoïdes, tels que la quercétine, l'acide caféique et l'acide gallique..

L'acide férulique, comme de nombreux phénols, est un antioxydant « in vitro », ce qui signifie qu'il réagit avec les radicaux libres, tels que les espèces réactives de l'oxygène (ROS). Les espèces réactives de l'oxygène et les radicaux libres sont impliqués dans les dommages à l'ADN, le cancer et le vieillissement cellulaire accéléré. L'acide férulique peut être efficace pour prévenir le cancer causé par l'exposition à des composés cancérigènes. Les dérivés de coumarine sont des substances importantes pour la santé humaine (Doğanet Aydın, 2013).

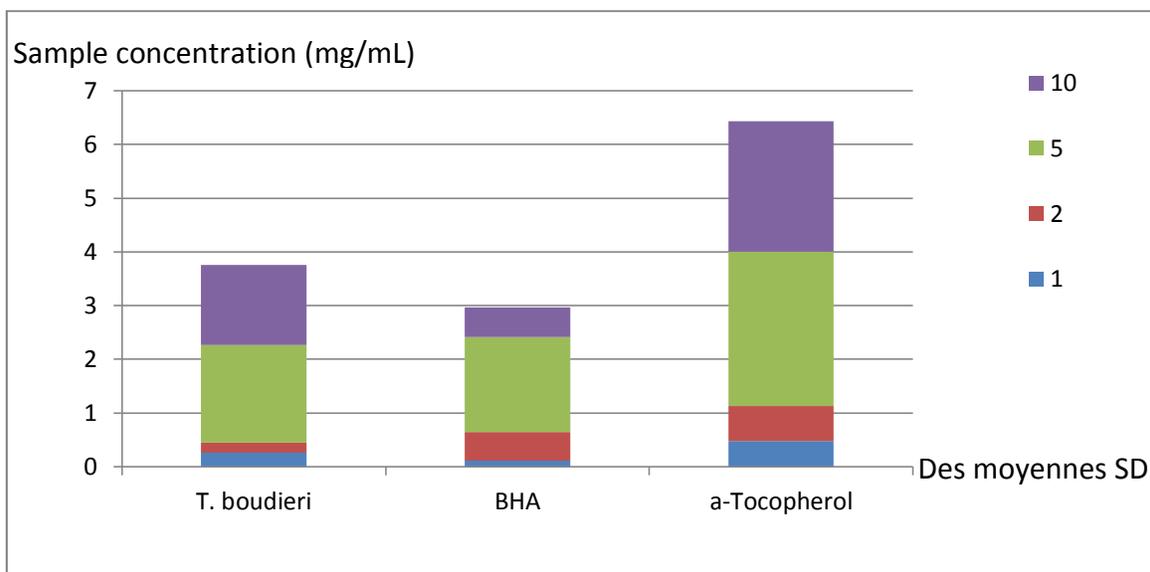
\*Extraits éthanoliques L'activité antioxydante de l'extrait éthanolique de champignon et des standards augmentait avec l'augmentation de la concentration. À toutes les concentrations (0,5-10,0 mg/ml), *T. boudieri* a montré la plus grande capacité à inhiber l'acide linoléique contre le stress oxydatif disponible dans le milieu par rapport aux autres paramètres testés. Il a été constaté que l'activité antioxydante du champignon était de 87,68 %, suivie du Trolox (74,73 %), du BHA (65,62 %), du BHT (62,45 %) et de l'-tocophérol (47,44 %).

De la conclusion de ces résultats, nous constatons que l'extrait éthanolique de *T. boudieri* a montré une excellente activité antioxydante sur la peroxydation lipidique et pourrait être utilisé comme antioxydant naturel au lieu d'un antioxydant synthétique.

Les capacités de piégeage des extraits éthanoliques de *T. boudieri* ont fortement augmenté de 36,62 % à 92,21 % à 10 mg/ml. Le BHA et l' $\alpha$ -tocophérol ont montré que l'activité d'élimination des radicaux était supérieure à celle des extraits de champignons à toutes les concentrations et les activités d'élimination des radicaux du DPPH étaient de 94,70 % et 95,5 %. 94,70 % et 95,76 % à des concentrations de 10 mg/ml.

Les résultats ont montré que les extraits éthanoliques de *T. boudieri* sont des capteurs de radicaux libres et peuvent agir comme antioxydants primaires.

Les extraits contiennent des composants antioxydants qui peuvent réagir rapidement avec les radicaux DPPH et réduire la plupart des molécules. L'échantillon de champignon obtenu à partir d'eux peut réagir avec les radicaux libres, qui sont le principal initiateur de la chaîne d'oxydation spontanée des lipides, mettant ainsi fin à la réaction dans la chaîne( **Dundar et al,2011**).



**Figure 3.4.** Effet de piégeage (%) de *T. boudieri* et des standards sur le DPPH.

\*Les rendements des extraits de dichlorométhane, de chloroforme, d'acétate d'éthyle et de méthanol des extraits de *T. claveryi* étaient de 7 %, 1 %, 0,57 % et 4,47 %. Le rendement le plus élevé a été obtenu à partir de l'extrait imbibé de 13,11 % de méthanol.

Le test de piégeage des radicaux DPPH est une méthode largement utilisée pour évaluer la capacité à rechercher des radicaux. Il est largement utilisé pour évaluer la capacité de piégeage des radicaux libres du réactif DPPH.

Le DPPH, un radical libre stable de couleur violette, se transforme en un composé jaune stable lorsqu'il réagit avec le réactif DPPH. Il se transforme en un composé jaune stable lorsqu'il réagit avec un antioxydant.

L'activité de piégeage des radicaux libres de différents extraits de *T. claveryi*, déterminée par les radicaux DPPH, est montrée en comparaison avec le témoin ( $\alpha$ -tocophérol).

L'augmentation de l'activité anti-radicalaire contre le DPPH dépend fortement de la concentration, en général on observe que l'effet de piégeage des radicaux du DPPH augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait. Cette activité peut être évaluée en déterminant la CI (concentration inhibitrice 50) qui est une mesure de l'efficacité d'un composé particulier à inhiber une fonction biologique ou biochimique particulière. L'extrait méthanolique de *T. claveryi* a montré l'activité antioxydante la plus élevée (90,48 %). L'extrait de dichlorométhane s'est avéré moins efficace (29,38 %) tandis que l'extrait de chloroforme et d'acétate d'éthyle n'a montré aucune activité antioxydante aux concentrations testées. La nature des solvants utilisés a eu un effet significatif sur les activités antioxydantes (Neggaz et al, 2015).

\*Les extraits méthanogènes de truffes du désert utilisés dans cette étude ont été capables de piéger les radicaux libres DPPH d'une manière dépendante de la concentration (Fig. 3.6). La plus faible concentration de radicaux DPPH est due à la capacité de piégeage des extraits méthanoliques d'espèces de truffes et les normes sont très importantes. Toutes les espèces de truffes du désert présentent des activités significativement de piégeage des radicaux libres DPPH dans la gamme de concentrations sélectionnées. puis se stabilise, même avec une concentration accrue.

Le DPPH s'est avéré donner une réaction opposée avec certains phénols portant la structure o-méthoxyphénol, ce qui peut conduire à une lecture faussement basse de la capacité antioxydante. Nous avons utilisé BHA, AA et Trolox comme critères. Dans les conditions expérimentales utilisées, l'extrait méthanolique de *T. leonis* a gratté presque complètement les racines de DPPH ( $92,47\% \pm 0,77\%$ ) à 2,6 mg/ml, tandis que les extraits de *T. pinoyi* et *T. nivea* ont gratté les racines de DPPH de  $53,06\% \pm 0,67\%$  et  $41,34\% \pm 0,32\%$  à ce niveau. D'excellents effets de piégeage ont été observés avec les extraits méthanoliques d'*Antrodia camphorata* et d'*Agaricus brasiliensis* à 2,5 mg/ml ( $96,3\% - 99,1\%$  et  $97,1\%$ ).<sup>27</sup> La différence de composition chimique de la truffe due aux variables géographiques et climatiques peut être responsable des différences. entre leurs activités antioxydantes.

Concernant la CE50, parmi tous les extraits examinés, *T. leonis* avec la CE50 la plus faible ( $1,08 \pm 0,01$  mg/ml) avait l'activité de piégeage racinaire DPPH la plus élevée, suivi de *T. pinoyi* (CE50 était de  $2,51 \pm 0,02$  mg/ml), tandis que *T. nivea* avec la valeur EC50 la plus élevée (3,22

$\pm 0,01$  mg/ml) avait les racines DPPH les plus faibles. Cependant, les effets de piégeage du BHA, du Trolox et de l'AA sont supérieurs à ceux de tous les extraits méthanoliques d'espèces de truffes du désert. L'activité de piégeage des radicaux du DPPH était dans l'ordre suivant : BHA, AA > Trolox > *T. leonis* > *T. pinoyi* > *T. nivea*. Ces résultats ont montré que les extraits méthanoliques des espèces de truffes étaient des capteurs de radicaux libres et peuvent avoir agi comme antioxydants primaires.

Les extraits méthanoliques d'espèces sauvages comestibles de truffes du désert peuvent réagir avec les radicaux libres, principaux initiateurs de la chaîne d'oxydation lipidique spontanée, mettant ainsi fin à la réaction en chaîne. de *T. leonis* a une teneur totale en phénol plus élevée que les deux autres espèces étudiées. Le rôle principal du phénol

Les composés se sont avérés être des capteurs de radicaux libres dans de nombreux rapports. Par conséquent, *T. leonis* peut être considéré comme un produit naturel à fort potentiel d'activité antioxydante. Huang et al 31 ont trouvé que la capacité de piégeage de l'extrait méthanolique des corps fruitiers d'*Agrocybe cylindracea* était de 89,0 % à 1 mg/mL. De plus, à 1 mg/mL, les extraits méthanoliques d'épis noirs (*Auricularia mesenterica*) et rouges (*Auricularia polytricha*) entouraient complètement les racines de DPPH. 100 %), tandis que l'épi des neiges (*Auricularia fuscusuccinea*, souche blanche) a piégé les racines avec 94,5 % de DPPH à 0,4 mg/mL. 25 Les effets de piégeage d'autres extraits méthanoliques avec des champignons ont été mesurés jusqu'à 0,64 mg/ml et étaient de 24,6%, 67,6%, 74,4% et 73,5% pour les *Gram*, *G. lucidum*, *G. lucidum* (andouiller) et *Ganoderma tsugae multicoloris*. Il apparaît que les capacités de piégeage des truffes du désert algérien étaient moins efficaces que celles évoquées ci-dessus. Il s'est avéré que les capacités de piégeage de *T. pinoyi* et *T. nivea* étaient similaires à celles des champignons comestibles blancs (CI =  $3,13 \pm 0,09$  mg/ml) et bruns (CI =  $2,29 \pm 0,06$  mg/ml) *Agaricus bisporus*, signalé précédemment par Reis et al. Cependant, les valeurs IC50 des truffes du désert algérien étaient inférieures aux valeurs IC50 des autres extraits méthanoliques du champignon, indiquant une activité DPPH dans le piégeage plus élevé des extraits méthanoliques des truffes étudiées. Par rapport aux extraits méthanoliques de champignons comestibles sauvages, commerciaux et spécialisés, la truffe du désert algérien était un excellent capteur de champignons DPPH

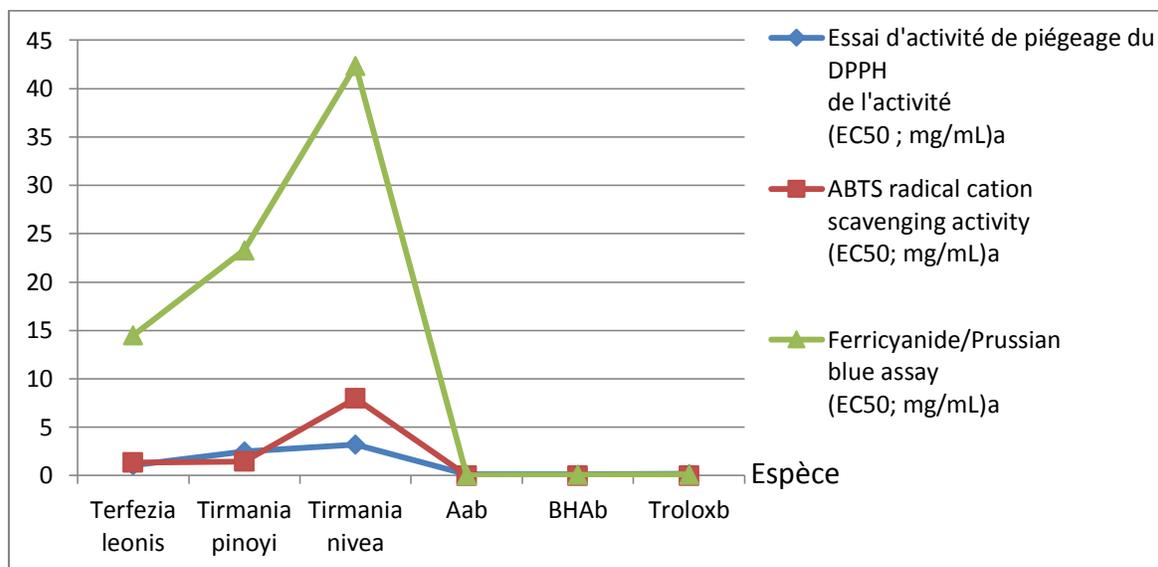
Le test ABTS est un excellent outil pour déterminer l'activité antioxydante des antioxydants donneurs d'hydrogène et briseurs de chaîne. Les activités de piégeage des radicaux libres des extraits méthanogènes de truffes du désert ont augmenté proportionnellement de manière dose-dépendante. Le BHA, l'AA et le Trolox, utilisés comme témoins positifs, ont montré une plus grande activité que les extraits testés. Les concentrations efficaces (CE50) déterminées par l'activité de piégeage des radicaux ABTS étaient de  $1,35 \pm 0,014$ ,  $1,45 \pm 0,04$  et  $7,99 \pm 0,50$  mg/mL, respectivement, pour *T. leonis*, *T. pinoyi* et *T. nivea*. Par conséquent, les espèces du genre *Terfezia* ont montré l'activité de piégeage des radicaux libres la plus élevée lors de l'interaction avec le radical ABTS. Des rapports similaires ont été faits dans des extraits méthanologiques de champignons sauvages australiens comestibles qui ont le potentiel de rechercher des ABTS.

Les propriétés antioxydantes des champignons sont généralement associées à des composés de faible poids moléculaire, en particulier des fragments phénoliques. Par conséquent, un grand groupe de ces composés phénoliques potentiellement bénéfiques pourraient être des substrats naturels d'enzymes oxydantes, telles que les peroxydases ou les polyphénols oxydases, qui sont présentes à des niveaux élevés dans les champignons.

Il a été démontré que le FRAP pour les extraits méthane de truffes augmente linéairement selon une relation concentration-dépendante. Les résultats étaient cohérents avec ceux obtenus précédemment. Les valeurs FRAP sont présentées comme une mesure de l'activité antioxydante.

L'extrait méthanologique de *T. leonis* a la puissance la plus élevée par rapport aux autres extraits de truffe. On s'attendait à ce que *T. nivea* ait le pouvoir réducteur le plus faible car la valeur FRAP était également la plus faible parmi les trois truffes. Cependant, on peut voir que *T. leonis* a un pouvoir réducteur plus élevé car il contient plus de phénols et de caroténoïdes, qui ont des propriétés antioxydantes élevées. Par conséquent, tous les extraits de méthane de truffes ont la capacité de donner de l'hydrogène. Plusieurs chercheurs ont signalé une relation linéaire entre les phénols totaux et les valeurs de FRAP. Cependant, d'autres études ont rapporté une relation non linéaire avec une forte corrélation, ce qui peut indiquer que les phénols acceptent les électrons à un taux plus élevé à mesure que le total des phénols libres augmente.

L'énergie réductrice du composé sert d'indicateur de l'activité antioxydante potentielle. Les propriétés réductrices sont généralement liées à la présence d'un agent réducteur, qui présente une activité antioxydante en brisant les réactions en chaîne qui produisent des atomes d'hydrogène, brisant ainsi la réaction en chaîne des radicaux libres. Les réductones réagissent également avec certains précurseurs du peroxyde, empêchant la formation de ce dernier. formation de ce dernier (Gouzi et al,2013).



**Figure 3.5 .** Valeurs EC50 des activités antioxydantes pour les extraits méthanoliques de truffes des genres *Terfezia* et *Tirmania*.

# **Conclusion**

### Conclusion

Des études existantes suggèrent que les champignons comestibles et économiquement importants peuvent présenter des propriétés antioxydantes et sont une bonne source d'acides gras. Par conséquent, les études futures dans ce domaine devraient s'étendre à d'autres espèces de champignons comestibles et économiquement importantes (Doğanet Aydın, 2013) car en comparant les résultats de ces articles, il a été conclu que les truffes et les champignons en conserve présentaient des pertes significatives d'activité antioxydante, tandis que les produits surgelés présentaient des pertes plus faibles. Exposition à des truffes et des champignons crus à haute activité antioxydante en tant que litière de nombreux types d'oxygène. Cette découverte soutient le remplacement des antioxydants par des extraits naturels de truffes et de champignons.

Bien que les truffes et les champignons soient consommés à volonté, ils peuvent également être de précieux compléments protéiques. Ils ont des niveaux élevés de fibres alimentaires et d'acides gras insaturés et peuvent se comparer favorablement à d'autres légumes en termes d'activité antioxydante. Ainsi, les truffes et champignons crus et surgelés peuvent être considérés comme des candidats prometteurs pour la transformation industrielle, permettant leur consommation toute l'année, et ils peuvent également être considérés comme des aliments fonctionnels.

Quant aux types qui ont été examinés dans ces études, nous constatons qu'ils contiennent de puissants antioxydants tels que les composés phénoliques. De plus, il a été vérifié que les espèces de *Terfezia* étudiées constituent d'autres nutriments importants (par exemple des minéraux et des sucres libres) ainsi que des composés bioactifs (par exemple des acides aminés essentiels et non essentiels). Les extraits d'acétate d'éthyle ont montré une activité antioxydante élevée, y compris des activités de piégeage des radicaux, et les extraits d'hexane ont montré une inhibition de la peroxydation lipidique élevée et une activité anticholinergique contre les enzymes AChE et BChE. Ces types de champignons peuvent protéger les humains contre les dommages causés par les radicaux libres, la peroxydation lipidique et la maladie d'Alzheimer, cependant, ils ont encore besoin de tests *in vivo* pour étayer ces affirmations.

# **Références**

## **Bibliographiques**

Références Bibliographiques

Articles

- 1) Dundar A. Faruk O .Yesil, Acay H.Okumus V. Ozdemir S et Yildiz A.2011.Antioxidant properties, chemical composition and nutritional value of *Terfezia boudieri* (Chatin) from Turkey.Science et technologie alimentaires internationales 18 (4) 317-328.Département de biologie, Faculté des sciences et des arts, SiirtUniversité, Siirt 56100, Turquie.
- 2) Hamza A .Zouari N . Zouari S. Jdir H , Zaidi S . Gtari M et Neffati M.2013.Nutraceutical potential, antioxidant and antibacterial activities of *Terfezia boudieri* Chatin, a wild edible desert truffle from Tunisia arid zone.Université King SaudJournal arabe de chimie.
- 3) Doğan H. et Aydın S.2013.Determination of antimicrobial effect, antioxidant activity and phenoliccontents of desert truffle in Turkey.Université de Selçuk, Faculté des sciences, Département de biologie, Campus, Konya, Turquie.
- 4) Gouzi H., Leboukh M. et Bouchouka E.2013.Antioxidant and Antiradical Properties of Methanolic Extracts from Algerian Wild Edible Desert Truffles (*Terfezia* and *Tirmania*, Ascomycetes).Journal international des champignons médicinaux, 15 (5) : 471-486 (2013).Laboratoire de Chimie Organique, Substances Naturelles et Analyse (COSNA), Département de Chimie, Faculté des Sciences, Université Abou Bekr Belkaid, B.P 119, Tlemcen 13000, Algérie.
- 5) Kıvrak İ.2014.Analytical Methods Applied to Assess Chemical Composition,Nutritional Value and In Vitro Bioactivities of *Terfezia olbiensis*and *Terfezia claveryi* from Turkey.Centre de laboratoire de recherche, Laboratoire d'analyse des aliments, Université Muğla Sıtkı Koçman, Kötekli 48000 Muğla, Turquie.Springer Science+Business Media New York.
- 6) Neggaz S.Fortas Z .Chenni M.El Abed D.Ramli B .et Kambouche N.2015. Évaluation des activités antioxydante, antibactérienne et antifongique de *Terfezia claveryi* Chatin. BP 1524 El M'naouer, Oran 31000, Algérie © Lavoisier SAS.
- 7) Saad Sabbar D . Al-Rawi S. Ibrahim A . Shah Abdul Majid A . Shah Abdul Majid A. 2016 .Antioxidant, anticancer, apoptosis properties and chemical composition of black truffle *Terfezia claveryi*.Journal saoudien des sciences biologiques .

- 8) Saleh A . et Byong H .2006.Antimicrobial and antioxidant activity of two desert Truffles, *Termania* and *Terfezia* ,Master en sience .Departement des siences alimentaires et de chimie Agricole campus Maccdonald del'university mcgill Montréal, Québec, Canada, Bibliothèque et Archives Canada.395, rue Wellington Ottawa ON K1A 0N4 Canada. pp.6-25-27 .

### Mémoires / Thèses :

- 9) Benattia Z .et Messaoudi S. 2018 .Etude de Les activités antimicrobiennes et dosage des composés phénoliques des extraits de terfez (*Terfezia arenaria*. Chatin), Diplôme de Master académique ,Département Sciences de la nature et de la vie, Université mohamed boudiaf M'sila, Alger. pp.6-7.
- 10) Bezziou N. et Khelfaoui K. 2016.Etude de la composition biochimique et activités biologiques de polysaccharides de *Terfezia arenaria* (Terfes rouge) récoltées dans le Sahara Est algérien, Master académique, Département des Sciences Biologiques, université kasdi merbah ouargla ,Alger .pp.16-18.
- 11) Sidi Boulouar H.2017.Évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits organique et aqueux des truffes marron du Sahara Algérienne *Terfezia clavaryi* sur *Staphylococcus aureus* ,Master Microbiologie appliqué , Université Aboubakr Belkaïd Tlemcen , Alger. pp.9-13.

## ملخص

الكماة هي فطر صالح للأكل ينمو تحت الأرض ضوياً وتبطن النباتات التالو عائية. تعتبر الدراسات حول النشاط المضاد للأكسدة في الكماة مهمة ولكن لم يتم إنجاز سوى القليل جداً من العمل حتى الآن. تم استخراج أجانوا مختلفة من Terfez بمحاليل استخلاص مختلفة. الميثانول والإيثانول والماء ومستخلص أسيتات الإيثيل. أظهرت هذه النتائج أن طرق الاستخلاص وطبيعة المذيبات لها تأثير كبير على نشاط مضادات الأكسدة، حيث وجدنا أن المستخلصات الميثانولية لها الأنوا عمال الكماة المدروسات لها خصائص فعالة كمضادات للأكسدة ومضادة للجذور الحرة. لذلك، يمكننا أن تكون الكماة الصحراوية البرية الصالحة للأكل بمثابة غذاء يمكن الوصول إليه غني بمضادات الأكسدة الطبيعية، أو مكمل غذائي محتمل أو دواء. تنعام لصيد لاني.

**الكلمات المفتاحية:** فطر؛ النباتات التالو عائية؛ المذيبات؛ نشاط مضاد للأكسدة؛ مضادات الأكسدة؛ مضادة للجذور الحرة؛ كما الصحراء البرية.

## Résumé

La truffe est un champignon comestible qui pousse sous terre et qui est associé aux plantes vasculaires. Les études sur l'activité antioxydante des truffes sont importantes mais très peu de travaux ont été réalisés à ce jour. Les différentes espèces de Terfez ont été extraites avec différentes solutions d'extraction. Méthanol, éthanol, eau et l'extrait à l'acétate d'éthyle. Ces résultats ont montré que les méthodes d'extraction et la nature des solvants ont un effet significatif sur l'activité des antioxydants, car nous constatons que les extraits méthanoliques de ces types de truffes étudiés ont des propriétés antioxydantes et anti-radicalaires efficaces. Par conséquent, les truffes du désert sauvages comestibles peuvent servir d'aliment accessible riche en antioxydants naturels, de complément nutritionnel potentiel ou même d'agent pharmaceutique.

**Mots-Clés :** Champignon ; plantes vasculaires; solvants ; activité antioxydante; Antioxydants ; anti-radicalaire; Truffes sauvages du désert.

## Abstract

Truffles are edible mushrooms that grow underground and are associated with vascular plants. Studies on the antioxidant activity of truffles are important but very little work has been done to date. The different Terfez species were extracted with different extraction solutions. Methanol, ethanol, water and ethyl acetate extract. These results showed that the extraction methods and the nature of the solvents have a significant effect on the antioxidant activity, as we find that the methanol extracts of these types of truffles studied have effective antioxidant and free radical scavenging properties. Therefore, wild edible desert truffles may serve as an accessible food rich in natural antioxidants, a potential nutritional supplement or even a pharmaceutical agent.

**Keywords:** Mushroom; vascular plants; solvents; antioxidant activity; antioxidants; free radical scavengers; wild desert truffles.

