



**HAL**  
open science

# Truffe du désert ; aliment à haute valeur nutritionnelle et potentiel thérapeutique : histoire et perspectives

Kadiatou Barry

► **To cite this version:**

Kadiatou Barry. Truffe du désert ; aliment à haute valeur nutritionnelle et potentiel thérapeutique : histoire et perspectives. Sciences du Vivant [q-bio]. 2020. dumas-03135998

**HAL Id: dumas-03135998**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03135998v1>**

Submitted on 9 Feb 2021

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THESE POUR L'OBTENTION DU  
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement

Par BARRY, Kadiatou

Née le 17/03/1995 à Conakry

Le 14 décembre 2020

TRUFFE DU DESERT ; ALIMENT À HAUTE VALEUR NUTRITIONNELLE  
ET FORT POTENTIEL THERAPEUTIQUE

Histoire et perspectives

Sous la direction de : Boutayna Rhourri-Frih

Sujet proposé par Dr Smail Azza

Membres du jury :  
Docteur RHOURRI-FRIH, Boutayna  
Docteur TABOUY, Laurent  
Docteur ROUGER, Caroline  
Docteur COURTOIS, Arnaud

Titre : TRUFFE DU DESERT ; ALIMENT A HAUTE VALEUR NUTRITIONNELLE ET POTENTIEL THERAPEUTIQUE : Histoire et perspectives

**Résumé :**

Les truffes du désert sont des champignons hypogés de régions arides et semi-arides qui se développent en relation mycorhizienne avec des plantes de la famille des Cistacées. Nobles culinaires, elles sont célèbres depuis des siècles pour leur richesse gustative et nutritionnelle. Les truffes du désert sont également ciblées comme produits naturels aux multiples vertus thérapeutiques en médecine traditionnelle africaine et asiatique ; parmi lesquelles le traitement d'appoint du cancer gastrique, des infections oculaires, des faiblesses et la promotion de la fertilité masculine, comme antioxydants et antimicrobiens. Outre l'usage nutritionnel et médical humain, les truffes du désert ont un intérêt agricole sur la culture des plantes et sur leur propre culture.

L'objectif de ce document est de résumer l'essentiel des connaissances collectées sur ces truffes. Ce travail rapporte également une étude menée au sein de l'Agence nationale des plantes médicinales et aromatiques du Maroc. Le but était d'optimiser l'extraction des truffes du désert par solvant avec ultrasonication et de déterminer les paramètres influents sur les compositions et les propriétés antioxydantes ; par des tests d'évaluation des composés phénoliques totaux, de la capacité antioxydante totale, du pouvoir antioxydant réducteur ferrique et de l'activité anti-radicaux. Les résultats montrent une composition phénolique et des propriétés antioxydantes notables.

Une plus ample exploration du potentiel thérapeutique, des applications non médicales et des méthodes de production des truffes du désert est essentielle pour répondre au besoin d'exploitation et d'industrialisation de ce super aliment ; mais aussi à l'augmentation de leur accessibilité, répondant ainsi à un intérêt pharmacologique et économique indéniable.

**Mots clés :** Truffe du désert ; Nutriment ; Vertus thérapeutiques ; Agriculture ; Extraction ; Antioxydant

---

Title: THE DESERT TRUFFLE; HIGH NUTRITIONAL VALUE AND THERAPEUTIC POTENTIAL FOOD: History and Perspectives

**Abstract:**

The desert truffles are a hypogeous fungus of arid and semi-arid regions that develops in mycorrhizal relationship with plants of the family Cistaceae. Culinary nobles, they have been famous for centuries for its gustatory and nutritional richness. The desert truffles are also targeted as natural products with multiple therapeutic virtues in traditional African and Asian medicine; among which the adjunctive treatment of gastric cancer, eye infections, weakness and the promotion of male fertility, as antioxidants and antimicrobials. In addition to human nutritional and medical use, the desert truffles have an agricultural interest on the cultivation of plants and on their own culture.

The objective of this document is to summarize the essential knowledge collected on these truffles.

This work also reports a study conducted within the National Agency of Medicinal and Aromatic Plants of Morocco. The aim was to optimize the extraction of the desert truffles by solvent with ultrasonication and to determine the parameters influencing the compositions and antioxidant properties; by tests to evaluate total phenolic compounds, the total antioxidant capacity, the ferric reducing antioxidant power and the radical scavenging activity. The results show significant phenolic composition and antioxidant properties.

Further exploration of the therapeutic potential, non-medical applications and production methods of desert truffles is essential to meet the need for exploitation and industrialization of this super food; but also to increase their accessibility, thus responding to an undeniable pharmacological and economic interest.

**Keywords:** Desert truffle; Nutriments; Therapeutic benefits; Agriculture; Extraction; Antioxydant

---

## Remerciements

Tout d'abord, j'adresse mes remerciements à ma directrice de thèse et responsable de M2 le Dr Rhourri-Frih pour l'intérêt porté à ce travail, pour l'encadrement apporté au cours de ce chemin.

Ensuite j'aimerais vivement remercier Dr TABOUY, Dr ROUGER et Dr COURTOIS d'avoir accepté de participer au jury de cette thèse mais aussi et avoir partagé leurs connaissances de manière très pédagogique durant les stages et enseignements.

Je tiens aussi à remercier le Dr AAZZA SMAIL et toute l'équipe sous sa direction à l'ANPMA. Ainsi que le Pr Alessandra Lopes Oliveira pour son aide et sa bienveillance depuis São Paulo.

À mes parents pour leur amour, leur dévotion et leur patience au quotidien. À mes frères (Ibrahima et Aliou) et mes piliers (Yeli et Halima) pour leur soutien sans répit, leur amour et leur foi en moi. Je ne pourrai décrire toute la gratitude que j'ai de vous avoir. Mais aussi mes cousins chéris, taties d'amour et mes oncles adorés.

À mes pharmaciens toujours en avance sans qui ces interminables années d'études n'auraient pas été aussi mémorables : mon admirable présidente Audrey, mon acolyte Houda, ma petite mamie hyperactive Leilani, ma joie-de-vie-ambulante Sophie et ma petite forever-lab-partener Richina.

À mes meilleurs amis, le sang des veines pulmonaires, pour leur soutien sans égal : mes petites mamans Xheny et Sarah, mes amours Bala et Sékou, mes BFF Nabintou et Alpha. Vous êtes mon refuge et les meilleurs cheerleaders de la planète.

À ma 'thérapeute' CCJ pour ces longues séances (précédées de repas copieux) au détriment de mes séances de sports (esprit sain dans un corps moins sain).

À Dr Johathan Ribes pour ses précieux conseils et son amitié.

À ma famille Erasmus et Master IPEP pour ces deux années internationales incroyables.

À tous mes anciens responsables et collègues pour leur accueil, leur contribution à l'avancée de mes sujets de stage et à mes formations, mais surtout pour avoir rendu ces expériences plaisantes.

*« Je fais des recherches pour augmenter mes connaissances... Si mes connaissances sont augmentées j'aurai l'esprit plus juste... Si je suis plus juste j'aurai un cœur plus pur. »*

# Table des matières

<b>REMERCIEMENTS</b> .....	<b>4</b>
<b>TABLE DES ILLUSTRATIONS</b> .....	<b>6</b>
<b>ABREVIATIONS ET LEXIQUE</b> .....	<b>9</b>
<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>11</b>
<b>1. PARTIE I : RAPPORT BIBLIOGRAPHIQUE</b> .....	<b>15</b>
1.1. ASPECTS GEOGRAPHIQUES .....	15
1.2. ASPECTS BOTANIQUES .....	20
1.3. ACTIVITES THERAPEUTIQUES ET NON THERAPEUTIQUES .....	23
2.3.1. <i>Aliments précieux</i> .....	23
2.3.2. <i>Usages médicaux</i> .....	24
1.4. ASPECTS PHYTOCHIMIQUES .....	29
2.3.3. <i>Composants</i> .....	29
2.3.4. <i>Méthodes d'extraction</i> .....	34
2.3.5. <i>Méthodes analytiques</i> .....	35
1.4. PRODUCTION CONTROLEE.....	40
<b>2. PARTIE II : RAPPORT EXPERIMENTAL</b> .....	<b>44</b>
2.1. PRESENTATION DU PROJET ET DE SES OBJECTIFS .....	44
2.2. MATERIAUX ET METHODES .....	44
2.3.1. <i>Criblage des solvants</i> .....	44
2.3.2. <i>Optimisation du mélange de solvants</i> .....	45
2.3.3. <i>Conditions d'extraction optimales</i> .....	46
2.3.4. <i>Étude des conditions de stockage</i> .....	47
2.3.5. <i>Préparation des échantillons</i> .....	48
2.3.6. <i>Composés phénoliques totaux (CPT)</i> .....	48
2.3.7. <i>Capacité antioxydante totale (CAT)</i> .....	49
2.3.8. <i>Pouvoir antioxydant réducteur du fer (FRAP)</i> .....	50
2.3.9. <i>Activité de piégeage des radicaux libres (DPPH)</i> .....	50
2.3.10. <i>Analyses statistiques</i> .....	51
2.3. RESULTATS .....	51
2.3.1. <i>Criblage des solvants</i> .....	51
2.3.2. <i>Optimisation du mélange de solvants</i> .....	55
1.5.3. <i>Conditions d'extraction optimales</i> .....	64
1.5.4. <i>Étude des conditions de stockage</i> .....	68
2.4. DISCUSSION .....	73
<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES</b> .....	<b>75</b>
<b>REFERENCES</b> .....	<b>76</b>
<b>ANNEXES</b> .....	<b>81</b>
1. ANNEXE 1 : PROTOCOLES ANALYSES ANPMA .....	81
2. ANNEXE 2 : TRAITEMENTS STATISTIQUES .....	82
<i>Optimisation du mélange de solvants</i> .....	82
<i>Conditions d'extraction optimales</i> .....	87

## Table des illustrations

FIGURE 1 : L'INTERET SUR LES TRUFFES DU DESERT SCOPUS (24/11/2020, 137 DOCUMENTS TROUVES); 1-NUMERO DE DOCUMENT PAR ANNEE, 2- DOCUMENTS PAR SOURCE, 3-DOCUMENTS PAR DOMAINE .....	13
FIGURE 2 : GRAPHIQUE DES RESULTATS DE RECHERCHE D'ARTICLES SUR SCIENCE DIRECT (NOMBRE DE DOCUMENTS OBTENUS EN UTILISANT COMME MOT CLE `` MUSHROOMS, TRUFFLES, WHITE TRUFFLES, TRUFFES NOIRES ET `` DESERT TRUFFLES``).....	14
FIGURE 3 : TERFEZIA SP. COLLECTES D'UNE ASSOCIATION MYCORHIZIENNE AVEC <i>HELIANTHEMUM</i> SP. (CISTACEES)	15
FIGURE 4 : <i>HELIANTHEMUM LIPPII</i> .....	15
FIGURE 5 : REPARTITION GEOGRAPHIQUE DE LA TRUFFE DU DESERT REPRODUIT A PARTIR DE BATCHGEO GRACE AUX INFORMATIONS DES ARTICLES CITES PRECEDEMMENT (LISTE NON EXHAUSTIVE ET POSITION APPROXIMATIVE DU MARQUEUR) .....	16
FIGURE 6 : ANATOMIE DE LA TRUFFE DU DESERT : QUELQUES CARACTERISTIQUES DES FRUCTIFICATIONS DE <i>TERFEZIA ARENARIA</i> (A : ASCOCARPE, B : SECTION D'ASCOCARPE, ET C : ASQUE AVEC ET SIX ASCOSPORES), <i>TERFEZIA CLAVERYI</i> (D : ASCOCARPE, E : SECTION D'ASCOCARPE, ET F : ASCOSPORES) ET <i>TIRMANIA NIVEA</i> (G : ASCOCARPE, H : SECTION D'ASCOCARPE, ET I : ASQUE AVEC ET HUIT ASCOSPORES) PRELEVES DANS LE DESERT DU SAHARA ALGERIEN DU NORD. EXTRAIT DE « DESERT TRUFFLES OF THE NORTH ALGERIAN SAHARA: DIVERSITY AND BIOECOLOGY » .....	20
FIGURE 7 : «DIAMANTS DANS LA SALETE» ARABIE SAOUDITE .....	24
FIGURE 8 : PRODUITS COSMETIQUES CONTENANT DES EXTRAITS DE TRUFFE BLANCHE .....	27
FIGURE 9 : STRUCTURES CHIMIQUES DES PRINCIPAUX COMPOSES DE LA TRUFFE DU DESERT .....	30
FIGURE 10 : GRAPHIQUE DE COMPARAISON DE LA PROPORTION DE NUTRIMENTS DANS 100G D'ALIMENT .....	34
FIGURE 11 : IDENTIFICATION DES PRINCIPAUX COMPOSES ACTIFS DE L'EXTRAIT HEXANE DE <i>T. CLAVERYI</i> : (A) TABLEAU DES RESULTATS DE LA GC/MS (B) CHROMATOGRAMME TIC MONTRANT LES PICS DES PRINCIPAUX COMPOSES ACTIFS (LSTIGMASTEROL, BETA-SITOSTEROL, SQUALENE, ...) .....	36
FIGURE 12 : PROFILS D'ACIDES GRAS REPRESENTATIFS DU CHROMATOGRAMME GC-FID DES ORGANES DE FRUCTIFICATION DE <i>T. AESTIVUM</i> . (A) GLOBAL, (B) GLOBAL ELARGI DE (A) .....	36
FIGURE 13 : QUANTIFICATION DES COVS PAR INJECTION DE FIBRE SPME DANS UN GCMS (DETECTEUR QUADRIPOLE) .....	38
FIGURE 14 : COMPARAISON DE CINQ ESPECES DE TRUFFES PAR LEUR CHROMATOGRAMME DE TIC (IND: TUBER INDICUM; MEL: TUBER MELANOSPORUM; PAN: TUBER PANZHUIHUANENSE; SIN: TUBER SINOAEESTIVUM; PSE: TUBER PSEUDOEXCAVATUM) .....	39
FIGURE 15 : CYCLE DE VIE DES TRUFFES .....	40
FIGURE 16 PRODUCTION DE PLANTES MYCORHIZIENNES IN VIVO ET IN VITRO (GERMINATION DES GRAINES, CROISSANCE DES PLANTES, INOCULATION ET MYCORHISATION) ; INSPIREE DE .....	41
FIGURE 17 : REPARTITION GEOGRAPHIQUE DES PLANTATIONS DE TRUFFES DU DESERT [(5)(43)] : ESPAGNE ( <i>TERFEZIA CLAVERYI</i> , <i>PICOA LEFEBVREI</i> , <i>TIRMANIA NIVEA</i> ET <i>TERFEZIA ARENARIA</i> ), UNITED ARAB EMIRATE ( <i>TERFEZIA BOUDIERI</i> ET <i>TERFEZIA NIVEA</i> ), TUNISIE ( <i>TERFEZIA BOUDIERI</i> ) ET ISRAEL ( <i>TERFEZIA BOUDIERI</i> ).....	42
FIGURE 18 X1= METHANOL, X2 = EAU, X3= ETHANOL .....	45
FIGURE 19 : GRAPHIQUE COURBE D'ETALONNAGE CPT (AVEC L'ETALON ACIDE GALLIQUE) .....	49
FIGURE 20 : COURBE D'ETALONNAGE CAT (AC ASCORBIQUE).....	50
FIGURE 21 : DIAGRAMME CPT DU CRIBLAGE DE SOLVANT.....	52
FIGURE 22 : DIAGRAMME DE DEPISTAGE DES SOLVANTS CAT .....	53
FIGURE 23 : DIAGRAMME DE CRIBLAGE DE SOLVANT FRAP .....	54
FIGURE 24 : DIAGRAMME CPT DE L'OPTIMISATION DES MELANGES .....	56
FIGURE 25 : SURFACE DE REPONSE CPT DE L'OPTIMISATION DES MELANGES DE SOLVANTS.....	57
FIGURE 26 : TABLEAU DE PARETO D'OPTIMISATION DU MELANGE DE SOLVANTS CPT .....	58
FIGURE 27 : SURFACES DE REPONSES CPT DE L'OPTIMISATION DES EXTRAITS DE MELANGES DE SOLVANTS .....	58
FIGURE 28 : DIAGRAMME D'OPTIMISATION DU MELANGE CAT .....	59
FIGURE 29 : SURFACES DE REPONSES CAT DE L'OPTIMISATION DES EXTRAITS DE MELANGES DE SOLVANTS .....	60
FIGURE 30 : SURFACES DE REPONSES CAT DE L'OPTIMISATION DES EXTRAITS DE MELANGES DE SOLVANTS .....	60
FIGURE 31 : DIAGRAMME D'OPTIMISATION DU MELANGE FRAP .....	61
FIGURE 32 : DIAGRAMME D'OPTIMISATION DU MELANGE DE SOLVANTS DPPH .....	62

FIGURE 33 : SURFACES DE REPNSES FRAP DE L'OPTIMISATION DES EXTRAITS DE MELANGES DE SOLVANTS .....	63
FIGURE 34 : SURFACES DE REPNSES DPPH DE L'OPTIMISATION DES EXTRAITS DE MELANGES DE SOLVANTS .....	63
FIGURE 35 : DIAGRAMME CPT DES CONDITIONS OPTIMALES D'EXTRACTION .....	65
FIGURE 36 : DIAGRAMME DPPH DES CONDITIONS OPTIMALES D'EXTRACTION .....	66
FIGURE 37 : SURFACE DE REPONSE CPT DE L'ETUDE DES CONDITIONS D'EXTRACTION OPTIMALES.....	67
FIGURE 38 : SURFACE DE REPONSE DPPH DE L'ETUDE DES CONDITIONS D'EXTRACTION OPTIMALES.....	68
FIGURE 39 : DIAGRAMME CPT DE L'ETUDE DE L'INFLUENCE DES CONDITIONS DE STOCKAGE .....	69
FIGURE 40 : DIAGRAMME CAT DE L'ETUDE DE L'INFLUENCE DES CONDITIONS DE STOCKAGE .....	70
FIGURE 41 : DIAGRAMME FRAP DE L'ETUDE DE L'INFLUENCE DES CONDITIONS DE STOCKAGE .....	71
FIGURE 42 : DIAGRAMME DPPH DE L'ETUDE DE L'INFLUENCE DES CONDITIONS DE STOCKAGE.....	72
FIGURE 43 : COURBE D'INFLUENCE DES CONDITIONS DE STOCKAGE .....	73
FIGURE 44 : SURFACE DE REPONSE CAT DE L'OPTIMISATION DES MELANGES DE SOLVANTS .....	83
FIGURE 45 : TABLEAU DE PARETO D'OPTIMISATION DU MELANGE DE SOLVANTS CAT .....	84
FIGURE 46 : SURFACE DE REPONSE FRAP DE L'OPTIMISATION DES MELANGES DE SOLVANTS .....	85
FIGURE 47 : DIAGRAMME DE PARETO DE L'OPTIMISATION DU MELANGE DE SOLVANTS FRAP .....	85
FIGURE 48 : SURFACE DE REPONSE DPPH DE L'OPTIMISATION DES MELANGES DE SOLVANTS.....	86
FIGURE 49 : DIAGRAMME DE PARETO DE L'OPTIMISATION DU MELANGE DE SOLVANTS DPPH .....	87
FIGURE 50 : SURFACE DE REPONSE CPT DE L'ETUDE DES CONDITIONS D'EXTRACTION OPTIMALES .....	88
FIGURE 51 : DIAGRAMME DE PARETO DE L'ETUDE DES CONDITIONS D'EXTRACTION OPTIMALES TPC.....	88
FIGURE 52 : SURFACE DE REPONSE DPPH DE L'ETUDE DES CONDITIONS D'EXTRACTION OPTIMALES.....	89
FIGURE 53 : DIAGRAMME DE PARETO DE L'ETUDE DES CONDITIONS D'EXTRACTION OPTIMALES DPPH .....	90

TABLEAU 1 : TRUFFES COMESTIBLES DU DESERT, ESPECES DE PLANTES HOTES, BESOINS EN SOL ET REGION 17	
TABLEAU 2 : EXEMPLE DES CONDITIONS CLIMATIQUES DANS LES PAYS OU LA TRUFFE DU DESERT EST RECOLTEE NATURELLEMENT .....	19
TABLEAU 3 : QUELQUES ESPECES DE TRUFFES DU DESERT, TABLEAUX REPRODUIT A PARTIR DE « BIOECOLOGY AND USES OF DESERT TRUFFLES (PEZIZALES) IN THE MIDDLE EAST » .....	21
TABLEAU 4 : APPLICATION BIOMEDICALE DES TRUFFES DU DESERT .....	25
TABLEAU 5 : COMPARAISON ENTRE LES TRUFFES BLANCHES ET LES TRUFFES DU DESERT .....	27
TABLEAU 6 : COMPOSITION CHIMIQUE DE DIFFERENTES ESPECES DE TRUFFE DU DESERT (G/100G SUR LA BASE DE LA MATIERE SECHE) TABLEAU REPRODUIT A PARTIR DE «BIOECOLOGY AND USES OF DESERT TRUFFLES (PEZIZALES) IN THE MIDDLE EAST . WALAILAK J SCI TECHNOL. 1 MARS 2018» DONNEES COLLECTEES COMPLETEES A PARTIR DE .....	31
TABLEAU 7 : EXEMPLES D'APPORTS DE TERFEZIA CLAVERYI DANS L'ALIMENTATION QUOTIDIENNE.....	33
TABLEAU 8 : LISTE DES SOLVANTS .....	45
TABLEAU 9 : CONFIGURATION DES MELANGES DE SOLVANTS .....	46
TABLEAU 10 : PLAN EXPERIMENTAL DE L'OPTIMISATION DES CONDITIONS D'EXTRACTION .....	47
TABLEAU 11 : TEMPERATURE ET D'ECLAIRAGE .....	47
TABLEAU 12 : VALEURS DE CPT DU CRIBLAGE DES SOLVANTS .....	52
TABLEAU 13 : VALEURS DU TABLEAU DE DEPISTAGE DES SOLVANTS CAT .....	53
TABLEAU 14 : VALEURS DU TABLEAU DE CRIBLAGE DES SOLVANTS FRAP .....	54
TABLEAU 15 : ANALYSE DES TESTS D'OPTIMISATION DES MELANGES PAR ANOVA .....	55
TABLEAU 16 : VALEURS DU TEST CPT DE L'OPTIMISATION DES MELANGES DE SOLVANTS.....	56
TABLEAU 17 : METHODE DE SURFACE DE REPONSE DU TEST CPT, TABLEAU DES PARAMETRES STATISTIQUES.....	57
TABLEAU 18 : VALEURS DU TEST CAT DE L'OPTIMISATION DU MELANGE DE SOLVANTS .....	59
TABLEAU 19 : VALEURS DU TEST FRAP DE L'OPTIMISATION DU MELANGE DE SOLVANTS.....	61
TABLEAU 20 : VALEURS DU TEST DPPH DE L'OPTIMISATION DU MELANGE DE SOLVANTS .....	62
TABLEAU 21 : VALEURS DU TEST CPT DES CONDITIONS OPTIMALES D'EXTRACTION .....	65
TABLEAU 22 : VALEURS DU TEST DPPH DES CONDITIONS OPTIMALES D'EXTRACTION.....	66
TABLEAU 23 : VALEURS DU TEST CPT DE L'ETUDE DE L'INFLUENCE DES CONDITIONS DE STOCKAGE .....	69
TABLEAU 24 : VALEURS DU TEST CAT DE L'ETUDE DE L'INFLUENCE DES CONDITIONS DE STOCKAGE .....	70
TABLEAU 25 : VALEURS DU TEST FRAP DE L'ETUDE DE L'INFLUENCE DES CONDITIONS DE STOCKAGE.....	71



TABLEAU 26 : VALEURS DU TEST DPPH DE L'ETUDE DE L'INFLUENCE DES CONDITIONS DE STOCKAGE .....	72
TABLEAU 27 : METHODES DE SURFACE DE REPONSE CAT TABLEAU DES PARAMETRES STATISTIQUES .....	82
TABLEAU 28 : METHODES DE SURFACE DE REPONSE FRAP TABLEAU DES PARAMETRES STATISTIQUES.....	84
TABLEAU 29 : METHODES DE SURFACE DE REPONSE CPT TABLEAU DES PARAMETRES STATISTIQUES.....	87
TABLEAU 30 : METHODES DE SURFACE DE REPONSE DPPH TABLEAU DES PARAMETRES STATISTIQUES .....	89

## Liste des annexes

Annexe 1 : Protocoles analyses ANPMA

Annexe 2 : Traitements statistiques

Annexe 3 : Serment de Galien

## Abréviations et lexique

<b>ANPMA</b>	Agence Nationale des Plantes Médicinales et Aromatiques
<b>BAM</b>	Bactéries auxiliaires de la mycorhization
<b>CAT</b>	Capacité antioxydante totale, Total Antioxydant Capacity en anglais
<b>COVs</b>	Composés organiques volatils
<b>CPG</b>	Chromatographie en phase gazeuse, GC en anglais
<b>CPT</b>	Composés phénoliques totaux, Total Phenolic Compound en anglais
<b>DPPH</b>	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
<b>EtOH</b>	Éthanol
<b>FID</b>	Détecteur à ionisation de flamme de l'anglais flame-ionization detection
<b>FRAP</b>	Pouvoir antioxydant réducteur du fer, de Ferric Reducing-Antioxidant Power
<b>GPC</b>	Chromatographie perméation de gel
<b>HPGPC</b>	Chromatographie par perméation de gel à haute performance
<b>HPLC</b>	Chromatographie liquide haute performance
<b>HR-TOF/MS</b>	Spectrométrie de masse à temps de vol à haute résolution
<b>MeOH</b>	Méthanol
<b>RFPC</b>	Rhizobactéries favorisant la croissance des plantes
<b>TIC</b>	Courant ionique total de l'anglais Total ion current
<b>ANOVA</b>	Analyse de la variance, ensemble de modèles statistiques permet d'étudier l'effet des Variables qualitatives sur une variable quantitative, vérifier si les moyennes des groupes Proviennent d'une même population
<b>Ectomycorhize</b>	Forme de symbiose mycorhizienne dans laquelle les hyphes s'infiltrent entre les cellules racinaires, dans l'espace intercellulaire
<b>Endomycorhize</b>	Forme de symbiose mycorhizienne dans laquelle le mycélium pénètre à l'intérieur des cellules racinaires
<b>Hyphes</b>	Filament constitutif du mycélium des champignons supérieurs et des lichens
<b>Hypogé(s)</b>	Qui vit ou se développe dans le sous-sol, souterrain
<b>Mycorhizienne</b>	Association symbiotique entre des champignons et les racines des plantes
<b>Symbiose</b>	Association biologique, durable et réciproquement profitable, entre deux organismes vivants

**« Sans feuilles, sans bourgeons : pourtant ils proviennent de fruits ;  
comme aliment, comme tonique, comme médicament : toute la  
création est précieuse. »**

Poème des temples égyptiens

## Introduction

Les truffes, connues sous le nom de "diamant de la cuisine", sont des macromycètes souterrains dont la production mondiale se chiffre en centaines de tonnes (1) et dont le coût moyen, selon les espèces, peut varier de 150 à 8000 \$ par kilogramme (Truffle price tracker, 2020/05 (2)). Ce coût élevé est principalement dû à la difficulté d'acquérir ces champignons hypogés dans la nature et à la relative jeunesse de l'exploration de sa production agricole. Les truffes du désert sont l'un des types les plus accessibles sur le marché (10 à 200\$ le kg en ligne, <40\$ le kg sur les marchés arabes). Elles sont également largement réparties géographiquement, principalement tout autour du bassin méditerranéen et de la péninsule arabique (Europe du Sud, Afrique du Nord et Moyen-Orient) et plus rarement en Afrique du Sud et en Amérique du Nord. Étymologiquement, "Terfezia" vient de l'arabe "Terfass" ou "Terfes" (3). Ces fructifications sont connues sous plusieurs noms locaux tels que kamma (signifie "caché"), kemeh, manne ("don de Dieu") terfass, fagga ("pousse le sol"), ou zubaydi au Moyen-Orient et en Afrique du Nord ; Kurya, Masa en Afrique du Sud ; et "hohbar" ( qui signifie "un petit morceau de viande fine et désossée"), par les Bédouins, Arabes nomades vivant dans les déserts d'Arabie, de Syrie, du Sinaï et du Sahara (4)(5).

Les espèces les plus abondantes que l'on trouve appartiennent aux genres *Terfezia*, *Tirmania* et *Picoa*. Elles existent sur les commerces à l'état frais, secs, en conserve, en soupe, etc...

Comme d'autres truffes et champignons, les truffes du désert sont utilisées comme aliment depuis des siècles. Tout d'abord pour leur haute valeur nutritionnelle, riche en glucides, en protéines, en acides gras, en fibres, en acides aminés et en d'autres nutriments importants ; ensuite pour leur goût particulièrement apprécié.

Les truffes du désert ont également une longue histoire dans la médecine traditionnelle, de l'Afrique du Nord pour les affections oculaires, à l'Asie de l'Est pour les affections gastriques.

Les truffes du désert représentent une ressource importante que ce soit pour la consommation ou comme revenu financier, en particulier pour la population locale de la région méditerranéenne.

En ce qui concerne ses avantages nutritionnels et ses vertus traditionnelles revendiquées, les truffes du désert suscitent un grand intérêt pour une application moderne dans les industries cosmétiques et pharmaceutiques.

Plus récemment, ses propriétés antioxydantes, antifongiques et antibactériennes ont révélé leur potentiel application dans la culture végétale et dans l'industrie alimentaire.

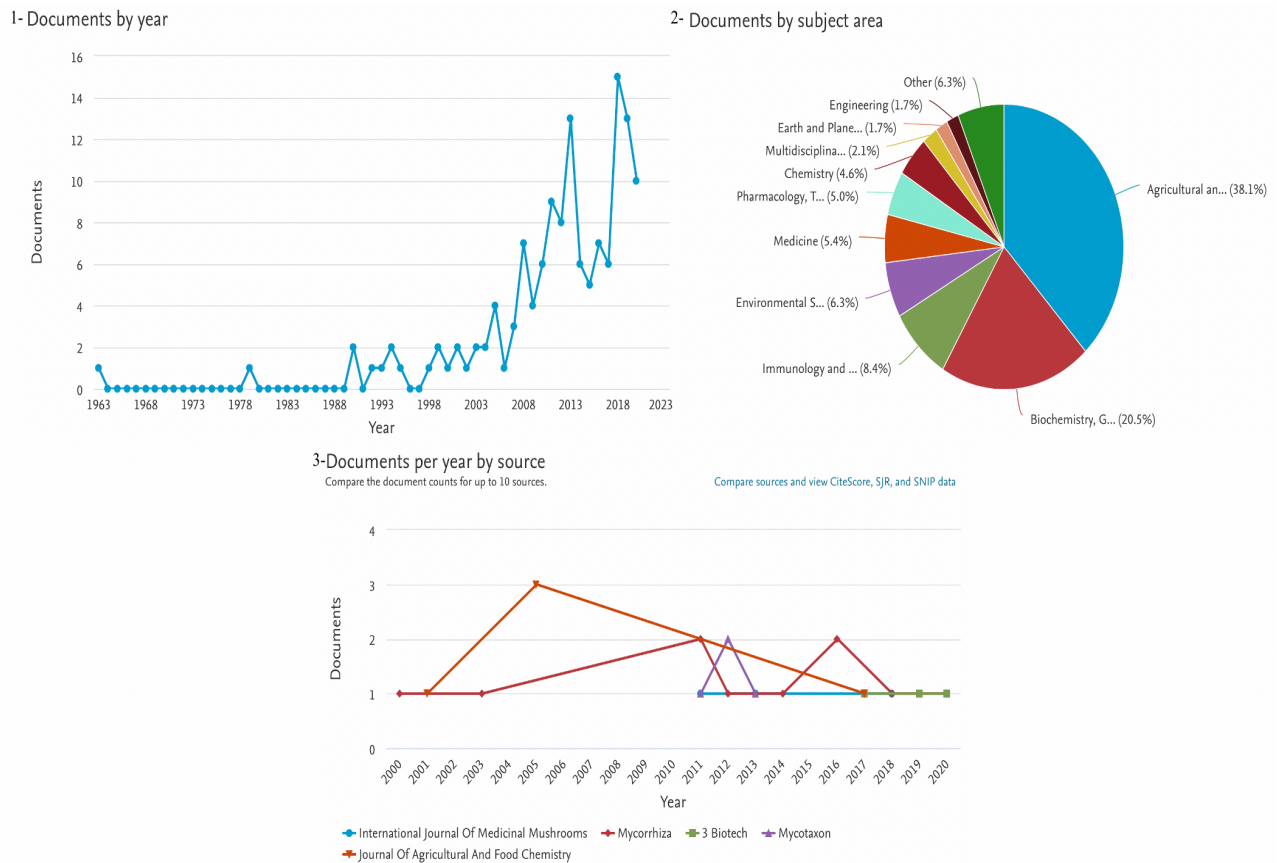
L'intérêt scientifique autour de la truffe du désert est indéniablement en pleine croissance, en effet, une recherche sur la base de données Scopus montre une augmentation de 0 article depuis le premier reporté en 1963 (6) à plus de 5 articles en moyenne par an depuis 2008, avec 15 en 2018, 13 en 2019 et 10 en 2020 (voir Figure 1-1) (7). Cet éveil scientifique autour de la truffe du désert en concerne principalement l'agriculture.

Les quelques articles disponibles sur la truffe du désert englobent également la botanique, l'écologie, la distribution, la taxonomie, les utilisations traditionnelles et les usages thérapeutiques du champignon.

Outre l'ethnomycologie, la plupart des articles décrivent également la composition chimique et revendiquent une valeur nutritionnelle élevée, il existe des variations dans les proportions du contenu selon l'espèce et les conditions de croissance notamment.

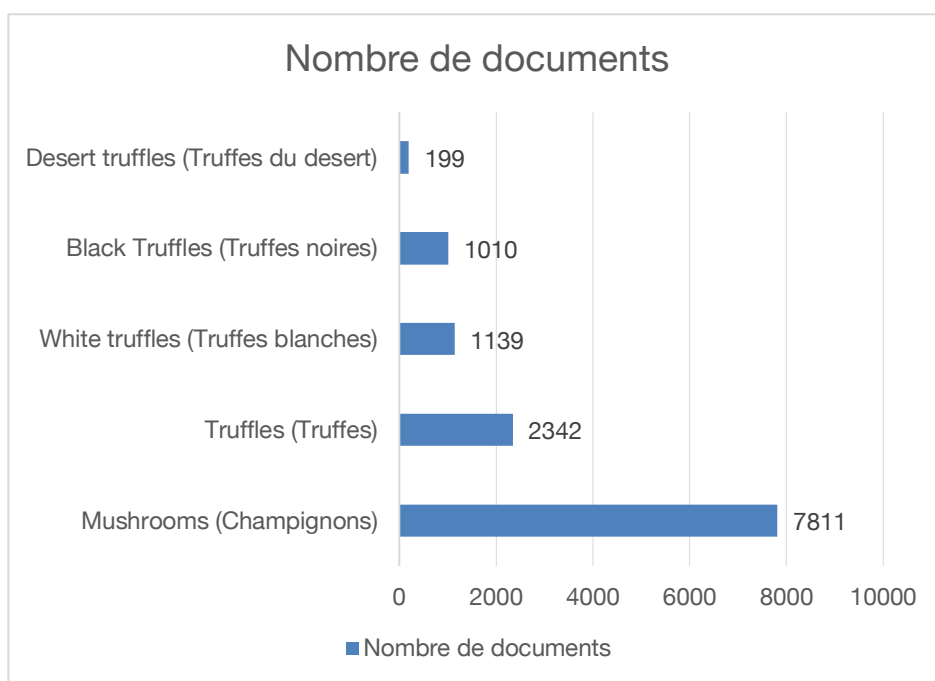
Certaines études portent sur le profil biologique et génétique, donc sur la diversité des truffes.

Plus récemment, on s'intéresse de plus en plus à leur potentiel thérapeutique (effet préventif et curatif) et aux essais biologiques pour comprendre leurs activités. Il existe également des études sur l'amélioration de la production et les applications potentielles de la truffe, notamment de son utilisation dans l'agriculture (Figure 1-2). Les principales sources d'informations sont les journaux de mycologie, d'alimentation et d'agriculture, de médecine ou de biotechnologies (Figure 1-3).



**Figure 1 : L'intérêt sur les truffes du désert Scopus (24/11/2020, 137 documents trouvés); 1-Numéro de document par année, 2- Documents par source, 3-Documents par domaine (7)**

La majorité de la littérature scientifique sur la mycologie à laquelle nous pouvons accéder sur la plateforme de ScienceDirect par exemple sont des documents sur les champignons plutôt que sur les truffes, de plus principalement sur des truffes européennes, et moins sur les espèces de truffe du désert elles-mêmes (figure 2) ; Ainsi, les possibilités de recherche sont encore vastes.



**Figure 2 : Graphique des résultats de recherche d'articles sur ScienceDirect (nombre de documents obtenus en utilisant comme mot clé `` Mushrooms, Truffles, White Truffles, Truffes noires et " Desert Truffles")**

L'objectif de ce travail est de résumer les principales études réalisées sur les truffes du Désert et l'essentiel des connaissances ancestrales. Certains des documents recueillis traitent des champignons et des truffes en général, mais l'attention sera portée sur les informations qui concernent les truffes du désert en particulier.

Ce document rapportera également le travail expérimental mené au sein de l'Agence nationale des plantes médicinales et aromatiques du Maroc, sur l'optimisation des extractions par solvants avec ultrasonication et l'exploration du pouvoir antioxydant des extraits ainsi que des conditions de stockage optimales.

Ainsi, cette thèse donne un aperçu de la répartition géographique des truffes du désert, leur description botanique et leurs usages. Mais aussi de leurs composants et les études phytochimiques menés pour leur analyse ; Elle va également abordée leur culture sauvage et contrôlée.

Soulignant *in fine*, l'importance des recherches menées et l'intérêt d'aller plus loin dans la connaissance et l'exploitation de ces trésors du désert.

# 1. PARTIE I : RAPPORT BIBLIOGRAPHIQUE

## 1.1. Aspects géographiques

Les truffes du désert sont des *macromycetes hypogées* (10 à 30 cm sous terre (1)) qui poussent dans des relations symbiotiques mycorhizienne avec diverses plantes hôtes de la famille des *Cistacées* (*Helianthemum* spp) (8) (Figures 3 et 4). Comme ils sont hors de vue, certains chercheurs de truffes utilisent des cochons et des chiens pour les trouver, aidés par l'arôme spécifique des champignons.



Figure 3 : *Terfezia* sp. collectés d'une association mycorhizienne avec *Helianthemum* sp. (Cistacées) (5)



Figure 4 : *Helianthemum lippii* (5)

La truffe du désert pousse de manière saisonnière, au milieu de l'hiver et en automne, après des pluies favorables (de 50 et 380 mm) (9) dans les zones arides et semi-arides, principalement dans des sols sablonneux, calcaires ou argileux, acides et alcalins (10). Ainsi, ils poussent et sont principalement récoltés en Afrique (Maroc, Libye, Égypte, Algérie, Tunisie, Botswana et Afrique du Sud), en Europe du Sud (Espagne, Italie, Portugal, France), au Moyen-Orient (Bahreïn,

15



Jordanie, Syrie, Irak, Oman, Koweït, Arabie saoudite) et en Asie de l'Est (Chine et Japon) (Figure 5) [(8)(9) (11) (12)]. Leur répartition géographique est bien entendu étroitement liée à celle de leur plante hôte, l'Hélianthème.



**Figure 5 : Répartition géographique de la truffe du désert reproduit à partir de batchgeo grâce aux informations des articles cités précédemment (liste non exhaustive et position approximative du marqueur) (10)**

La qualité et l'abondance de la truffe dépendent des conditions de croissance, y compris les propriétés du sol (tableau 1), les conditions climatiques avec pour principal facteur la température, la quantité et la distribution des précipitations dans le pays (13). Le tableau 2 illustre des températures et des précipitations annuelles moyennes dans les pays cités précédemment, où les truffes du désert sont présentes. La variation des précipitations annuelles d'une année, voire d'un mois, à l'autre est particulièrement notable dans les zones arides, tout comme les fluctuations de température entre la nuit et le jour (respectivement de 10 à 45 centigrades). L'humidité en revanche est généralement faible.

Tableau 1 : Truffes comestibles du désert, espèces de plantes hôtes, besoins en sol et région (3)(13)

<b>Truffes du désert comestibles</b>	<b>Plantes hôtes *non exhaustif</b>	<b>pH du sol</b>	<b>Présence géographique *non exhaustif</b>
<i>Choiromyces magnusii</i>	<i>Cistus ladanifer</i>	Acide	Région méditerranéenne
<i>Mattirolomyces terfezioides</i>	<i>Cistus spp, Prunus spp</i> <i>Helianthemum ovatum</i> <i>Robinia pseudoacacia</i>	Alcalin neutre	Espagne, Hongrie, Chine
<i>Picoa juniperi</i>	<i>Helianthemum spp</i>	Alcalin	Région méditerranéenne, centre Europe
<i>Picoa lefebvrei</i>	<i>Helianthemum spp</i>	Alcalin	Israël, Iran, Espagne, Tunisie
<i>Terfezia arenaria</i>	<i>Tuberaria guttata</i>	Acide	Afrique du Nord, Péninsule ibérique
<i>Terfezia boudieri</i>	<i>Helianthemum lippii</i> <i>Helianthemum salicifolium</i> <i>Helianthemum sessiliflorum</i>	Alcalin	Afrique du Nord, Îles Canaries et région méditerranéenne, Moyen-Orient

<i>Terfezia canariensis</i>	<i>Helianthemum canariense</i>	Alcalin	Îles Canaries
<i>Terfezia claveryi</i>	<i>Helianthemum canariense</i> <i>Helianthemum salicifolium</i> <i>Helianthemum almeriense</i> <i>Helianthemum guttatum</i>	Alcalin	Afrique du Nord et région méditerranéenne, Moyen-Orient
<i>Terfezia fanfani</i>	<i>Tuberaria guttata</i>	Acide	Région méditerranéenne
<i>Terfezia leptoderma</i>		Acide	Espagne
<i>Tirmania nivea</i>	<i>Helianthemum lippii</i>	Alcalin	Afrique du Nord, Espagne, Arabie Saoudite, Bahreïn et Koweït
<i>Tirmania pinoyi</i>	<i>Helianthemum lippii</i> <i>Helianthemum salicifolium</i>	Alcalin	Afrique du Nord
<i>Tuber lacunosum</i>	<i>Tuberaria guttata</i>	Acide	Région méditerranéenne
<i>Tuber oligospermum</i>	<i>Pinus spp,</i> <i>Quercus spp,</i> <i>Cistus spp</i>	Acide-alcalin	Afrique du nord et région méditerranéenne, Palestine, Amérique du nord (Québec)

Tableau 2 : Exemple des conditions climatiques dans les pays où la truffe du désert est récoltée naturellement

Pays	Température (°C)	Précipitations (mm)
Libye	19,7	266
Algérie	16,9	349
Tunisie	18,1	448
Maroc	9,7	968
Égypte	15,7	1211
Botswana	19,5	468
Afrique du Sud	16	790
Espagne	18,6	576
France	14,2	588
Italie	18,4	605
Portugal	16,9	691
Bahreïn	26,1	78,9
Koweït	25	88
Oman	28,2	92
Arabie Saoudite	25,4	111
Irak	22,6	157
Israël	26	120
Jordanie	16,6	350
Syrie	16,4	422
Chine	13,2	517
Japon	10,5	1319

\*Données climatique recueillies de (14)

## 1.2. Aspects botaniques

Cette délicatesse spongieuse est un corps fructifère sans os ni autres caractéristiques denses, comme les champignons, avec une forme sphérique irrégulière de 1-7 cm (Figure 6), de couleur blanche (*Tirmania Nivea*) brune (*Terfezia claveryi*) ou noire (*Terfezia boudieri*) (15).

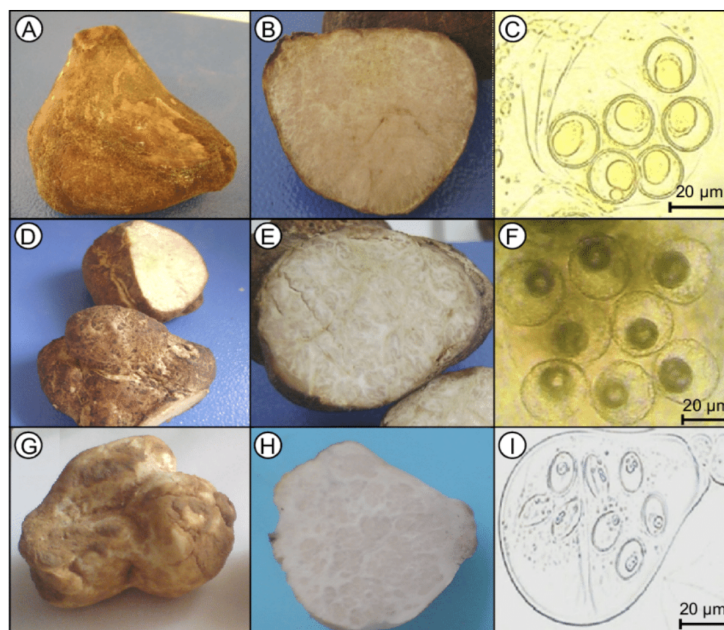


Figure 6 : Anatomie de la truffe du désert : quelques caractéristiques des fructifications de *Terfezia arenaria* (A : Ascocarpe, B : section d'ascocarpe, et C : asque avec et six ascospores), *Terfezia claveryi* (D : Ascocarpe, E : section d'ascocarpe, et F : ascospores) et *Tirmania nivea* (G : Ascocarpe, H : section d'ascocarpe, et I : asque avec et huit ascospores) prélevés dans le désert du Sahara algérien du Nord. Extrait de « Desert Truffles of the North Algerian Sahara: Diversity and Bioecology » (16)

Sur le plan taxonomique, les truffes du désert sont des champignons de la division des Ascomycètes, du sous-embranchement de *Pezizomycotina*, de la classe des Pezizomycetes, de la sous-classe des Pezizomycetidae et de l'ordre des Pezizales (17).

La plupart des espèces de truffes du désert sont de la famille des Tuberacées et des Terfeziaceae et des genres de *Terfezia* (*Terfezia arenaria*, *Terfezia boudieri*, *Terfezia claveryi*, *Terfezia leptoderma*), *Tirmania* (*Tirmania pinoyi*), *Tirmania nivea*), *Delastria* (*Delastria rosea*), *Balsamia*, *Picoa* (*Picoa juniperi*), *Phaeangium* (*Phaeangium Lefebvrei*), *Leucangium*, *Delastreopsis*, certains *Tuber* (*Tuber oligospermum*, *Tuber asa-foetida*), etc... (Tableau 3) [(17) (18)].

Tableau 3 : Quelques espèces de truffes du désert, tableaux reproduit à partir de « Bioecology and Uses of Desert Truffles (Pezizales) in the Middle East » (12)

Famille	Genre	Espèce
Pezizacées	<i>Terfezia sp.</i>	<i>Terfezia albida</i>
		<i>Terfezia arenaria</i>
		<i>Terfezia boudieri</i>
		<i>Terfezia canariensis</i>
		<i>Terfezia claveryi</i>
		<i>Terfezia combonii</i>
		<i>Fissure de terfezia</i>
		<i>Terfezia eliocrocae</i>
		<i>Terfezia extremadurensis</i>
		<i>Terfezia fanfani</i>
		<i>Terfezia ledifolium</i>
		<i>Terfezia leptoderma</i>
		<i>Terfezia metaxasi</i>
		<i>Terfezia olbiensis</i>
<i>Terfezia oligosperma</i>		

	<i>Tirmania sp.</i>	<i>Tirmania africana</i>
		<i>Tirmania nivea</i>
		<i>Tirmania pinoyi</i>
Tubéracées	<i>Tuber sp.</i>	<i>Tuber aestivum</i>
		<i>Tubercule asa</i>
		<i>Tubercule brumale</i>
		<i>Tuber indicum</i>
		<i>Tubercule Micheli</i>
		<i>Tuber nitidum</i>
	<i>Picoa sp.</i>	<i>Picoa juniperi</i>
		<i>Picoa lefebvrei</i>
	<i>Phaeangium sp.</i>	<i>Phaeangium lefebvrei</i>

L'identification taxonomique ainsi que l'identification moléculaire de ces ascomycètes hypogés ont permis de découvrir une certaine biodiversité, à ce jour, pas moins de 40 espèces différentes de truffes du désert ont été recensées (13).

Des formes d'ectomycorhize et d'endomycorhize par des hyphes de truffes du désert ont été observées sur les racines d'*Helianthemum* (9); on trouve parfois les deux, ce type de symbiose étant défini comme un continuum ectendomycorhizien (10).

Dans cette symbiose mycorhizienne, l'*Helianthemum* spp répond aux besoins de la truffe en contenu glucosique, acide gras, acide aminé et autres nutriments (19). En parallèle, la truffe du désert a été démontrée fournir une protection antifongique et antibactérienne pour la plante hôte.

Une étude sur cette association mycorhizienne a également montré que *Terfezia boudieri* améliore la photosynthèse et la respiration de *Helianthemum sessiliflorum*, ce qui a pour effet que la plante hôte inoculée présente entre autres une biomasse plus élevée et une utilisation de l'eau plus efficace [(20)(21)].

La relation mycorhizienne entre les cistacées et la truffe du désert implique également un système hormonal, une auxine fongique (acide indole-3- acétique ou AIA) et des chimio-attractifs végétaux (comprenant des molécules de type flavonoïdes, diterpènes, strigolactones, composés phénoliques et des COVs). Ces signaux s'échangent principalement pour la communication et la croissance des symbiotes. L'auxine favorise la formation de l'association mycorhizienne en influençant la croissance des racines ; les chimio-attracteurs végétaux quant à eux affectent la croissance fongique, une activité chimiotropique favorisant une croissance orientée permettant l'efficacité fonctionnelle de la truffe en terme de temps et d'énergie (22).

Le fonctionnement symbiotique implique aussi d'autres organismes tels que les bactéries auxiliaires de la mycorhization (BAM) et les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (RFCP) par leur activités phytostimulatrices et les phytoprotectrices. On distingue parmi ces bactéries les *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Variovorax* et environ 14 autres genres, dont la protection et les activités métaboliques sont nécessaires à une évolution réussie des cultures ; notamment par leur production d'auxine et de sidérophore, de désaminase (10).

### **1.3. Activités thérapeutiques et non thérapeutiques**

#### **2.3.1. Aliments précieux**

Les truffes sont réputées dans la cuisine depuis des siècles, les Grecs et les Romains les importaient de Libye (3)(12).

C'est un ingrédient culinaire de luxe, non seulement en raison de son prix élevé dû à sa rareté, mais aussi pour sa riche valeur nutritive (glucides, protéines, acides gras, minéraux, fibres, terpénoïdes, stérols, acides aminés essentiels). Cette haute teneur en nutriments et cette faible valeur énergétique (environ 34 - 65 kcal/100g) (12) font de la truffe du désert un excellent complément alimentaire et une ressource non négligeable, particulièrement dans les zones arides. Les animaux



comme les oiseaux, les hyènes et les babouins en consomment également (17). Elles peuvent être consommées crues ou cuites, mais toutes les espèces de truffes du désert connues ne sont pas comestibles, comme le *Picoa lefebvrei* par exemple, en raison de sa petite taille et de l'accumulation de débris dans le sol (13).

Souvent servie à la place de la viande dans les pays arabes (5), la truffe du désert est célèbre dans d'autres pays comme la Turquie, le Maroc et l'Arabie Saoudite (Figure 7) pour sa valeur nutritive. Les Bédouins les nomment d'ailleurs "hohbar" qui signifie "un petit morceau de viande de qualité, désossé". Ceux-ci conservaient les truffes dans 6% de vinaigre et de sel ; le séchage, la réfrigération et la congélation sont également des méthodes de conservation courante (9).



Figure 7 : «Diamants dans la saleté» Arabie saoudite (23)

Leur goût unique est dû à leurs composés aromatiques, et principalement aux COVs tels que le benzaldéhyde ou l'alcool benzylique qui donnent respectivement une odeur d'amande et une odeur douce et épicée (24).

### 2.3.2. Usages médicaux

Les truffes du désert ont été documentées comme remèdes pour diverses maladies (tableau 4), et ce, depuis 4000 ans sur une tablette d'argile sumérienne. Elle est reconnue comme un aliment médicinal traditionnel dans les civilisations chinoise, grecque et égyptienne, où on la surnomme "le miracle de la nature en Mésopotamie" (25).

En Chine, la truffe du désert a été utilisée comme médecine traditionnelle pour le traitement d'appoint du cancer gastrique (26).

Dans les pays arabes comme l'Algérie, la truffe du désert était utilisée pour traiter les infections oculaires, les faiblesses et aussi pour promouvoir la fertilité masculine (8). La truffe du désert est aussi traditionnellement utilisée comme aphrodisiaque.

Les Bédouins l'utilisent de manière empirique comme nourriture et comme remède pour certaines maladies ophtalmiques, en plus de l'utiliser pour les pièges lors de la chasse aux oiseaux (5).

Des bienfaits pour la santé en tant qu'antioxydant, anti-inflammatoire, antitumoral, antimicrobien, immunomodulateur, hépatoprotecteur, antidépresseur, antibactérien, antifongique et antiviral, sont documentés dans plusieurs articles (tableau 4).

**Tableau 4 : Application biomédicale des truffes du désert (12)**

<b>Nom de la truffe</b>	<b>Composés actifs</b>	<b>Applications biomédicales</b>
<i>Terfezia sp.</i>	Extrait aqueux	Traitement des infections oculaires
<i>Tirmania sp.</i>	Extrait aqueux	Traitement des infections oculaires
<i>Terfezia boudieri</i>	Extrait d'acétone	Antibactérien et activités antifongiques
<i>Terfezia boudieri</i>	Phénols, caroténoïdes et anthocyane	Antioxydant et activités antiradicalaire
<i>Terfezia boudieri</i>	Extrait brut	Antibactérien et activités anticandidaires
<i>Terfezia boudieri</i>	Flavonoïde	Activité antiradicalaire
<i>Tirmania sp.</i>	Tanins et glycosides	Antibactérien, antifongique, et activités antivirales
<i>Terfezia sp.</i>	Tanins et glycosides	Antibactérien, antifongique, et activités antivirales
<i>Tuber aestivum</i>	Ergostérol et phénols	Activité antioxydante
<i>Tuber indicum</i>	Ergostérol et phénols	Activité antioxydante

<i>Tirmania pinoyi</i>	Tocophérol et acides gras	Antioxydant et activités antibactériennes
<i>Tirmania nivea</i>	Phénols	Antioxydant et activités antiradicalaire
<i>Terfezia claveryi</i>	Stigmastérol, $\beta$ -sitostérol, squalène et lupéol	Anticancer et activités antioxydantes
<i>Terfezia sp. et Tirmania sp.</i>	Varié	Immunomodulant, antiviral, hépatoprotecteur, et activités antidépressives

Les composants phénoliques, polysaccharides et stéroliques sont principalement responsables de l'effet antioxydant (capacité de piégeage et de réduction des radicaux libres) [(26) (27)] mais aussi d'autres composants comme l'acide ascorbique et les caroténoïdes (28). Cette activité a été évaluée par des tests tels que les essais DPPH (radical 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl), FRAP (pouvoir antioxydant réducteur ferrique) et ABTS (2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonate)) [(25) (28)], désoxyribose, et oxyde nitrique (NO) (29). Ces composants sont de puissants agents anti-inflammatoires (30).

L'activité antimicrobienne a été démontrée, entre autres, sur *Staphylococcus adomonas aeureus* [(31) (32)] et *Pseuruginosa* (31) (responsable de maladies oculaires), *Chlamydia trachomatis* [(33) (34)]. Cette activité serait due aux antibiotiques peptidiques de faible poids moléculaire (35) et aux composés terpénoïdes. Ils protègent également leur plante hôte des agents pathogènes fongiques (36) comme *Streptococcus pyogenes*, *Bacillus subtilis* et *Candida albicans* (12).

Les propriétés anticancéreuses sont jusqu'à présent attribuées aux polysaccharides, aux phytostérols et à l'acide oléique, pour leur action inhibitrice sur les cellules tumorales et vasculaires [(25) (37) (38)]. Des caractéristiques d'immunomodulation (immunosuppresseurs) par des complexes polysaccharide-protéine et composés phénoliques ont également été rapportées (1) (8) (12) (39).

Encore plus rare, la truffe blanche jouit d'une plus grande popularité thérapeutique et culinaire que la truffe du désert. Cette dernière présente pourtant de de grandes similitudes de compositions et une plus ample répartition géographique (comparaison au tableau 5).

Certaines industries cosmétiques tels que Galance et Lemaire revendiquent une action hydratante, nutritive et restructurant à la truffe blanche dans leurs soins anti-age relativement coûteux (entre 150 et 250 € pour un produit de 30ml). Les truffes du désert pourraient représenter des alternatives plus accessibles pour ce types de produits.



Figure 8 : Produits cosmétiques contenant des extraits de truffe blanche

De même, en ce qui concerne les saveurs, le parfum caractéristique de chaque type de truffe est principalement dû à la composition des volatils, avec des différences quantitatives et qualitatives qui dépendent de l'activité génétique, de l'espèce et de la provenance géographique. Des arômes communs aux truffes, comme l'hexanal, donnent une odeur herbacée, le 2-méthylbutanal et le 3-méthylbutanal une odeur maltée, le bis(méthylthio)méthane et le diméthylsulfure quant à eux donnent respectivement une odeur d'ail et de chou (40).

Tableau 5 : Comparaison entre les truffes blanches et les truffes du désert (40) (41)

	<b>Truffe blanche</b> <i>(Tuber magnatum)</i>	<b>Truffe du désert</b> <i>(ex: Terfezia boudieri)</i>
<b>Prix</b>	4000-7000\$/kg	10-200\$/kg
<b>Localisation</b>	Principalement en Italie	Majoritairement en Afrique du Nord, autour de la Méditerranée
<b>Plantes hôtes</b>	Chêne, hêtre, noisetier, ...	Hélianthème

<b>Composition (g/100g)</b>	/	/
Eau	~80	74-80
Glucides	~2	1-17
Protéines	16-24	20-25
Fat	<1	1-5
Cendres	<2	1-7
Fibres	~8	~11
<b>Arômes</b>	Bis(methylthio)-methane 1-octène-3-ol Dimethylsulfide Hexanal 2-methylbutanal 3-methylbutanal	1-octène-3-ol Hexanal 2-methylbutanal 3-methylbutanal
<b>Propriétés</b>	Activité antioxydante, anti-inflammatoire, antiangiogénique et cytotoxique	Activités antibactériennes, antifongiques et antivirales, Activités antiradicalaires, propriétés anticancéreuses et antiangiogéniques, Modulation immunitaire, hépatoprotection, et activités antidépressives
<b>Usages</b>	Aliments, arômes de produits commerciaux Hydratation et nutrition de la peau Cosmétiques anti-âge, anti-imperfections et régénérateurs cellulaires	Alimentation Traitement traditionnel des infections oculaires, de la faiblesse et de la fertilité Appât de chasse aux oiseaux

## **1.4.Aspects phytochimiques**

### 2.3.3. Composants

Les truffes du désert sont composées d'en moyenne 50% d'eau et 17% glucides. Elles sont riches en protéines, acides aminés essentiels (méthionine, phénylalanine, valine, sérine, isoleucine et thréonine) (26) et d'acide gras (saturés et insaturés). Elles contiennent également une certaine quantité de minéraux (Si, K, Na, Ca, Mg, Mn, Fe, Al, Cu et Zn) (42), fibres, terpénoïdes, stérols (43), cendres, vitamines, et composés aromatiques.

Les principaux composés bioactifs présents dans la truffe du désert sont cités ci-dessous et certaines de leurs structures représentées dans la figure 9.

- Phytostérols: stigmastérol, squalène, bêta-sitostérol, lupéol (44)(45).
- Composés phénoliques: flavonoïdes (myricétine, kaempférol, naringine, naringénine, resvératrol, ... avec une quantité moyenne de 1,75, 0,25, 98,75, 0,25 et 2,25 µg / g de poids sec, respectivement en *T.boudieri* (46)), catéchine, acide férulique, acide p-coumarique, acides cinnamiques, acide gallique, acide homogentisique, acide protocatéchuique, p-hydroxybenzoïque, 3,4-dihydroxybenzaldéhyde, acide hydroxybenzoïque (44)(28)(45).
- *Acides aminés et dérivés* : 3-méthylbutanal, 2-méthylbutanal, respectivement des dérivés volatiles de la leucine de l-isoleucine.

La truffe du désert contient 18 acides aminés essentiels glycine, alanine, phénylalanine, arginine, acide aspartique, acide glutamique, histidine, cystine, méthionine, thréonine, sérine, lysine, isoleucine, leucine, proline, tyrosine, valine et tryptophane (12).

- *Terpénoïdes*: caroténoïdes (la carotène peut se retrouver sous la forme de β-carotène, un précurseur de la vit A), monoterpènes (linalol et oxyde de linalol 2-phényléthanol) (24).
- *Vitamines*: Acide ascorbique (1 - 5 mg / 100g selon l'espèce (47))
- Dérivés d'acides gras: butanal, hexanal, 3-éthyl-5-méthylphénol et 1-octène-3-ol (principalement dérivé de l'acide linoléique); et acides pentadécanoïque, margarique, stéarique, arachidique, béhénique, palmitique, palmitoléique, stéarique, oléique, linoléique, linoléinique, myristique, margarique, stéarique, nonadécanoïque, arachidique, hénéicosanoïque (44) (48).

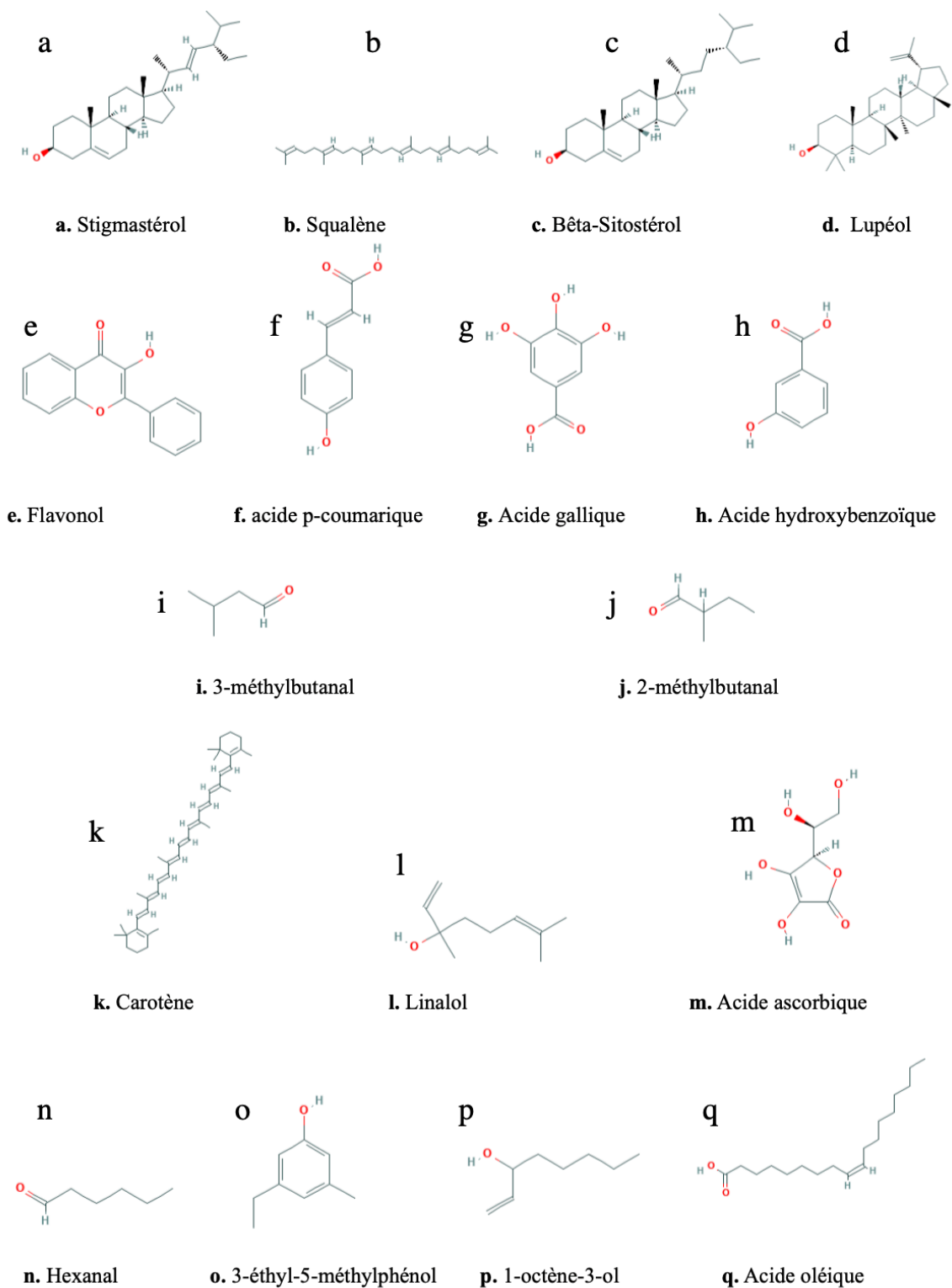


Figure 9 : Structures chimiques des principaux composés de la truffe du désert (30)

La plupart de ces composés phénoliques, aldéhydes et acides sont des composés organiques volatils (COVs) ; ce sont des composés carbonés de faible poids moléculaire responsables du profil aromatique. Leur présence dépend des conditions de croissance et du métabolisme de la truffe (1). Des études montrent que ces COVs jouent également le rôle de signaux pour la communication avec la plante hôte et d'autres organes de l'environnement de la truffe, et de signaux dans la régulation de leur cycle de vie (49). Il s'agit par exemple de l'oct-1-ène-3-ol, de l'octanal, de l'octan-1-ol, du benzaldéhyde, de l'alcool benzylique, du linalol et de l'hexanal (24).

Différentes études ont également montré que la proportion des composants chimiques varie en fonction de l'espèce, ainsi que des conditions de croissance, donc des régions. Cette variation en carbohydrates, protéines, lipides, etc..., entre espèces de truffes différentes est illustrée par le tableau 6 (12).

**Tableau 6 : Composition chimique de différentes espèces de truffe du désert (g/100g sur la base de la matière sèche) tableau reproduit à partir de «Bioecology and Uses of Desert Truffles (Pezizales) in the Middle East . Walailak J Sci Technol. 1 mars 2018» (12) Données collectées complétées à partir de (5)(42)**

<b>Truffes</b>	<b>Humidité</b>	<b>Glucides</b>	<b>Protéines</b>	<b>Graisse</b>	<b>Cendres</b>	<b>Fibres</b>
<i>Terfezia boudieri</i>	75,4	ND	25,1	4,3	6,1	11,3
<i>Terfezia boudieri</i>	76,1	ND	24,7	4,6	6,3	12,6
<i>Terfezia boudieri</i>	10,25	ND	20,13	3,45	7,8	ND
<i>Terfezia boudieri</i>	80-90	4,8-11,6	1,4-2,7	0,8-1,7	1,0-1,9	ND
<i>Terfezia boudieri</i>	10,25	81,95	20,13	3,45	7,8	ND
<i>Terfezia claveryi</i>	74,9	ND	23,0	3,1	5,2	9,8
<i>Terfezia claveryi</i>	75,2	ND	23,0	3,5	4,6	8,0



<i>Terfezia claveryi</i>	ND	ND	15,95	6,95	4,25	ND
<i>Terfezia claveryi</i>	ND	ND	19,2	6,9		ND
<i>Terfezia claveryi</i>	ND	16,7	8,0	ND	8,9	ND
<i>Terfezia claveryi</i>	ND	ND	19,6	4,7	4,5	7
<i>Terfezia claveryi</i>	73,1	64,5	16	6,9	4,2	8,3
<i>Terfezia claveryi</i>	ND	ND	19.6	4.7	4.5	7
<i>Terfezia sp.</i>	73-78	11-17	4-5	0,6-1,8	0,8-1	1,4-2,6
<i>Terfezia sp.</i>	ND	1,4	2,7	2.2	19,9	ND
<i>Tirmania nivea</i>	ND	21,5	13,8	ND	4,9	ND
<i>Tirmania nivea</i>	ND	ND	72,2	2,8	5,4	13,2
<i>Tirmania nivea</i>	70,0	ND	26,4	6,5	4.1	8.1
<i>Tirmania nivea</i>	73,5	ND	25,8	6,2	5,2	6,5
<i>Tirmania pinoyi</i>	82,3	82,59	8,1	4,1	5,2	ND
<i>Tirmania pinoyi</i>	ND	24,9	10,5	ND	5,6	ND
<i>Tirmania sp</i>	ND	1,9	1,9	3,3	5,8	ND

<i>Picoa juniperi</i>	ND	ND	22,5	19,9	8,2	ND
<i>Picoa juniperi</i>	63,7	36,7	22,5	19,9	8,2	13

\* ND = non détecté

Remplacée dans l'alimentation quotidienne, la proportion de nutriments apportée par seulement 100 g de truffe du désert n'est pas négligeable (tableau 7).

**Tableau 7 : Exemples d'apports de *Terfezia claveryi* dans l'alimentation quotidienne**

(valeurs extraites du tableau 5) (12)(32)

	<i>Terfezia claveryi</i>	Valeur par 100g	Proportion dans le régime quotidien recommandé
Glucides	645,5 g.kg <sup>-1</sup>	64,5 g	19,8-28,7
Protéines	159,5 g.kg <sup>-1</sup>	15,5 g	9,2-12%
Fibre	83,2 g.kg <sup>-1</sup>	8,32 g	6,4-8,8%

La teneur en glucides, protéines et fibres retrouvé dans les truffes du désert est d'ailleurs nettement supérieure à ce que peut fournir d'autres micromycètes tel que le champignon de Paris et les végétaux en moyenne, comme l'illustre la figure 10 (9). La teneur en protéines, par exemple, représente environ 20 % du poids sec des truffes du désert, la quantité dans 100G de truffes du désert est donc équivalente à 50G de viande de bœuf. Ceci en fait un aliment particulièrement précieux dans les zones désertiques. Au vue de cette richesse, une consommation devrait être limitée autour de 500g/jr de truffe, soit environ 100g de protéines.

C'est aussi une source naturelle importante de vitamines C et E, d'où son effet en tant que bon antioxydant alimentaire (50). En ce qui concerne les minéraux, les *T. boudieri* contiennent respectivement 63.8, 0.27 et 0.2 de potassium, calcium et azote (mg/g de macronutriments par

poids sec) et 1455.0, 42.5, 15.8 et 30.1 de fer, zinc magnésium et cuivre (mg/g de micronutriments par poids sec) (46).

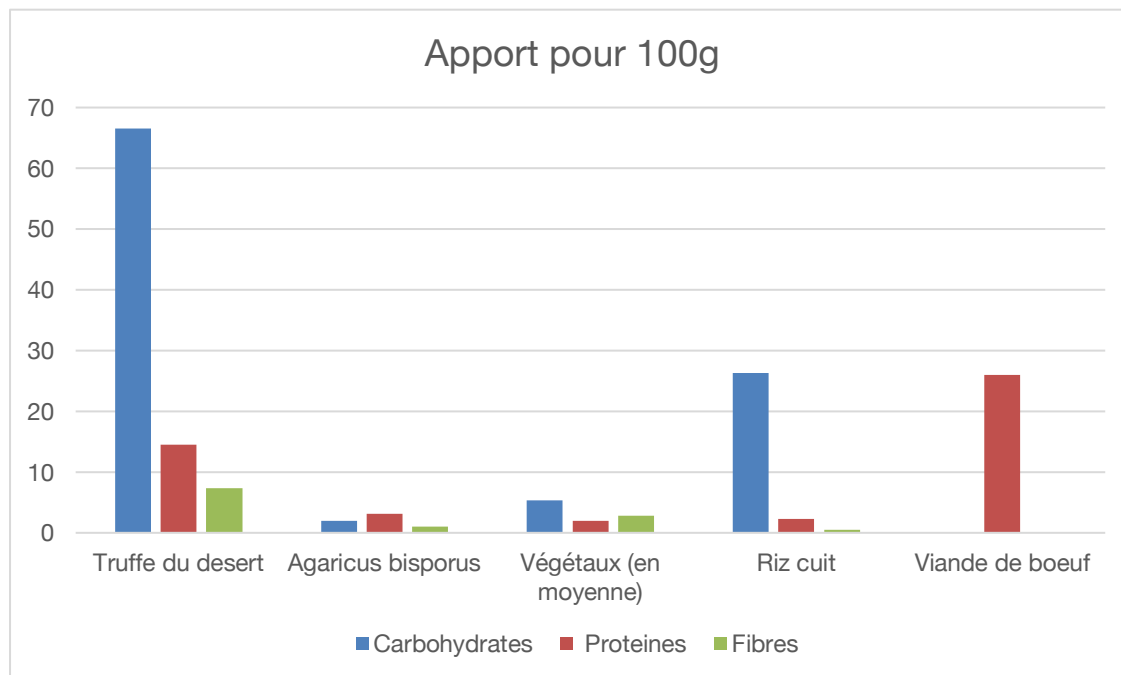


Figure 10 : Graphique de comparaison de la proportion de nutriments dans 100g d'aliment (51)

Le fait que peu de changements soient observés dans la composition après le traitement industriel (congélation et mise en conserve), rend ce champignon encore plus intéressant [(52)(21)].

Il est également important de noter que les truffes du désert sont susceptibles d'accumuler les métaux lourds présents dans leur environnement, elles peuvent donc également contenir du Plomb, du Nickel, du Cadmium et du Cobalt (46).

#### 2.3.4. Méthodes d'extraction

La truffe du désert étant riche en composés organiques volatils, la micro-extraction sur phase solide est une méthode d'extraction adéquate pour l'extraction de ceux-ci (15). Elle a l'avantage d'être moins polluante et peut être spécifique en jouant sur la nature de la phase stationnaire de la fibre ; l'inconvénient majeur de cette méthode reste la quantité de matière à extraire, limitée par le volume de la fibre.

L'extraction solide-liquide par macération (entre 20 et 40 degrés) est une méthode qui a été également utilisée dans plusieurs études [(25) (27)]. Un appareil de type Soxhlet peut aussi être utilisé, avec par exemple extraction à chaud de lipide par des solvants tels que le chloroforme (27).

L'avantage de cette seconde méthode est qu'on peut extraire des composés volatils, semi-volatils et non volatils. Il est aussi possible par cette technique de jouer sur la polarité des solvants et couvrir une large gamme de composés extraits.

En effet, le résultat de l'extraction par solvants peut varier selon les polarités des solvants (chloroforme, hexane, acétone, méthanol et éthanol), celui-ci est donc à choisir en fonction des composés bioactifs d'intérêt à extraire (28). En utilisant un solvant lipophile tel que l'hexane, les composés lipidiques comme les phytostérols sont principalement extraits. Dans la même logique, avec un solvant plus hydrophile comme l'éthanol, les composés polaires comme l'acide ascorbique seront extraits.

Dans les deux cas de figures avoir recours à des méthodes statistiques pour l'optimisation de cette étape d'extraction est primordiale (plan d'expérience) afin de maximiser le rendement d'extraction, chose qui a été très peu décrite dans la littérature.

### 2.3.5. Méthodes analytiques

Les méthodes analytiques sont utilisées en fonction des éléments phytochimiques à étudier. La chromatographie en phase gazeuse (CPG ou GC) est la technique la plus retrouvée, couplée à la spectrométrie de masse (quadripôle) pour déterminer le pourcentage de phytoconstituants dans l'extrait d'hexane de la truffe par exemple (figure 11) ; ou avec le détecteur à ionisation de flamme (FID) pour la quantification de la composition en acides gras (figure 12) (27). Les colonnes à phase stationnaire non polaire et l'hélium comme gaz porteur sont communément utilisés dans ces études. Le mode gradient de température était également récurrent pour permettre une séparation optimale des composés contenus dans les extraits [(26)(25) (27) (18)].

L'analyse statistique des données obtenues est principalement effectuée par analyse de la variance (ANOVA) afin de comparer les différences entre les groupes ; pour évaluer la différence de teneur en lipides trouvée dans différents échantillons d'une espèce de truffe par exemple (27).

(A)

Peak	Ret time (Min)	Area%	Phytoconstituents	Mol. formula	Mol. weight
1.	11.02	2.89	Hexadecanoic acid	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	256
2.	11.55	4.98	Octadecadienoic acid	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	280
3.	11.74	4.86	Oleic acid	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	282
4.	12.19	1.85	Ascorbic acid	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub>	176
5.	14.59	10.09	Squalene	C <sub>30</sub> H <sub>50</sub>	410
6.	19.26	2.56	Campestanol	C <sub>28</sub> H <sub>50</sub> O	402
7.	20.52	31.10	Stigmasterol	C <sub>29</sub> H <sub>48</sub> O	412
8.	21.04	15.73	beta-Sitosterol	C <sub>29</sub> H <sub>50</sub> O	414
9.	21.86	6.42	Lupeol	C <sub>30</sub> H <sub>50</sub> O	426

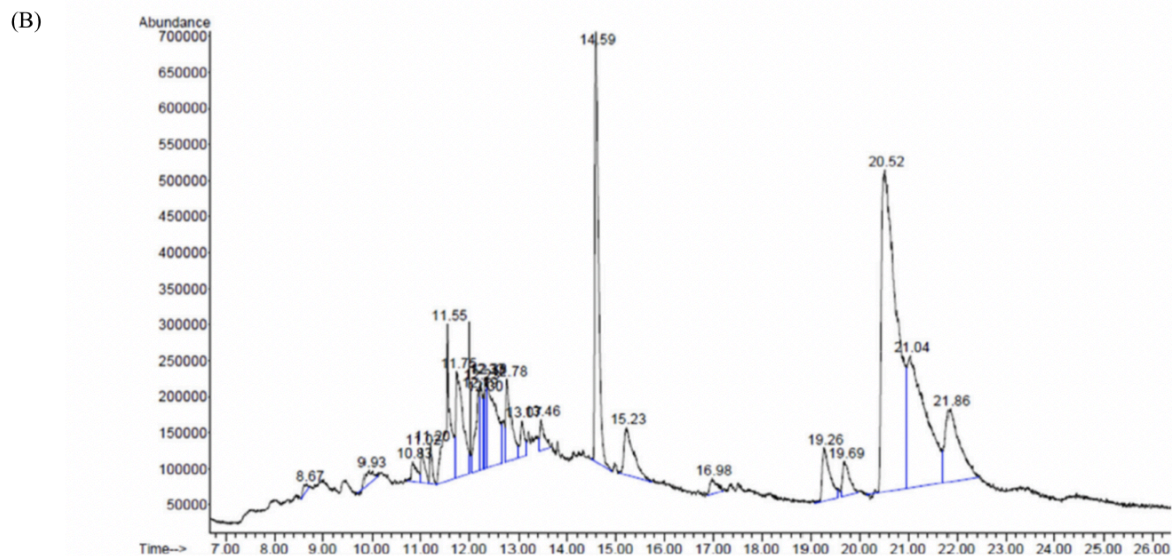


Figure 11 : Identification des principaux composés actifs de l'extrait hexane de *T.claveryi* : (A) Tableau des résultats de la GC/MS (B) Chromatogramme TIC montrant les pics des principaux composés actifs (stigmastérol, bêta-sitostérol, squalène, ...) (25)

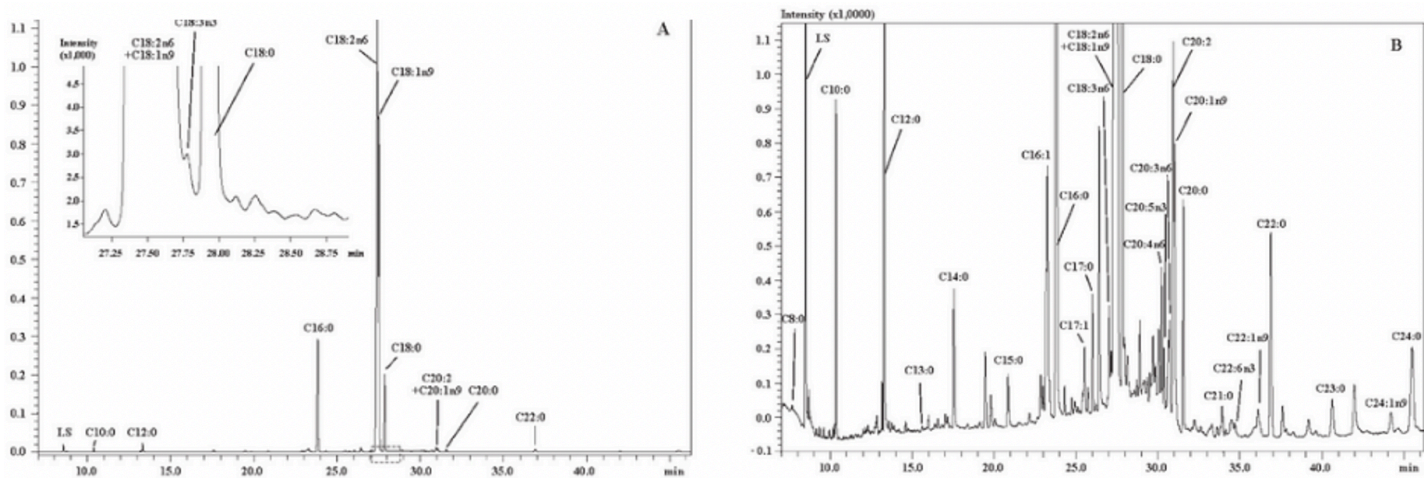


Figure 12 : Profils d'acides gras représentatifs du chromatogramme GC-FID des organes de fructification de *T. aestivum*. (A) global, (B) global élargi de (A) (27)

L'identification et la quantification des composants des COVs sont spécifiquement réalisées par GC couplé à un détecteur MS quadripôle ou une FID (18), les résultats pouvant être obtenus sont comme indiqués sur la figure 13; mais aussi avec spectrométrie de masse à temps de vol à haute résolution (HR-TOF/MS).

La séparation et la détermination du poids moléculaire de composés polysaccharidiques ont été effectuées par chromatographie par perméation de gel à haute performance (HPGPC), chromatographie perméation de gel (GPC) combinée à la chromatographie liquide haute performance (HPLC) (26); ensuite une analyse par GCMS (quadripôles) a été faite pour l'identification et la quantification des composants monosaccharides, lors d'une étude de l'activité antioxydante des composés polysaccharidiques des truffes du désert (26). Pour cette étude, la composition des polysaccharides a également été analysé par spectroscopie infrarouge (26).

biosynthetic pathway	compound name	<i>T. nivea</i> (µg/g fw)	<i>T. boudieri</i> (µg/g fw)	<i>P. lefebvrei</i> (µg/g fw)	<i>T. boudieri</i> axenic mycelia (µg/g fw)	KI	identification method	
amino acids	3-methylbutan-1-ol	0.04 ± 0.03	bd <sup>b</sup>	0.52 ± 0.18	bd	730	MS, <sup>c</sup> KI, <sup>d</sup> AS <sup>e</sup>	
	2-methylbutan-1-ol	0.04 ± 0.03	bd	0.12 ± 0.03	bd	734	MS, KI, AS	
	2-phenylethanol	bd	bd	0.19 ± 0.09	bd	1115	MS, KI, AS	
	2-phenylbutan-1-ol <sup>f</sup>	bd	bd	0.18 ± 0.13	bd	1256	MS	
	3-methylbutanal <sup>g</sup>	9.39 ± 1.38	3.21 ± 0.43	0.26 ± 0.06	bd	655	MS, KI	
	2-methylbutanal	20.39 ± 2.79	1.83 ± 0.2	0.13 ± 0.04	bd	668	MS, KI, AS	
	3-methylsulfanylpropanal	0.73 ± 0.09	bd	bd	bd	907	MS, KI, AS	
	benzaldehyde	8.55 ± 1	bd	0.01 ± 0.01	bd	957	MS, KI, AS	
	2-phenylacetaldehyde	4.62 ± 0.78	bd	0.04 ± 0.01	bd	1041	MS, KI, AS	
	butane-2,3-dione <sup>g</sup>	0.02 ± 0.02	bd	0.04 ± 0.03	bd	597	MS, KI	
	butane-2,3-diol	bd	bd	0.24 ± 0.14	bd	769	MS, KI, AS	
	1,3-benzothiazole <sup>g</sup>	1.49 ± 0.31	2.25 ± 0.17	0.05 ± 0.01	0.05 ± 0.01	1227	MS, KI	
	(methylsulfanyl) methane <sup>g</sup>	0.16 ± 0.08	bd	0.01 ± 0.01	bd	739	MS, KI	
	fatty acids	acetic acid	0.36 ± 0.36	bd	0.07 ± 0.04	bd	595	MS, KI, AS
		hexan-1-ol	bd	0.04 ± 0.03	0.18 ± 0.12	bd	862	MS, KI, AS
heptan-2-ol		0.04 ± 0.01	0.01 ± 0.01	0.26 ± 0.14	bd	887	MS, KI, AS	
heptanal		0.61 ± 0.13	0.39 ± 0.17	0.03 ± 0.02	0.01 ± 0	903	MS, KI, AS	
oct-1-en-3-ol		62.99 ± 13.73	30.79 ± 6.04	7.85 ± 1.01	2.58 ± 0.82	980	MS, KI, AS	
oct-2-en-1-ol		4.36 ± 0.77	bd	0.13 ± 0.05	0.12 ± 0.05	1069	MS, KI, AS	
butanal <sup>g</sup>		4.53 ± 0.74	0.18 ± 0.18	0.01 ± 0.01	0.02 ± 0	600	MS, KI	
pentanal <sup>g</sup>		3.97 ± 1.33	6.74 ± 2.7	0.09 ± 0.07	0.14 ± 0.02	691	MS, KI	
2-methylpentanal <sup>g</sup>		bd	bd	0.18 ± 0.07	bd	755	MS, KI	
2-ethylbutanal <sup>g</sup>		0.05 ± 0.05	0.74 ± 0.17	bd	bd	744	MS	
hexanal		23.03 ± 3.05	24.29 ± 7.24	0.68 ± 0.5	1.62 ± 0.52	802	MS, KI, AS	
( <i>E</i> )-hex-2-enal		0.12 ± 0.09	bd	0.01 ± 0.01	bd	847	MS, KI, AS	
( <i>E</i> )-hept-2-enal		2.92 ± 0.46	2.49 ± 1.22	0.13 ± 0.11	0.21 ± 0.1	954	MS, KI, AS	
octanal		0.04 ± 0.04	bd	0.02 ± 0.01	0.05 ± 0.01	1005	MS, KI, AS	
( <i>E</i> )-oct-2-enal		2.55 ± 0.38	1.43 ± 0.83	0.21 ± 0.1	0.14 ± 0.07	1056	MS, KI, AS	
(2 <i>E</i> ,4 <i>E</i> )-nona-2,4-dienal <sup>g</sup>		1.04 ± 0.18	0.26 ± 0.22	0.06 ± 0.05	0.03 ± 0.02	1218	MS, KI	
(2 <i>E</i> ,4 <i>Z</i> )-deca-2,4-dienal <sup>g</sup>		0.62 ± 0.31	bd	0.02 ± 0.02	0.01 ± 0	1298	MS, KI	
(2 <i>E</i> ,4 <i>E</i> )-deca-2,4-dienal		1.42 ± 0.59	bd	0.17 ± 0.15	0.01 ± 0.01	1321	MS, KI, AS	
oct-1-en-3-one		0.91 ± 0.17	0.11 ± 0.04	0.09 ± 0.06	0.03 ± 0.02	971	MS, KI, AS	
( <i>E</i> )-oct-3-en-2-one <sup>g</sup>		0.11 ± 0.08	0.55 ± 0.4	0.04 ± 0.03	0.03 ± 0.01	1044	MS, KI	

<sup>a</sup>The data presented are averages of four replicates ± SE. <sup>b</sup>bd, below detection limit. <sup>c</sup>Identified by comparison with W10N14 and QuadLib 2205 GC-MS libraries. <sup>d</sup>Identified by comparison of Kovats index from the literature. <sup>e</sup>Identified by comparison of MS and KI with an authentic standard. <sup>f</sup>t, tentatively identified.

Figure 13 : Quantification des COVs par injection de fibre SPME dans un GCMS (détecteur quadripôle) (15)

Une étude récente par l'Académie des sciences agricoles de Chengdu, publiée en 2019, a appliqué la chromatographie liquide à ultra-haute performance et la spectrométrie de masse en tandem (UHPLC-MS/MS) pour comparer les profils métaboliques d'espèces de truffes produites en Chine à une truffe noire d'Europe (*Tuber melanosporum*) (53). Les résultats sont présentés sous forme de chromatogramme de courant ionique total (TIC) des différentes espèces étudiées, montrant la similitude et la différence de contenu métabolique entre *Tuber indicum*, *Tuber melanosporum*, *Tuber panzhihuanense*, *Tuber sinoaestivum*, *Tuber pseudoexcavatum* (figure 14).

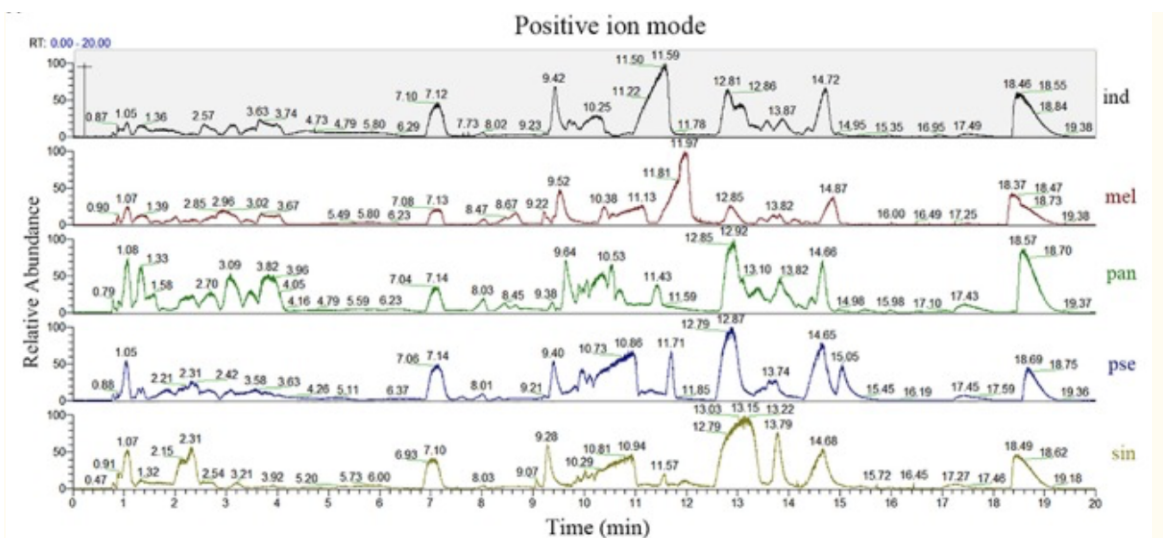


Figure 14 : Comparaison de cinq espèces de truffes par leur chromatogramme de TIC (ind: *Tuber indicum*; mel: *Tuber melanosporum*; pan: *Tuber panzhihuanense*; sin: *Tuber sinoaestivum*; pse: *Tuber pseudoexcavatum*) (53)

Une étude de l'effet de la transformation industrielle sur les truffes du désert *Terfezia clavervyi* Chatin et *Picoa juniperi Vittadini* a déterminé l'impact de la congélation et de la mise en conserve sur la composition de la truffe du désert et seule une légère perte en cendres, protéines et lipides a été observée ( $p < 0,05$ ) (52). En vu d'une meilleure exploitation et d'une industrialisation des truffes du désert ce type d'étude sur les conditions de stockage et de transport sont primordiales.

Ainsi, ces études d'identification et de quantification permettent non seulement de caractériser le contenu, mais aussi d'évaluer de nouveaux procédés de production ou de transformation, de modification génétique ou simplement de comparer les espèces.

Il existe également des études visant à évaluer la sensibilité des truffes du désert à l'accumulation de métaux lourds et d'isotopes radioactifs (54).

Il est à noter sur cette partie de méthode analytique utilisée que les différentes méthodes peut être complémentaires ; ainsi la GC couplée à la masse (en tandem ou en haute résolution) et l'IR seraient un bon outil pour l'identification des composés volatils tandis que la GC FID ou GC-MS pour leur quantification.

La chromatographie liquide ou la perméation sur gel sont plus appropriées pour la caractérisation des composés non volatils et leur quantification.



## 1.4. Production contrôlée

De nombreuses études ont montré une composition nutritionnelle et des propriétés bénéfiques pour la santé justifiant amplement la convoitise autour des truffes. Cependant, malgré leur large répartition géographique, la production naturelle des truffes ne répond pas à la demande et au potentiel qu'elles pourraient combler. La production truffière avec l'application de la mycorhization contrôlée est une solution explorée pour pallier cette insuffisance. Bien que les étapes du cycle symbiotique des truffes en général soient connues (figure 15), il reste cependant à maîtriser sa culture. En effet, il s'agit bien d'une germination d'ascospores en mycélium qui colonise les racines de la plante hôte et se développe en corps fructifère, mais l'écosystème entier des truffes du désert et le rôle de chaque facteur doivent être d'avantage creusés. Une meilleure connaissance du cycle de vie de ces truffes et de tous les paramètres écologiques contribuerait ainsi à vulgariser cette précieuse ressources.

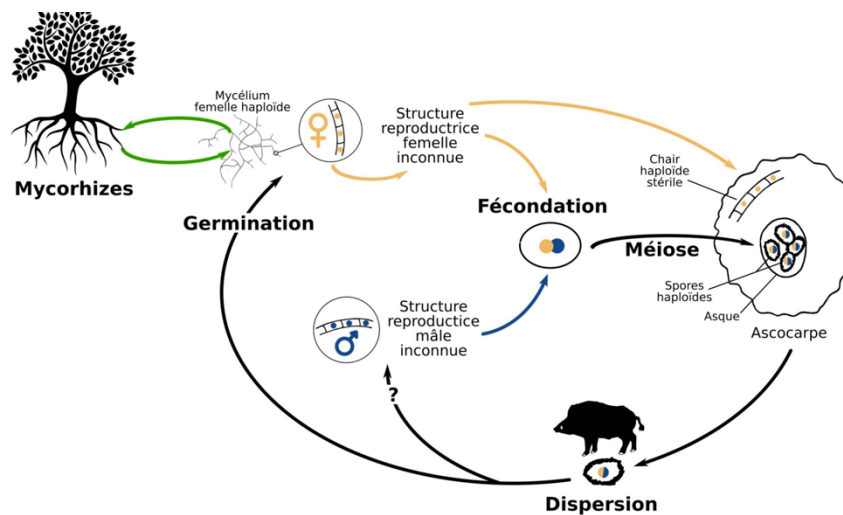


Figure 15 : Cycle de vie des truffes (55)

La culture de la truffe du désert dépend ainsi de la relation mycorhizienne entre la truffe et la plante hôte, du climat de la zone, des caractéristiques du sol et de la population de la mycorrhizosphère (56). La compréhension de ces paramètres a donc servi de fil conducteur pour le développement de techniques de production prometteuses, issues de plusieurs améliorations de l'exploitation agricole de la truffe du désert depuis sa première culture au début des années 90 (1999 [(9) (10)] ; Elles consistent en l'inoculation de spores ou de mycélium produits par fermentation [(26) (57)],  
40

sur des graines ou sur les racines des plantes hôtes dans des conditions de germination contrôlées pour optimiser leur croissance. Afin de permettre une mycorhization *in vivo* où *in vitro* facilité, on retrouve la réalisation de micropropagation *in vitro* avec l'utilisation ou non de régulateurs de croissance de la germination, ou de bactérie promotrices de la croissance des plantes ou de bactéries auxiliaire de la mycorhization RFCP ou BAM (PGPR ou MHB en anglais) (13). De ce protocole résulte l'obtention de plants mycorhizés et qui vont ensuite donner des truffes.

La synthèse de mycorhization *in vitro* est possible en milieu de gélose MMN (Modified Melin-Norkrans) et PDA (Potato dextrose agar), à pH 7,0 et dans les conditions de laboratoire nécessaires à la croissance des truffes du désert (9). Une étude a montré que l'utilisation de la perlite au lieu de l'agar permet de réduire les pertes de plantes lors de l'acclimatation (13). Le diagramme de la figure 16 résume les étapes *in vivo* et *in vitro* et le calendrier de la production contrôlée de plantes mycorhiziennes, un processus de 6-8 mois (58).

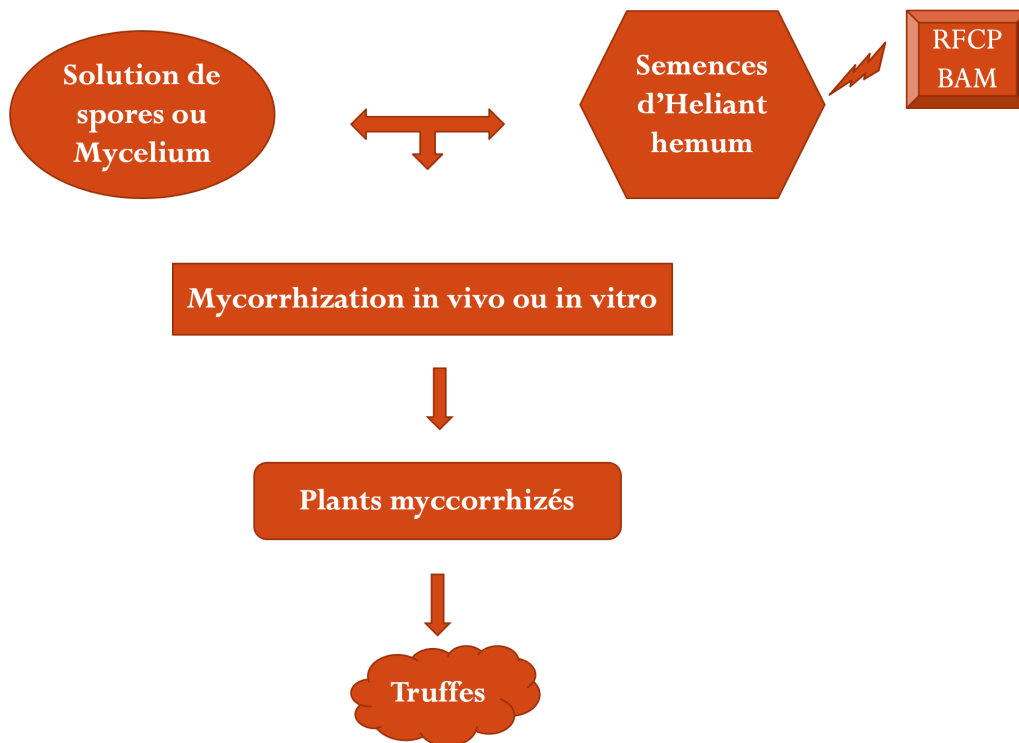
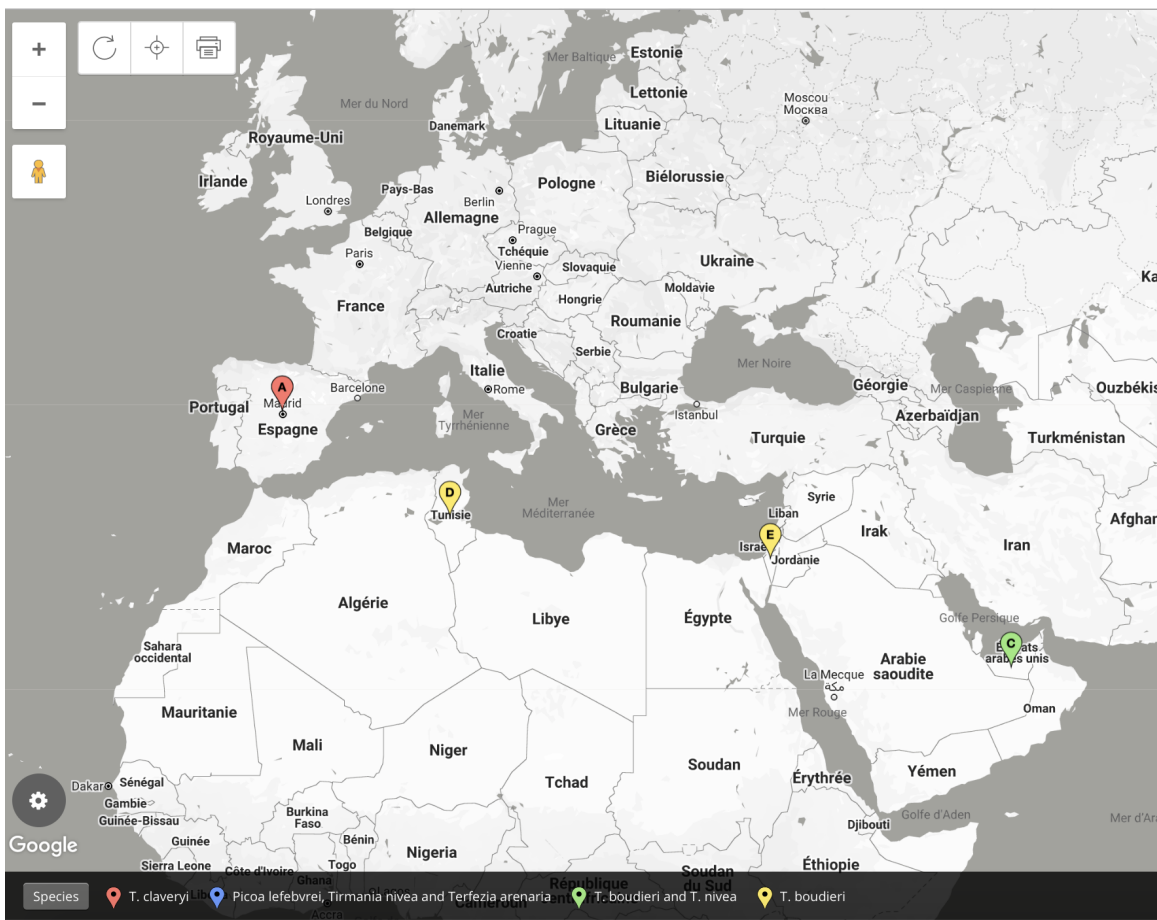


Figure 16 Production de plantes mycorhiziennes *in vivo* et *in vitro* (germination des graines, croissance des plantes, inoculation et mycorhisation) ; inspirée de (13)

L'optimisation des conditions de production contrôlée a pour conséquence d'augmenter le rendement et la qualité de la culture. Le rendement de la collecte dans la nature est d'environ 50 à 170 kg/ha par an (59). Des résultats ont été obtenus en 2 ans avec une moyenne de 250-400 kg/ha pour la première plantation en Espagne (10), selon l'article de Morte et al, ce qui représente plus de 3 à 8 fois le rendement d'une collecte sauvage. Plus de 30 plantations ont été établies en Espagne depuis lors. Des plantations de quelques espèces ont également vu le jour dans les Émirats arabes unis (Abu Dhabi, 2 kg/ha à 1050 kg/ha), en Tunisie et en Israël (10) (figure 17). En France, plus de 80% la production de la fameuse truffe du Périgord (*Tuber melanosporum*) proviendrait de truffières (60).



**Figure 17 : Répartition géographique des plantations de truffes du désert [(5)(43)] : Espagne (*Terfezia claveryi*, *Picoa lefebvrei*, *Tirmania nivea* et *Terfezia arenaria*), United Arab Emirate (*Terfezia boudieri* et *Terfezia nivea*), Tunisie (*Terfezia boudieri*) et Israël (*Terfezia boudieri*)**

Outre de la quantité de précipitations, certains travaux mentionnent également l'influence de la période des pluies [(9) (61) (10)], un modèle d'équation de l'influence de ces facteurs hydriques sur

le rendement de production a été construit (10). Dans ces zones de production contrôlée, l'arrosage du sol doit ainsi venir équilibrer adéquatement la variabilité de la pluviométrie.

Le coût élevé pour lancer une production contrôlée pourrait être amortie après 5 ans de culture si la production est adéquate (200-450 kg/ha), sachant que les fructifications surviennent 1 à 3 ans après la plantation selon Morte et al. 2020 (10). La production mycorhizienne avec les graines de la plante et les spores de la truffe est moins coûteuse que l'utilisation des techniques de micropropagation et du mycélium comme inoculum (13).

Il est également important de noter que le profil COVs des truffes du désert cultivées dans des conditions expérimentales étaient similaires à celles collectées dans la nature (18).

Pour une production continue et efficace, davantage de connaissances scientifiques sur les paramètres agro-climatiques, la culture, la mycorhisation et écophysiologie, mais aussi les paramètres de conservation doivent être collectés.

La truffe du désert trouve des applications dans l'industrie, en tant qu'additif et conservateur naturel dans les industries alimentaires ; comme *Tirmania pinoyi* : composition chimique, activités antioxydantes et antibactériennes *in vitro* et contrôle *in situ* du *Staphylococcus aureus* dans la soupe de poulet (32).

En vue de l'industrialisation de sa production et de la vulgarisation de sa consommation, l'évolution physiologique et biochimique sont notamment des paramètres importants à approfondir. Des recherches plus approfondies auraient un impact réel, avec l'augmentation de l'accessibilité de cette précieuse ressource et en même temps la diminution de son coût. Quoi qu'il en soit, l'agriculture est une industrie majeure, qu'elle soit placée dans un contexte économique ou social. La culture contrôlée permettra également d'éviter la détérioration de la biodiversité que la récolte sauvage ne prend pas en compte. La promotion de la recherche appliquée aidera à développer des techniques de plus en plus modernes et efficaces.

## **2. Partie II : RAPPORT EXPERIMENTAL**

### **2.1. Présentation du projet et de ses objectifs**

Ce travail s'inscrit dans le cadre de l'UE « Project management » inclut au programme du Master 2 internationale : “Analytical Chemistry for Drugs and Natural Products”. Les expériences ont été réalisées au Laboratoire de Phytochimie de l'Agence Nationale des Plantes Médicinales et Aromatiques (ANPMA) à Taounate sous la supervision du Dr. AAZZA SMAIL.

Le but de cette étude était de définir les paramètres optimaux d'extraction par solvant avec ultrasonication d'échantillons de truffes du désert et d'explorer leur capacité antioxydant ; mais aussi de déterminer l'influence des conditions de stockage de la poudre sèche sur la composition et les propriétés antioxydants.

L'évaluation de l'effet des mélanges a été conçu par un Simplex Axial Complex, après un premier criblage des solvants.

L'étude comparative d'extraits préparés à partir d'échantillons stockés dans des conditions de température et de lumière différentes.

L'évaluation de l'homogénéité des essais et de la significativité des résultats a été évaluée par l'analyse de la variance ANOVA, tous les tests effectués et les paramètres étudiés étaient statistiquement significatifs en utilisant un modèle quadratique.

Les résultats ont montré une composition phénolique et des propriétés anti oxydantes notables.

### **2.2. Matériels et méthodes**

#### **2.3.1. Criblage des solvants**

Cette partie expérimentale consistait à utiliser 10 solvants à polarité différente (voir tableau 8) pour effectuer les extractions des composés actifs des truffes du désert, avec un intérêt particulier pour les polyphénols. Le test Folin, le test FRAP et le test CAT ont été ensuite réalisés pour la comparaison des extraits obtenus.

La finalité étant de pouvoir choisir les 3 meilleurs solvants pour l'étape suivante.

Tableau 8 : Liste des solvants

Solvant 1	<b>Eau</b>
Solvant 2	<b>Dichlorométhane</b>
Solvant 3	<b>ACN</b>
Solvant 4	<b>Acétone</b>
Solvant 5	<b>Acétate d'éthyle</b>
Solvant 6	<b>Chloroforme</b>
Solvant 7	<b>Éthanol</b>
Solvant 8	<b>Hexane</b>
Solvant 9	<b>Butanol</b>
Solvant 10	<b>Méthanol</b>

### 2.3.2. Optimisation du mélange de solvants

Le design d'expérience des préparations de mélanges, avec les 3 meilleurs solvants déterminés précédemment lors du criblage de solvant, a été conçu selon la méthode simplexe (Simplex Axial Complex, Figure 18).

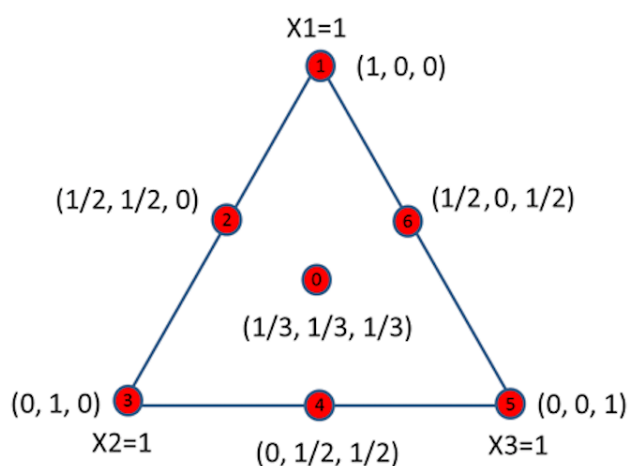


Figure 18 X1= méthanol, X2 = eau, X3= éthanol

Un autre triangle a été réalisé en utilisant l'hexane, l'un des solvants le plus retrouvé dans la littérature, à la place de l'eau pour observation.

Onze mélanges différents ont ainsi été obtenus (tableau 9).

Tableau 9 : Configuration des mélanges de solvants

Mélanges	Eau	Éthanol	Méthanol	Hexane
M1	100	0	0	0
M2	0	100	0	0
M3	0	0	100	0
M4	0	0	0	100
M5	50	50	0	0
M6	50	0	50	0
M7	0	0	50	50
M8	0	50	50	0
M9	0	50	0	50
M10	33,33333333	33,33333333	33,33333333	0
M11	0	33,33333333	33,33333333	33,33333333

Les extractions ont été faites avec chaque mélange puis ont été analysées.

Ainsi les test Folin, FRAP, CAT et DPPH ont ensuite été réalisés pour la comparaison de la composition et des propriétés antioxydantes des extraits de ces mélanges.

Trois répétitions ont été effectuées pour chaque extrait et chaque test pendant trois jours différents. L'objectif était de déterminer le ou les meilleur(s) mélange(s).

### 2.3.3. Conditions d'extraction optimales

Deux paramètres influant l'extraction, la température et le temps, ont été étudiés en utilisant un plan factoriel complet de 2\*2 ; obtenant ainsi 4 conditions d'expérimentations avec des valeurs minimales et maximales de 20 et 40 pour chacun des paramètres (Tableau 10). Donc la réalisation de 4 expériences pour chaque mélange.

**Tableau 10 : Plan expérimental de l'optimisation des conditions d'extraction**

Paramètres d'extraction		TEMPÉRATURE	
		T ° 20	T ° 40
TEMPS	20 min	T ° 20 / 20min	T ° 40 / 20min
	40 min	T ° 20 / 40min	T ° 40 / 40min

Un triplicata a été fait pour chaque mélange de solvants et condition pour effectuer le test Folin et le test DPPH.

#### 2.3.4. Étude des conditions de stockage

Comme il a été décrit dans la littérature et dans les documents décrivant l'optimisation de la production, le paramètre des conditions de stockage devaient être considérés et inclus dans notre étude. Nous avons donc décidé de simuler les conditions de stockage ou de transport en nous focalisant sur le facteur température et la variant d'un extrême à l'autre (de -20°C à + 60°C).

Trois échantillons de 150 mg de poudre sèche de truffes du désert ont été stockés, dans un flacon en verre fermé, dans des différentes conditions de températures dont une à l'obscurité (voir tableaux 11) pendant 2 semaines.

**Tableau 11 : Température et d'éclairage**

Conditions de stockage
-20°C
4°C
20°C



20°C dans l'obscurité
40°C
60°C

Ensuite, les différents tests de test Folin, FRAP, CAT et DPPH ont été effectués sur des extraits effectués selon les conditions optimales (solvant, température et temps d'extraction) déterminées lors des 3 études précédentes, afin d'étudier l'influence des conditions de stockage, à court terme, sur la composition et l'activité antioxydante.

### 2.3.5. Préparation des échantillons

Des truffes du désert séchées ont été achetées sur un marché de Fès au Maroc. Elles ont ensuite été broyées avec un mortier et un pilon puis un robot mixeur. 87,39 g de poudre tamisée a été obtenue et conservée dans un erlenmeyer avec bouchon à vis.

L'extraction a été réalisée par ultrasonification à 25°C pendant 30 min, d'une dissolution de 50 mg de poudre de truffes du désert dans 1ml de chaque solvant ou mélange de solvants étudié dans des tubes de 15 ml.

Après une centrifugation de 5 minutes à 1000 tr/min, les surnageants ont été recueillis dans des tubes de 15 ml et conservés à 4 °C jusqu'à l'utilisation. Trois répétitions ont été faites pour chaque solvant.

### 2.3.6. Composés phénoliques totaux (CPT)

Méthode colorimétrique Folin-Ciocalteu a été effectuée pour évaluer le contenu phénolique total (62). Cette réaction consiste en l'oxydation des composés phénolique de l'échantillon par le réactif de Folin-Ciocalteu (mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique réduit), qui se transforme en mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène caractérisés par une coloration bleue (63).

Ainsi, 50 µL de l'extrait ont été ajoutés à 450 µL d'une solution de folin diluée au dixième. Après 5 minutes d'incubation à température ambiante, 450 µL d'une solution de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (75 g.L<sup>-1</sup>) ont également été ajoutés. Trois répétitions ont également été effectuées pour chaque solvant. Les

différents échantillons ont été incubés dans l'obscurité pendant 2h à température ambiante avant de lire leur absorbance à 725 nm.

La concentration massique des différents essais a été calculée en utilisant la concentration volumique obtenue à partir de la gamme d'étalonnage de 0,062 à 0,5 mg.ml<sup>-1</sup> d'une solution d'acide gallique éthanolique (Figure 19).

Les résultats correspondent au contenu phénolique totale en mg d'équivalent ac gallique (GAE) par g de truffe et sont exprimés de la sorte : [mg / ml] = (DO - b) / a et [mg/g] = ([mg/ml] \* V) / poids.

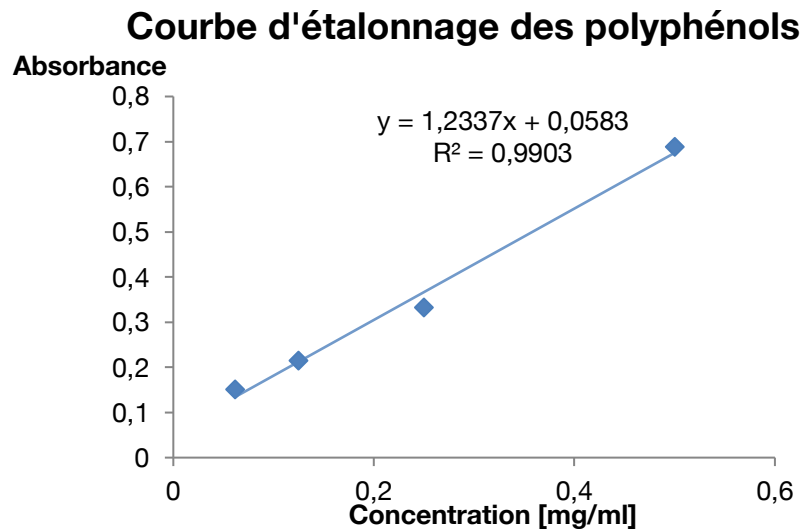


Figure 19 : Graphique courbe d'étalonnage CPT (avec l'étalon acide gallique)

### 2.3.7. Capacité antioxydante totale (CAT)

L'activité antioxydante totale des échantillons a été déterminée par la formation du complexe phosphomolybdène. Ce test CAT correspond à la réduction par l'extrait d'ions molybdate MoO<sub>4</sub><sup>2-</sup> en molybdène Mo (V) donnant une coloration verte à pH acide.

50 µl d'extrait de truffe du désert ont été ajoutés à 1 ml de réactif molybdate ; la solution mère de molybdate a été préparée avec de l'acide sulfurique 0.6 M, du phosphate de sodium (28 mM) et du molybdate d'ammonium (4 mM). L'absorbance a été mesurée à 695 nm après 1h30 d'incubation dans un bain-marie à 95 ° C. L'expérience a été réalisée en triplicata.

Une gamme d'étalonnage (acide ascorbique) de 0.0625 à 1 mg. ml<sup>-1</sup> a été utilisée pour avoir l'activité antioxydante en g d'équivalent d'acide ascorbique par g de truffe (Figure 20).

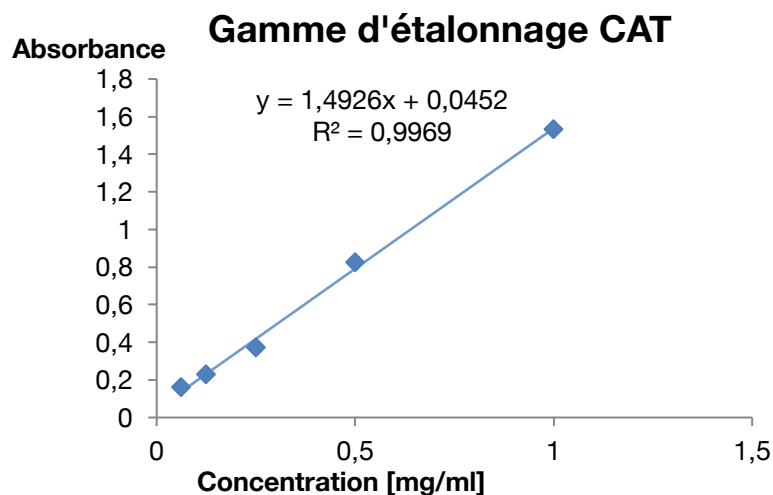


Figure 20 : Courbe d'étalonnage CAT (ac ascorbique)

### 2.3.8. Pouvoir antioxydant réducteur du fer (FRAP)

Également un principe de colorimétrie, avec la perte de la coloration jaune du complexe ferrique pour un bleu foncé, ce test du pouvoir antioxydant a été réalisé en utilisant la procédure suivante : 400  $\mu$ L d'échantillon DT mélangé avec du tampon phosphate (2,5 ml, 0,2 M, pH 6,6) et du ferricyanure de potassium [ $K_3Fe(CN)_6$ ] (2,5 ml, 1%). Le mélange a été incubé à 50° C pendant 20 minutes. Un volume (2,5 ml) d'acide trichloracétique (10 %) a été ajouté au mélange avec de l'eau distillée (2,5 ml) et du  $FeCl_3$  (0,5 ml, 0,1%) et l'absorbance a été lue à 700 nm dans un spectrophotomètre.

On a ainsi la détermination de l'activité anti-oxydante par le pouvoir réducteur de l'extrait de fer ferrique  $Fe^{3+}$  en fer ferreux  $Fe^{2+}$ .

### 2.3.9. Activité de piégeage des radicaux libres (DPPH)

La réduction du radical DPPH• par les antioxydants présent dans l'extrait forme DPPH et entraine une perte de couleur.

La solution de DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) a été produite comme décrit dans l'annexe. 50  $\mu$ l de l'extrait ont été ajoutés à 1 ml de solution éthanolique de DPPH.

Les mesures d'absorbance ont été lues à 517 nm après 60 min d'incubation à température ambiante ( $A_1$ ). L'absorption d'un échantillon blanc contenant la même quantité de méthanol et de solution de DPPH a été utilisée comme contrôle négatif ( $A_0$ ).

L'expérience a été réalisée en triplicata et le pourcentage d'inhibition des radicaux libres de chaque extrait a été calculé comme suit : % d'inhibition =  $[(A_0 - A_1 / A_0) \times 100]$ .

### 2.3.10. Analyses statistiques

La comparaison des différents groupes d'essais de chaque test et la significativité des résultats ont été évaluées en utilisant l'analyse de variance ANOVA, la détermination de l'importance des paramètres des tests et l'exploration des relations entre les variables par leur diagramme de pareto et le tracé de surfaces de réponse ont été effectués sur le logiciel STATISTICA (STATSOFT, INC., 2011).

## 2.3. Résultats

### 2.3.1. Criblage des solvants

Pour le test de Folin, l'eau a montré sans équivoque la meilleure extraction des composés phénoliques avec 32.27 mg/g ; suivi de loin par l'éthanol, puis le méthanol et l'acétone montrant respectivement 5.31, 4.38 et 4,26 mg/g de composés phénoliques.

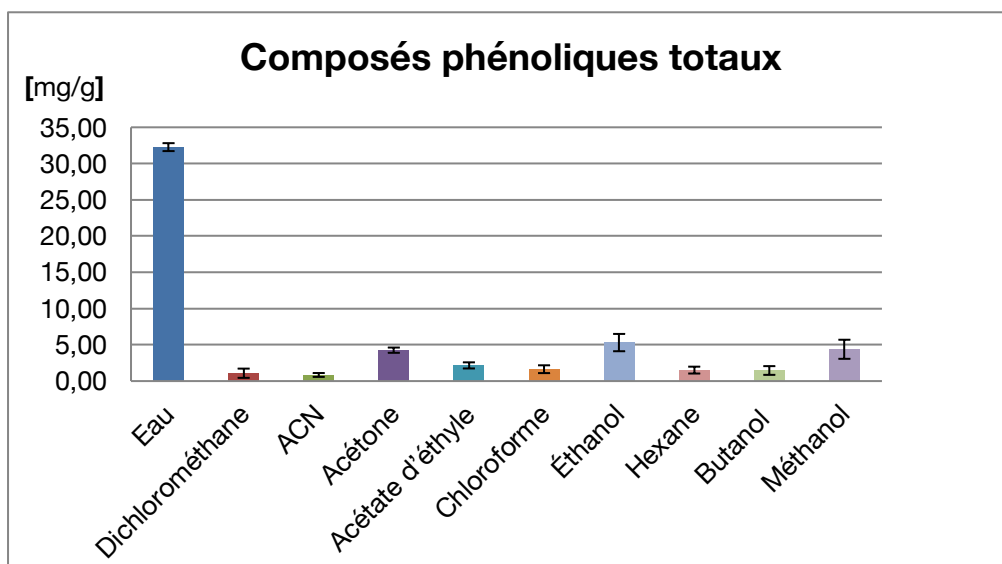


Figure 21 : Diagramme CPT du Criblage de solvant

Tableau 12 : Valeurs de CPT du Criblage des solvants

Solvant	Moyenne [mg/g]	Écart-type	CV
<b>Eau</b>	<b>32,27</b>	<b>0,55</b>	<b>1,70</b>
Dichlorométhane	1,08	0,64	58,91
ACN	0,84	0,27	31,77
Acétone	4,26	0,36	8,52
Acétate d'éthyle	2,16	0,42	19,52
Chloroforme	1,64	0,54	32,82
Éthanol	5,31	1,19	22,46
Hexane	1,51	0,47	31,28
Butanol	1,46	0,60	41,29
Méthanol	4,38	1,32	30,01

L'activité antioxydante obtenue avec l'extrait d'eau est la plus importante parmi les 10 solvants avec le test CAT ; ensuite viennent le méthanol, l'éthanol et le chloroforme.

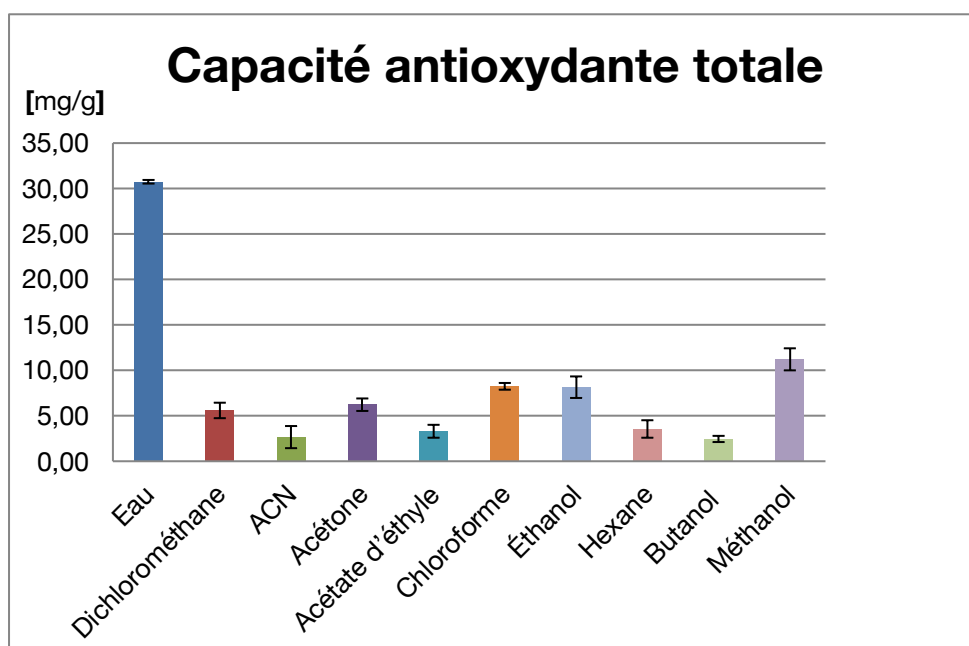


Figure 22 : Diagramme de dépistage des solvants CAT

Tableau 13 : Valeurs du tableau de dépistage des solvants CAT

Solvant	Moyenne [mg/g]	Écart-type	CV
<b>Eau</b>	<b>30,75</b>	<b>0,20</b>	<b>0,65</b>
<b>Dichlorométhane</b>	<b>5,59</b>	<b>0,85</b>	<b>15,22</b>
<b>ACN</b>	<b>2,66</b>	<b>1,22</b>	<b>45,80</b>
<b>Acétone</b>	<b>6,22</b>	<b>0,69</b>	<b>11,05</b>
<b>Acétate d'éthyle</b>	<b>3,30</b>	<b>0,71</b>	<b>21,54</b>
<b>Chloroforme</b>	<b>8,24</b>	<b>0,37</b>	<b>4,50</b>
<b>Éthanol</b>	<b>8,15</b>	<b>1,18</b>	<b>14,54</b>
<b>Hexane</b>	<b>3,55</b>	<b>0,96</b>	<b>27,13</b>
<b>Butanol</b>	<b>2,45</b>	<b>0,34</b>	<b>13,85</b>
<b>Méthanol</b>	<b>11,21</b>	<b>1,21</b>	<b>10,81</b>

En ce qui concerne le test FRAP, l'extraction de la truffe du désert par l'eau, l'éthanol, l'acétone et le méthanol montre les meilleurs résultats.

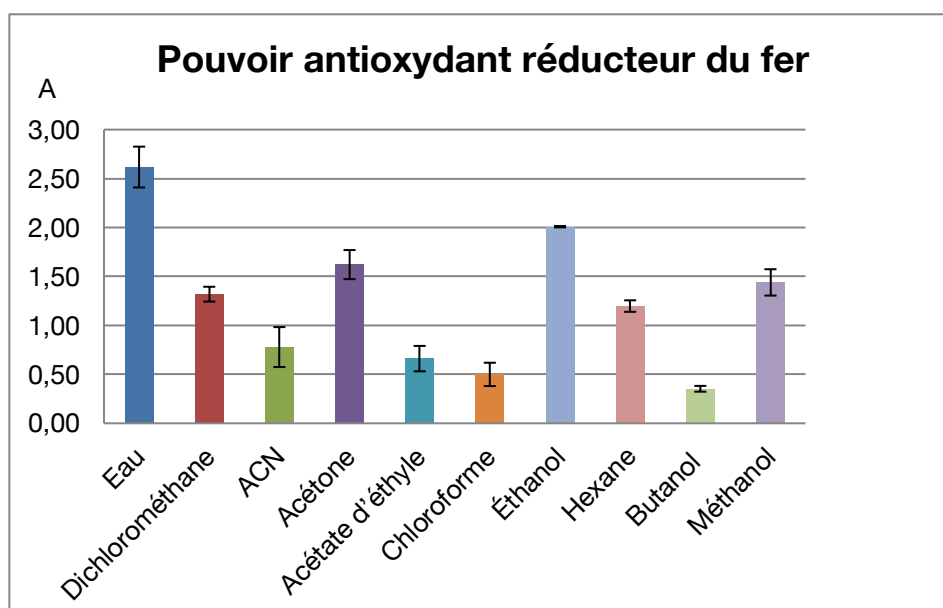


Figure 23 : Diagramme de criblage de solvant FRAP

Tableau 14 : Valeurs du tableau de criblage des solvants FRAP

Solvant	Moyenne A	Écart-type	CV
Eau	2,62	0,21	7,97
Dichlorométhane	1,32	0,08	5,75
ACN	0,78	0,20	26,20
Acétone	1,62	0,15	9,16
Acétate d'éthyle	0,66	0,13	19,62
Chloroforme	0,50	0,12	23,83
Éthanol	2,01	0,01	0,34
Hexane	1,20	0,06	4,90
Butanol	0,35	0,03	8,37
Méthanol	1,44	0,13	9,35

La différence est moins importante avec le test FRAP, mais dans les trois expériences, l'eau montre la meilleure capacité à extraire les composés phénoliques ( $32.27 \pm 0.55$  mg / ml) et capacité antioxydante ( $30.75 \pm 0.20$  mg / ml), ainsi que le meilleur pouvoir réducteur ferrique ( $2.62 \pm 0.21$ ). Suivi par l'éthanol et le méthanol.

Dans certaines études de l'activité des extraits de truffe du désert, parmi les solvants utilisés l'hexane montrait une des meilleures activités antioxydante et anti-angiogénique (25).

Par conséquent, les solvants de choix pour l'étape suivante étaient : l'eau, l'éthanol, le méthanol et l'hexane.

### 2.3.2. Optimisation du mélange de solvants

Le traitement des résultats sur ANOVA montre une meilleure dépendance pour le modèle quadratique (meilleur R- carré) donc il a été utilisé pour les analyses de surfaces de réponse.

**Tableau 15 : Analyse des tests d'optimisation des mélanges par ANOVA**

	SS	df	MS	SS	p	R-Sqr	R-Sqr adjusted
<b>FRAP</b>							
Linear	3,221031	2	1,610516	2,045388	0,000201	0,611617	0,568463
Quadratic	1,832861	3	0,610954	0,212527	0,000000	0,959645	0,946193
Total Adjusted	5,266419	20	0,263321				
<b>TPC</b>							
Linear	1086,406	2	543,2031	266,7780	0,000000	0,802852	0,780946
Quadratic	263,883	3	87,9608	2,8954	0,000000	0,997860	0,997147
Total Adjusted	1353,184	20	67,6592				
<b>TAC</b>							
Linear	2016,183	2	1008,091	103,5524	0,000000	0,951148	0,945720
Quadratic	83,294	3	27,765	20,2584	0,000014	0,990443	0,987257
Total Adjusted	2119,735	20	105,987				
<b>DPPH</b>							
Linear	5356,798	2	2678,399	1966,028	0,000007	0,731521	0,701689
Quadratic	1770,207	3	590,069	195,821	0,000000	0,973259	0,964345
Total Adjusted	7322,826	20	366,141				

La meilleure extraction lors du test de Folin a été obtenue avec les mélanges aqueux ; avec une quantité de composés phénoliques proportionnelle au pourcentage d'eau que contient le mélange.



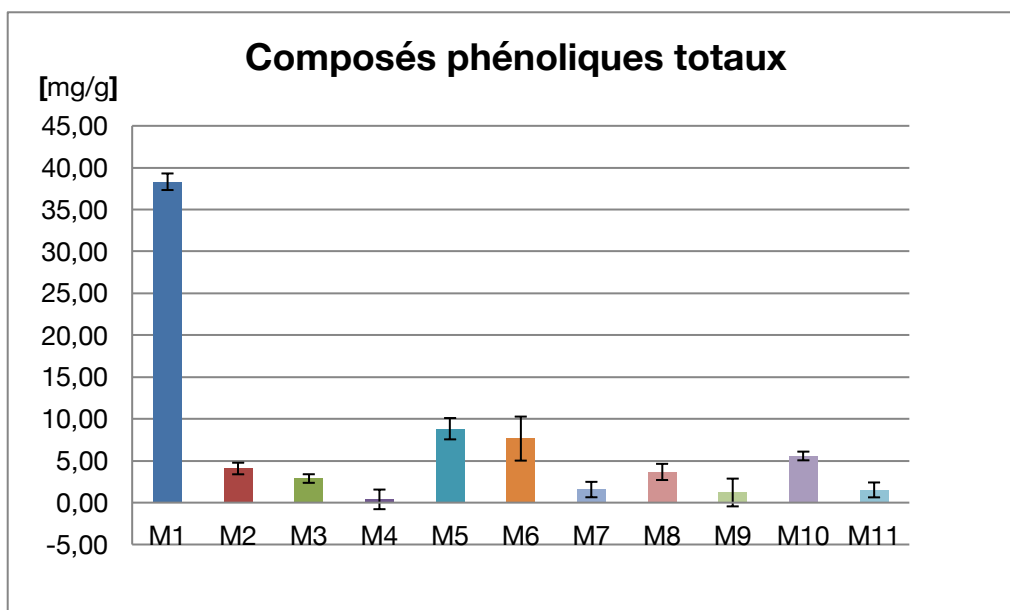


Figure 24 : Diagramme CPT de l'optimisation des mélanges

Tableau 16 : Valeurs du test CPT de l'optimisation des mélanges de solvants

Mélanges	Eau	Éthanol	Méthanol	Hexane	Moyenne [mg/g]	Écart-type	CV
M1	100	0	0	0	38,32	0,99	2,58
M2	0	100	0	0	4,08	0,69	16,95
M3	0	0	100	0	2,88	0,51	17,84
M4	0	0	0	100	0,39	1,17	300,42
M5	50	50	0	0	8,83	1,27	14,42
M6	50	0	50	0	7,65	2,63	34,38
M7	0	0	50	50	1,56	0,92	58,89
M8	0	50	50	0	3,67	0,96	26,31
M9	0	50	0	50	1,21	1,66	136,87
M10	33,33333333	33,33333333	33,33333333	0	5,57	0,52	9,32
M11	0	33,33333333	33,33333333	33,33333333	1,52	0,89	58,52

L'eau pure présente à nouveau la concentration phénolique la plus élevée extraite ( $28.21 \pm 0.70$  mg /g).

Le traitement du test CPT par la méthode de surface de réponse donne un manque d'ajustement supérieur à 0.05, ce qui confirme l'adéquation de ce modèle pour conduire le test. La valeur élevée de F et faible P confirment également que le modèle est hautement significatif.

Tableau 17 : Méthode de surface de réponse du test CPT, tableau des paramètres statistiques

Source	Overall Fit of Model; Var.: <b>TPC</b> (Spreadsheet1)3 Factor mixture design;				
	SS	df	MS	F	p
Model	1350,289	5	270,0577	1399,049	0,000000
Total Error	2,895	15	0,1930		
Lack of Fit	0,081	1	0,0807	0,401	0,536653
Pure Error	2,815	14	0,2011		
Total Adjusted	1353,184	20	67,6592		

Les contours de surface du modèle cubique prédisent le CPT en fonction des proportions d'eau, d'éthanol et de méthanol. L'analyse axiale montre une meilleure extraction des CPT avec l'eau pour le 1er triangle. Mais aussi que le mélange de l'eau avec les deux autres solvants n'est pas avantageux car diminue la capacité de l'eau à extraire.

Le graphique de Pareto quant à lui montre l'importance de ces solvants comme facteur d'extraction.

La quantité de composés phénoliques extraits augmente avec l'augmentation du pourcentage d'eau comme indiqué sur le tracé de surface. Le graphique de Pareto souligne également que l'eau est le facteur d'extraction le plus élevé.

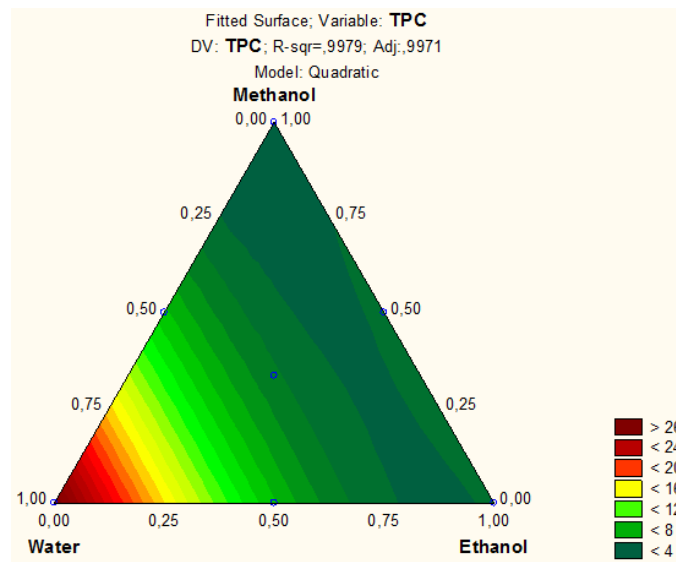


Figure 25 : Surface de réponse CPT de l'optimisation des mélanges de solvants

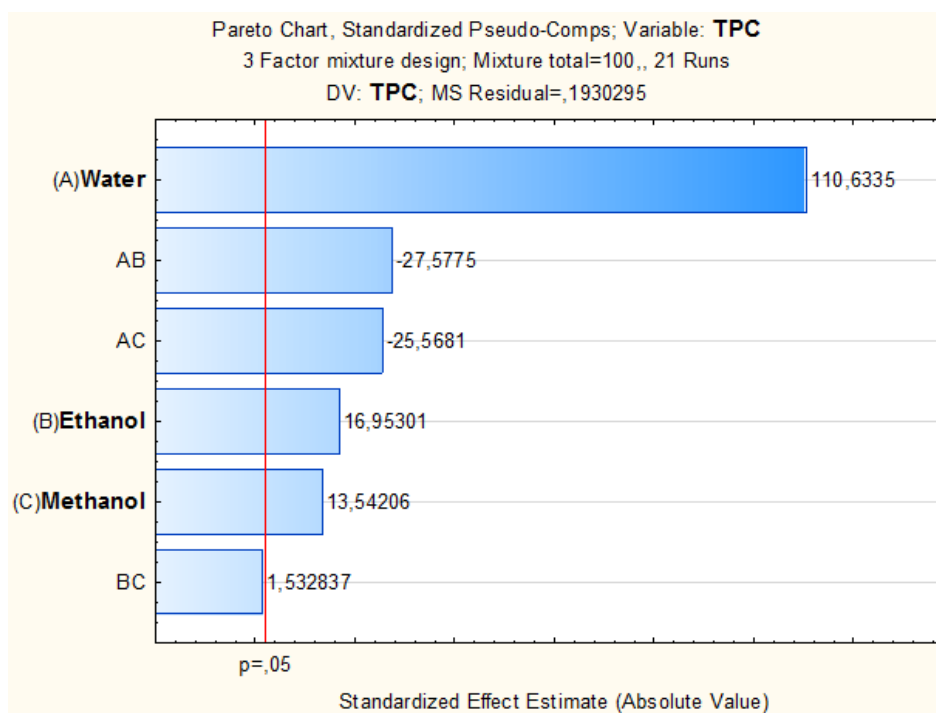


Figure 26 : Tableau de Pareto d'optimisation du mélange de solvants CPT

Pour le second triangle (optimisation Hexane-MeOH-EtOH), il n'y a pas d'extraction de composés phénoliques par l'hexane (trop apolaire),

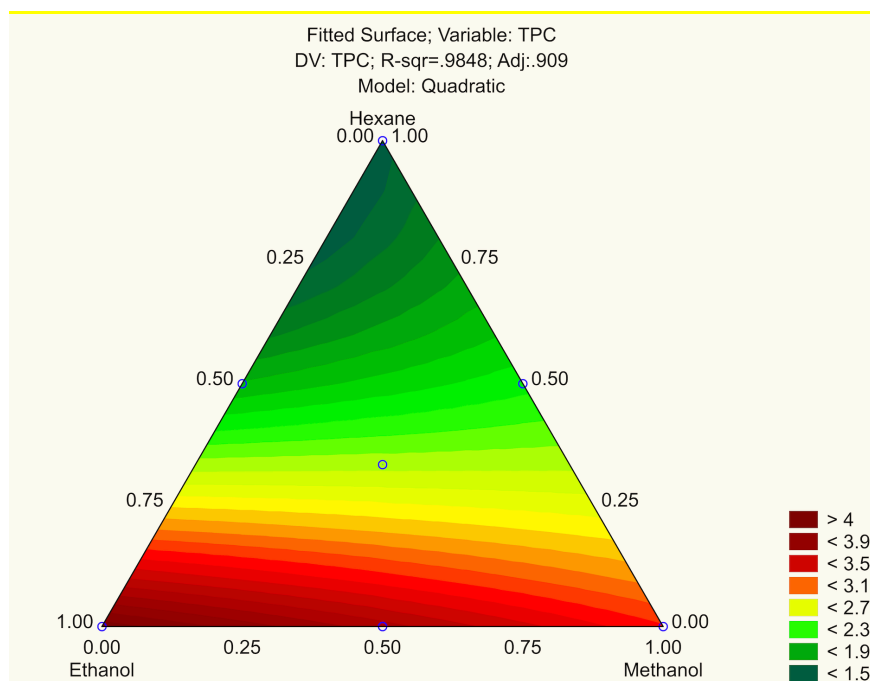


Figure 27 : Surfaces de réponses CPT de l'optimisation des extraits de mélanges de solvants

Les résultats de ce test CAT des extraits des mélanges ont présenté de forts écart-types pour les essais de certaines mixtures (M3, M6, M7). La capacité antioxydante de l'eau reste tout de même significativement plus élevée.

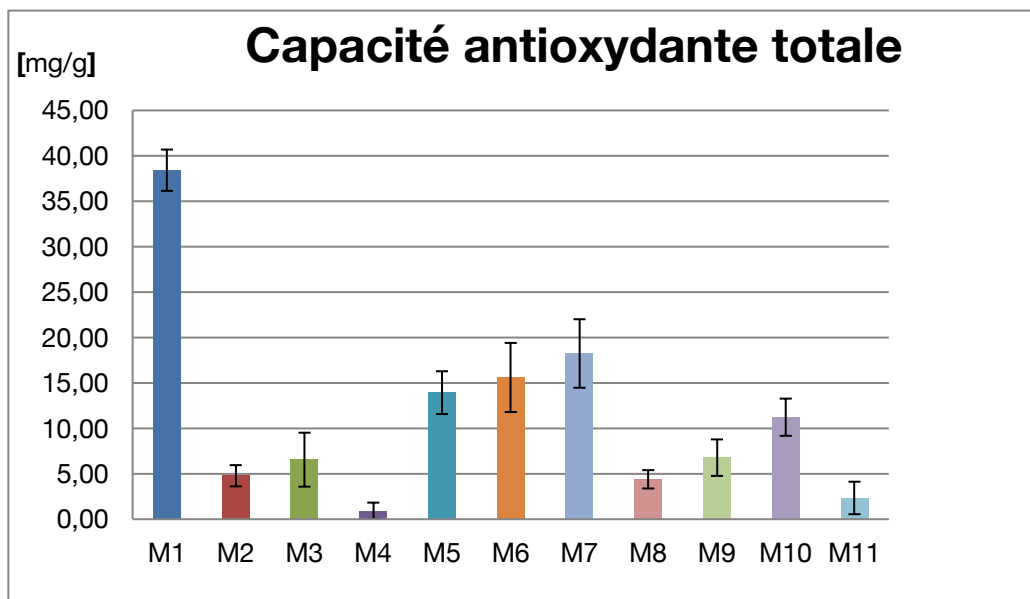


Figure 28 : Diagramme d'optimisation du mélange CAT

Tableau 18 : Valeurs du test CAT de l'optimisation du mélange de solvants

Mélanges	Eau	Ethanol	Methanol	Hexane	Moyenne [mg/g]	Écart-type	CV
M1	100	0	0	0	38,42	2,28	5,92
M2	0	100	0	0	4,79	1,17	24,42
M3	0	0	100	0	6,55	2,97	45,33
M4	0	0	0	100	0,91	0,91	99,96
M5	50	50	0	0	13,93	2,36	16,91
M6	50	0	50	0	14,18	5,36	37,78
M7	0	0	50	50	25,36	11,57	45,62
M8	0	50	50	0	4,39	1,01	22,98
M9	0	50	0	50	6,78	2,01	29,66
M10	33,3333	33,3333	33,333333	0	11,23	2,05	18,24
M11	0	33,3333	33,333333	33,33333	2,34	1,79	76,50

Le traitement du test CAT par la méthode de surface de réponse, on observe une action synergique hexane-méthanol, mais R-square étant de 0.7, les essais sont non répétables, on a écarté l'hexane pour la suite. On observe également une interaction éthanol – méthanol.

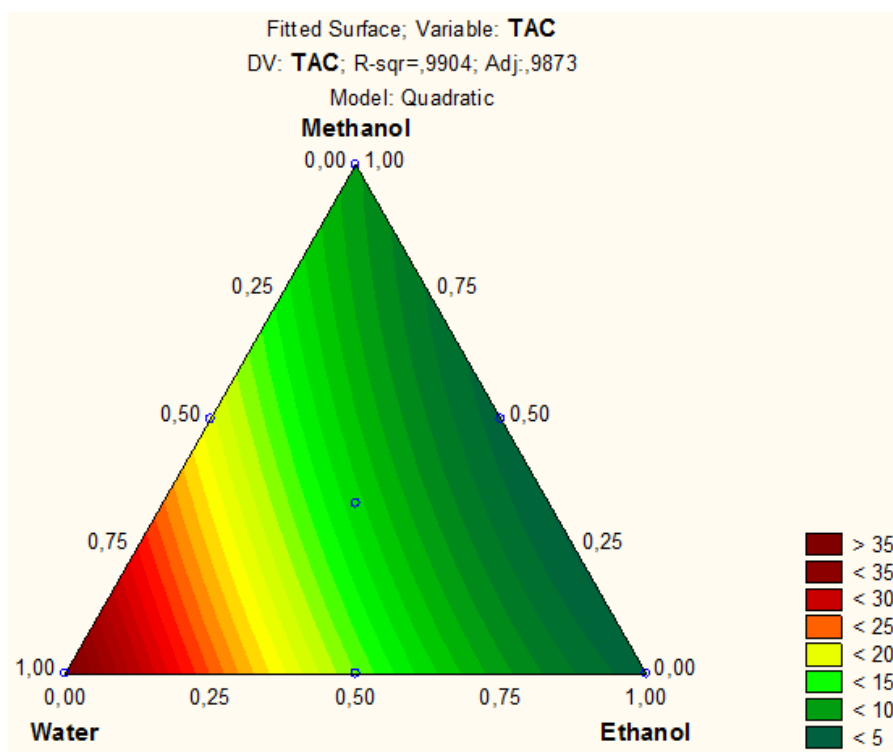


Figure 29 : Surfaces de réponses CAT de l'optimisation des extraits de mélanges de solvants

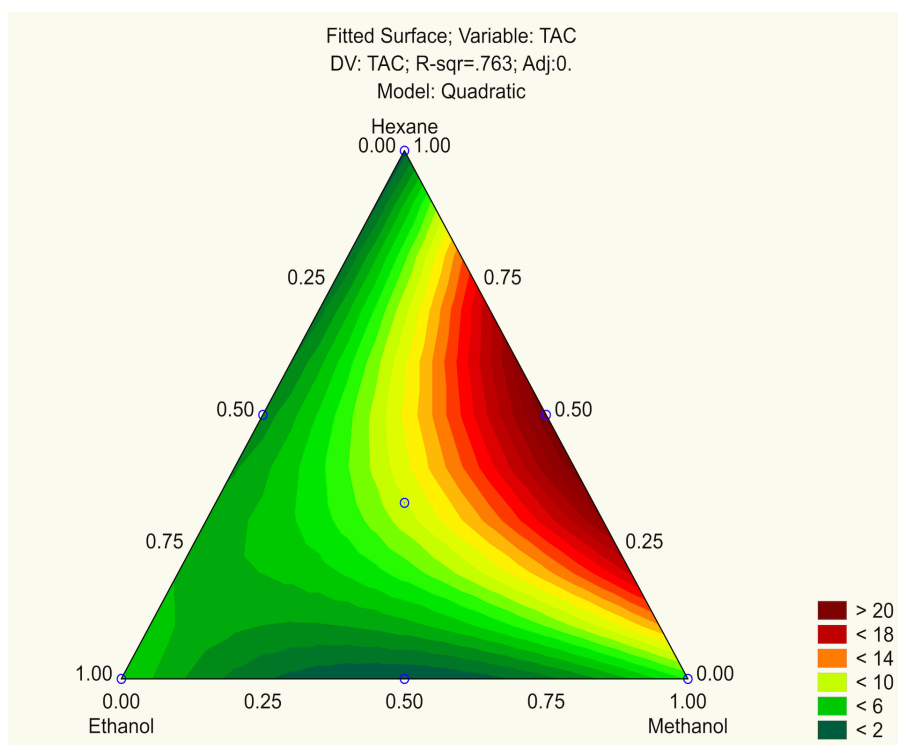


Figure 30 : Surfaces de réponses CAT de l'optimisation des extraits de mélanges de solvants

Le diagramme de Pareto obtenu pour ce test de CAT (voir annexes) montre que tous les facteurs eau (A), éthanol (B), méthanol (C) et leur interaction binaire dépassent la ligne de base de 0.05, en conséquence ils ont tous une significativité majeure. Mais l'eau reste la plus élevée.

L'eau est également le solvant le plus important dans les tests de FRAP et DPPH suivant.

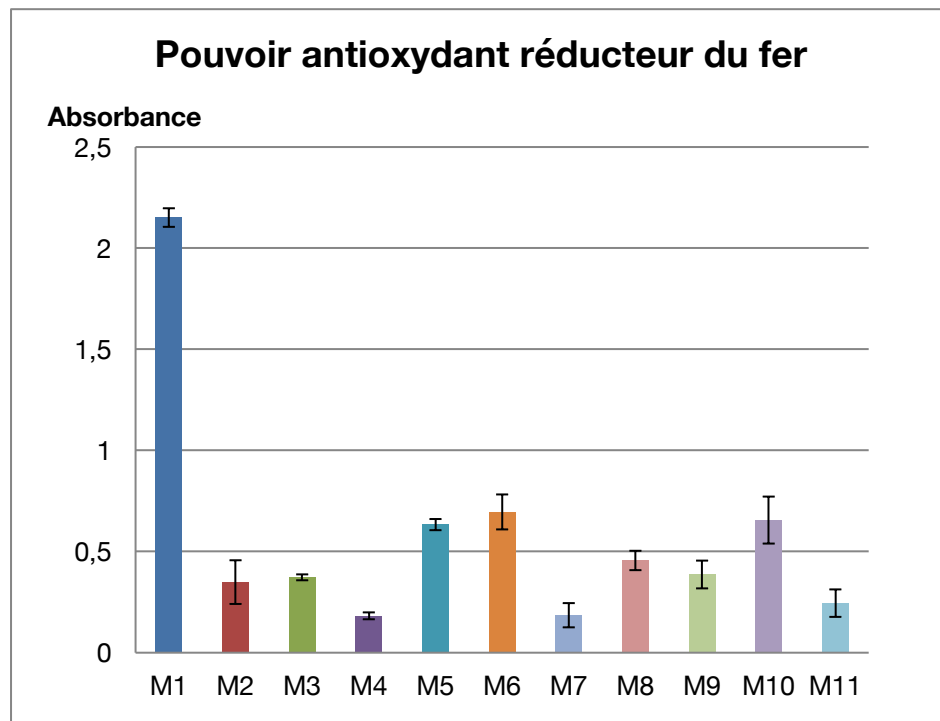


Figure 31 : Diagramme d'optimisation du mélange FRAP

Tableau 19 : Valeurs du test FRAP de l'optimisation du mélange de solvants

Mixtures	Eau	Éthanol	Méthanol	Hexane	Moyenne A	Écart-type	CV
M1	100	0	0	0	2,15	0,05	2,14
M2	0	100	0	0	0,35	0,11	30,96
M3	0	0	100	0	0,37	0,01	3,91
M4	0	0	0	100	0,18	0,02	9,33
M5	50	50	0	0	0,63	0,03	4,35
M6	50	0	50	0	0,70	0,09	12,42
M7	0	0	50	50	0,19	0,06	32,30
M8	0	50	50	0	0,46	0,05	10,49
M9	0	50	0	50	0,39	0,07	17,75
M10	33,3333	33,333333	33,33333	0	0,66	0,12	17,71

M11	0	33,333333	33,33333	33,33333333	0,25	0,07	27,73
-----	---	-----------	----------	-------------	------	------	-------

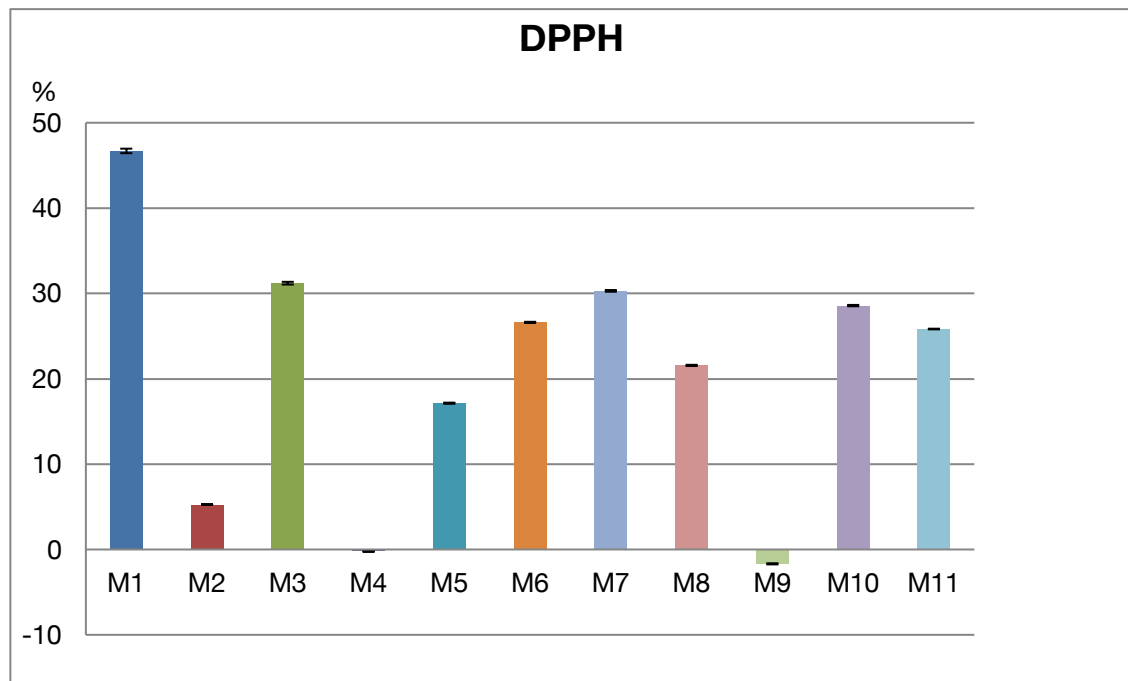


Figure 32 : Diagramme d'optimisation du mélange de solvants DPPH

Tableau 20 : Valeurs du test DPPH de l'optimisation du mélange de solvants

Mélanges	Eau	Éthanol	Méthanol	Hexane	Moyenne A	Écart-type	CV	%
M1	100	0	0	0	0,43	0,26	60,82	46,70
M2	0	100	0	0	0,77	0,03	4,44	5,27
M3	0	0	100	0	0,56	0,16	28,37	31,20
M4	0	0	0	100	0,81	0,06	7,83	-0,23
M5	50	50	0	0	0,67	0,07	10,03	17,14
M6	50	0	50	0	0,60	0,07	11,18	26,61
M7	0	0	50	50	0,57	0,10	17,47	30,30
M8	0	50	50	0	0,64	0,07	11,08	21,57
M9	0	50	0	50	0,83	0,07	8,22	-1,68
M10	33,3333	33,3333	33,333333	0	0,58	0,08	13,37	28,58
M11	0	33,3333	33,333333	33,33333	0,60	0,04	6,61	25,83

Le meilleur mélange a été défini comme M1, l'eau pure par tous les tests.

M5 (50:50 eau / EtOH) et M10 (33% eau / EtOH / MeOH) étaient les deux meilleurs mélanges suivants, et ont également été conservés pour le test suivant pour observation et comparaison.

Le traitement par la méthode de surface de réponse des tests Frap et DPPH de l'optimisation Eau-MeOH-EtOH confirment également que les extraits d'eau donnent la meilleure activité.

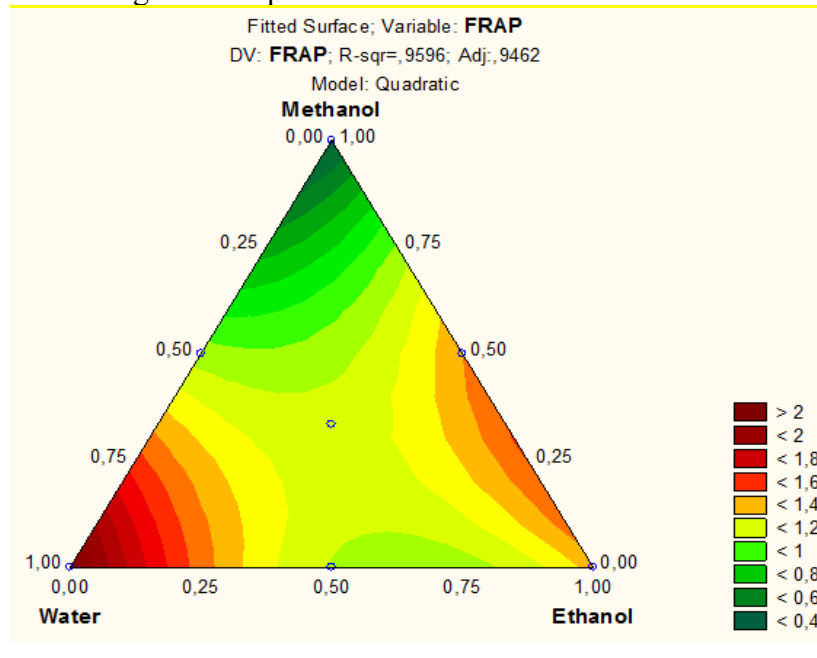


Figure 33 : Surfaces de réponses FRAP de l'optimisation des extraits de mélanges de solvants

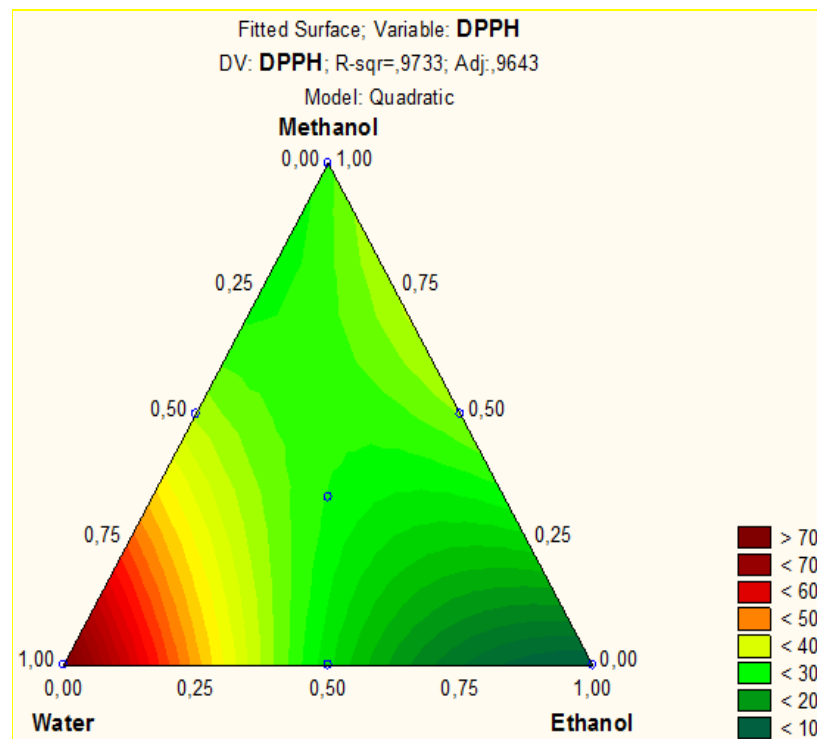
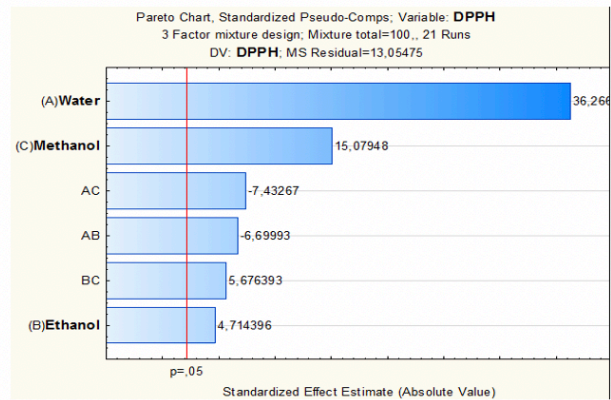
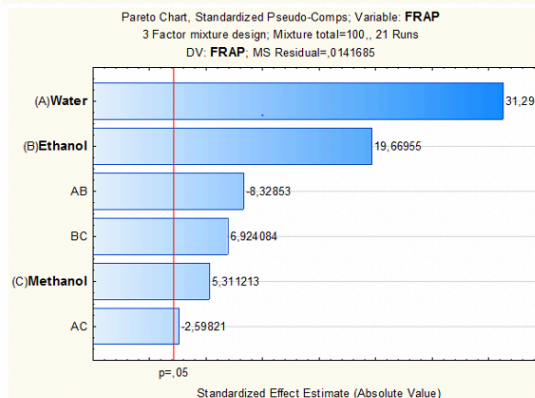
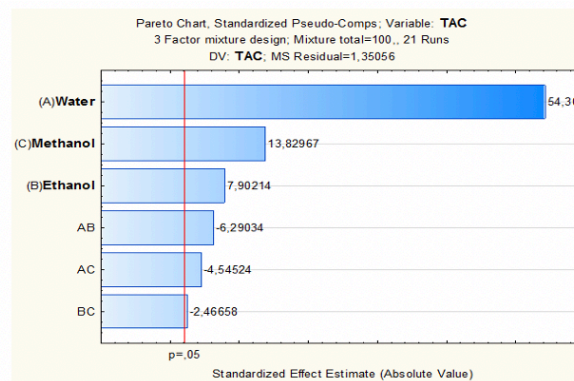
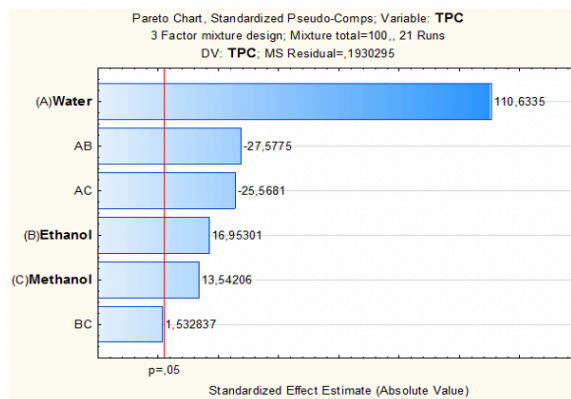


Figure 34 : Surfaces de réponses DPPH de l'optimisation des extraits de mélanges de solvants



En conséquence le solvant avec la meilleure extraction est l'eau. Les graphiques de Pareto soulignent également que l'eau est toujours le facteur d'extraction le plus élevé.



### 2.3.3. Conditions d'extraction optimales

Le test de Folin montre une influence de la température et de la lumière, sur la composition de l'extrait de la truffe, différente en fonction des mixtures de solvants. Les meilleures conditions pour l'extraction par l'eau sont T ° 40 / 40min puis T ° 40 / 20min.

La température est le facteur qui influence le plus l'extraction par l'eau (M1) dans le cas du test CPT (voir annexe). Pour les deux autres mélanges, les deux facteurs sont significatifs.

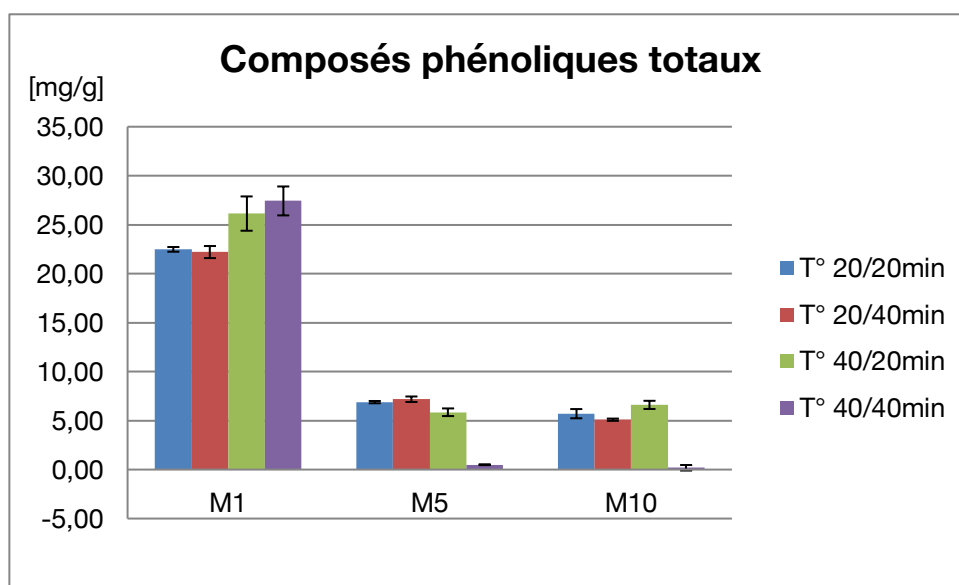


Figure 35 : Diagramme CPT des conditions optimales d'extraction

Tableau 21 : Valeurs du test CPT des conditions optimales d'extraction

Mélanges	20min	40min	T° 20	T° 40	Moyenne [mg/g]	Écart-type	CV
M1	x		x		22,48	0,24	1,07
M5	x		x		6,88	0,12	1,70
M10	x		x		5,71	0,47	8,24
M1		x	x		22,20	0,62	2,78
M5		x	x		7,18	0,28	3,89
M10		x	x		5,09	0,12	2,26
M1	x			x	26,13	1,75	6,70
M5	x			x	5,85	0,39	6,67
M10	x			x	6,60	0,42	6,32
M1		x		x	27,42	1,48	5,38
M5		x		x	0,50	0,04	8,62
M10		x		x	0,18	0,28	153,73

Dans le cas du test DPPH, la meilleure condition d'extraction semble être T ° 20 / 40min et T ° 20 / 20min . Le diagramme de pareto montre que les deux facteurs température et temps sont significatifs et négatifs pour l'extraction ; la température est le facteur le plus important. On voit également sur le

diagramme expérimental que les pourcentages les plus bas pour tous les solvants sont obtenues à 40°C, contrairement aux résultats obtenus pour les composés phénoliques totaux.

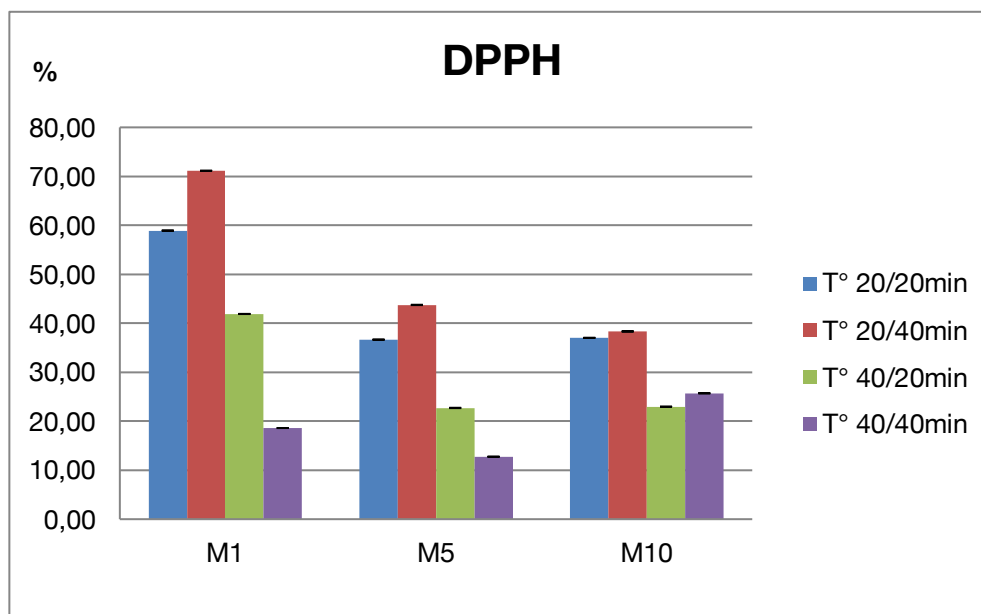


Figure 36 : Diagramme DPPH des conditions optimales d'extraction

Tableau 22 : Valeurs du test DPPH des conditions optimales d'extraction

Mélanges	20min	40min	T° 20	T° 40	Moyenne A	Écart-type	CV	%
M1	x		x		0,33	0,01	4,24	58,92
M5	x		x		0,52	0,01	2,14	36,65
M10	x		x		0,51	0,01	2,56	37,02
M1		x	x		0,23	0,01	4,27	71,14
M5		x	x		0,46	0,04	7,85	43,75
M10		x	x		0,50	0,02	4,44	38,34
M1	x			x	0,47	0,02	3,56	41,90
M5	x			x	0,63	0,03	5,54	22,71
M10	x			x	0,63	0,02	2,75	22,96
M1		x		x	0,66	0,01	0,76	18,61
M5		x		x	0,71	0,04	5,66	12,75
M10		x		x	0,60	0,01	2,17	25,71

Les meilleures conditions d'extraction sont différentes en fonction des mixtures de solvants et mais aussi des tests. Ainsi, les paramètres optimaux ont été définies à 40 °C pour la température d'extraction et 20 min pour le temps d'extraction grâce à la méthode de surfaces de réponse.

On constate qu'avec l'augmentation de la température il y a une augmentation des phénols extraits, et le temps a une influence seulement à température élevée.

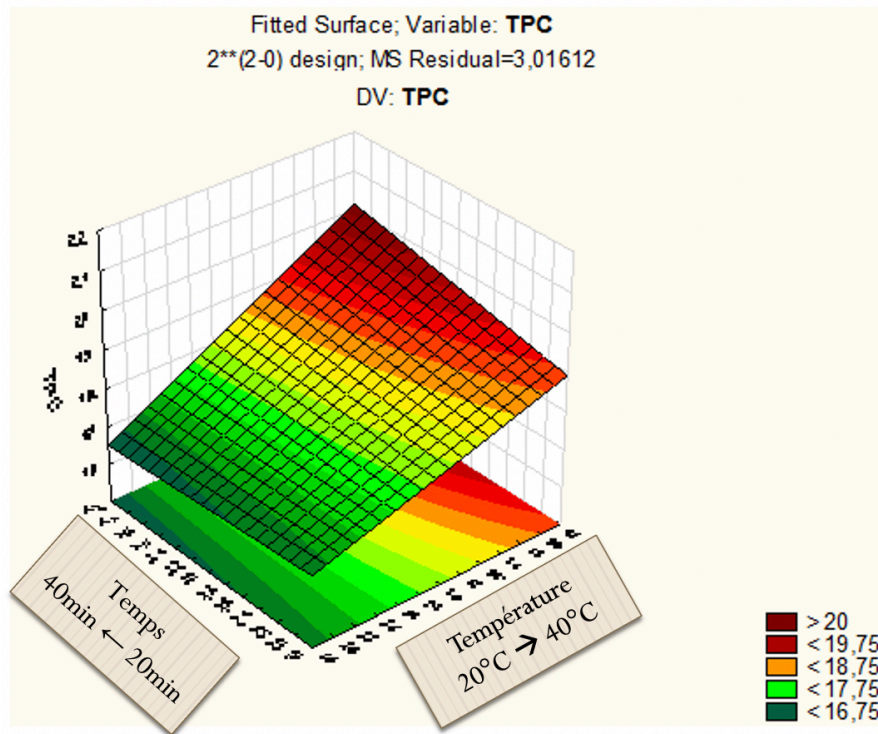


Figure 37 : Surface de réponse CPT de l'étude des Conditions d'extraction optimales

Pour le DPPH les deux facteurs température et temps sont négatifs pour l'extraction

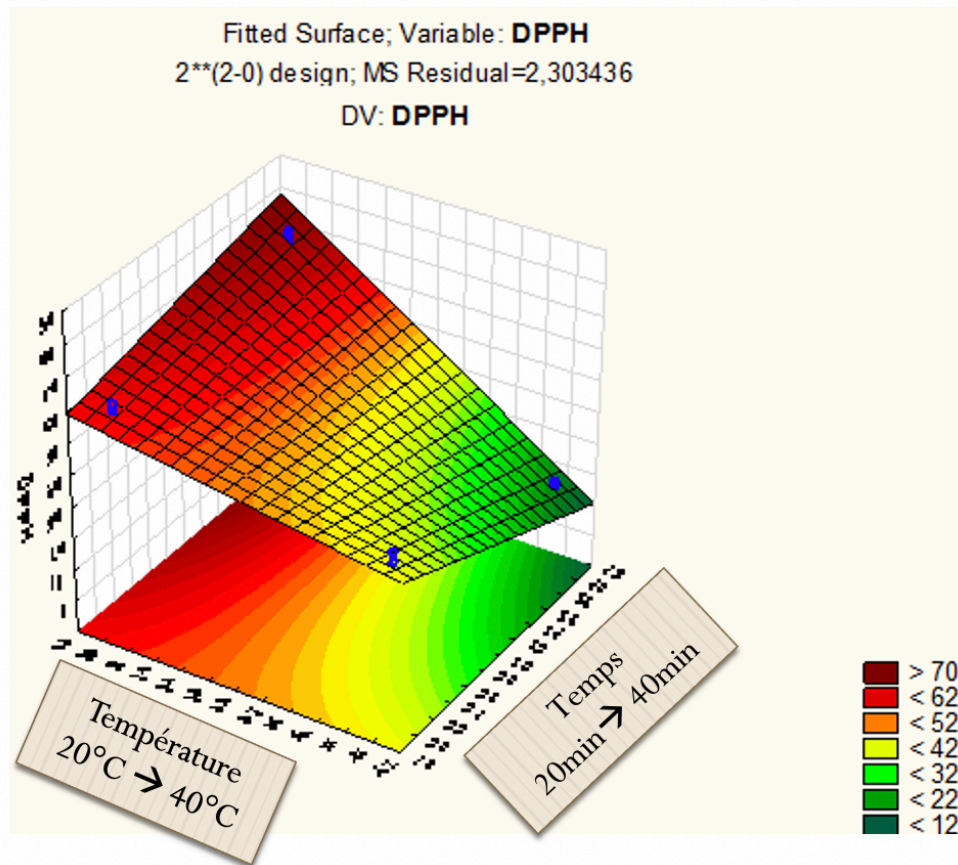


Figure 38 : Surface de réponse DPPH de l'étude des Conditions d'extraction optimales

#### 2.3.4. Étude des conditions de stockage

L'optimisation de l'extraction a permis d'utiliser ces mêmes conditions optimales définies pour apprécier l'effet des conditions de stockage de la poudre sèche sur la composition, toujours en termes d'antioxydant. L'étude suivante a donc été réalisée avec de l'eau pure comme solvant, à 40 °C pendant 20 min.

La plus haute concentration en composés phénoliques totaux était celle obtenue à 20 °C dans l'obscurité. Une légère baisse des CPT à 20 °C à la lumière suggère une légère influence de celle-ci sur la composition. On note également que la truffe du désert semble avoir une meilleure résistance aux très faibles températures (-20 °C) plutôt qu'au très haute température (60 °C).

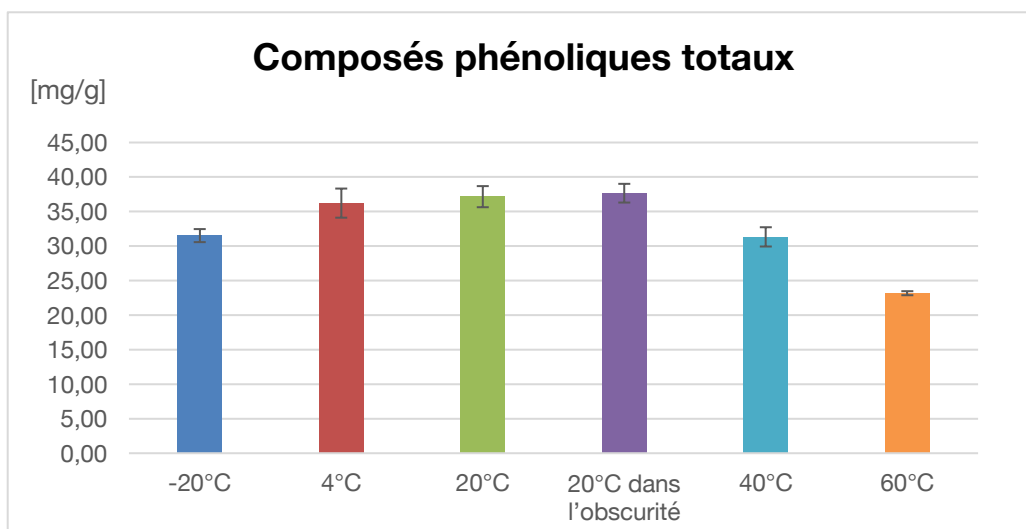


Figure 39 : Diagramme CPT de l'étude de l'influence des conditions de stockage

Tableau 23 : Valeurs du test CPT de l'étude de l'influence des conditions de stockage

Conditions de stockage	Moyenne [mg / g]	Écart Type	CV
-20°C	31,52	0,94	3,00
4°C	36,22	2,11	5,82
20°C	37,16	1,53	4,11
20°C dans l'obscurité	37,66	1,35	3,60
40°C	31,33	1,40	4,45
60°C	23,17	0,29	1,26

Pour le test CAT on observe une très faible différence entre les différentes conditions ; avec  $35,76 \pm 0,08$  mg /g à  $20^\circ\text{C}$  à la lumière et  $35,74 \pm 0,24$  mg /g à  $20^\circ\text{C}$  dans l'obscurité, les valeurs sont plus ou moins équivalentes.

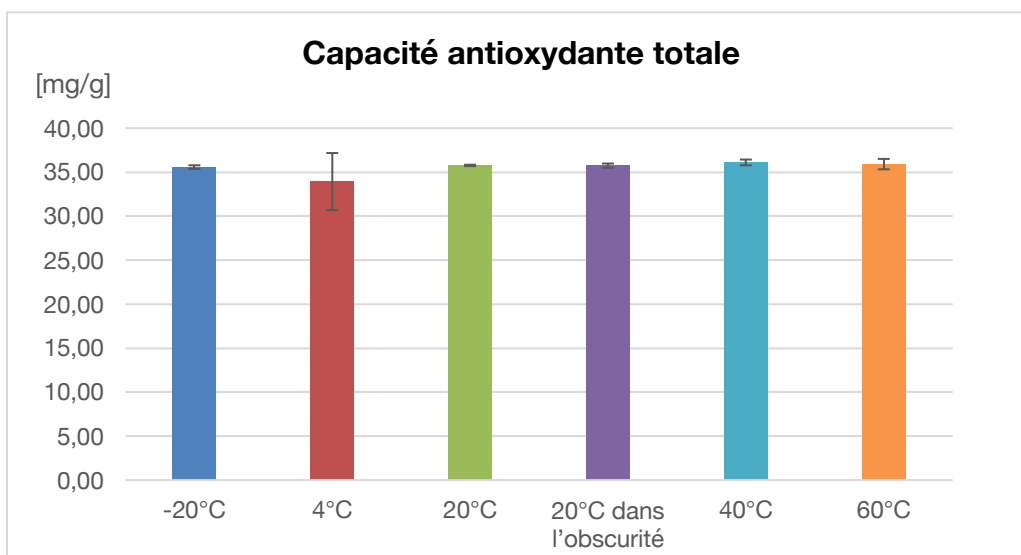


Figure 40 : Diagramme CAT de l'étude de l'influence des conditions de stockage

Tableau 24 : Valeurs du test CAT de l'étude de l'influence des conditions de stockage

Conditions de stockage	Moyenne [mg / g]	Écart Type	CV
-20°C	35,57	0,21	0,58
4°C	33,92	3,25	9,58
20°C	35,76	0,08	0,22
20°C dans l'obscurité	35,74	0,24	0,66
40°C	36,10	0,33	0,91
60°C	35,91	0,59	1,64

Test FRAP montre un meilleur résultat dans 20 ° C dans l'obscurité et les différences entre les différentes conditions sont relativement faibles.

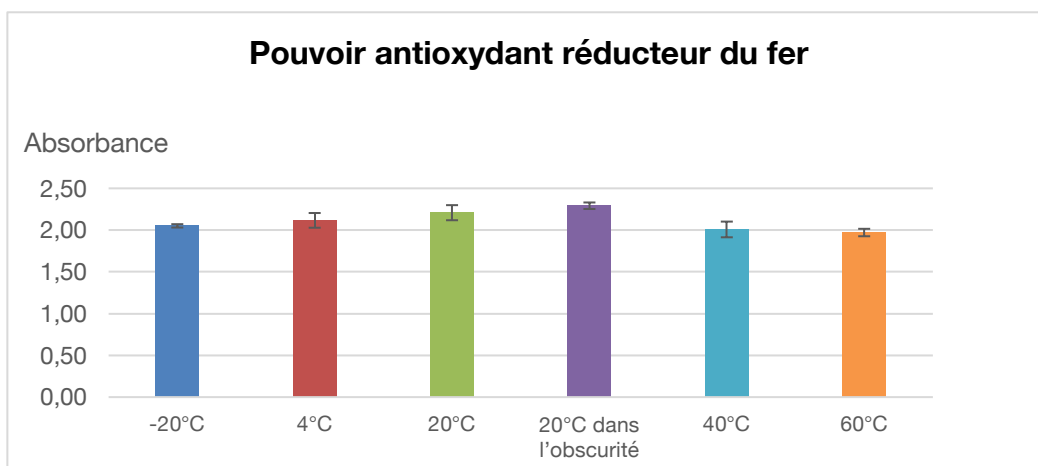


Figure 41 : Diagramme FRAP de l'étude de l'influence des conditions de stockage

Tableau 25 : Valeurs du test FRAP de l'étude de l'influence des conditions de stockage

Conditions de stockage	Moyenne [mg / g]	Écart Type	CV
-20°C	2,05	0,02	0,98
4°C	2,12	0,09	4,16
20°C	2,21	0,09	4,09
20°C dans l'obscurité	2,29	0,04	1,70
40°C	2,01	0,09	4,68
60°C	1,97	0,04	2,26

Le test DPPH montre aussi de meilleurs résultats à 20 ° C dans l'obscurité ; et là également on note légèrement que la truffe du désert subit une influence à la lumière et a une meilleure résistance au froid qu'au chaud.



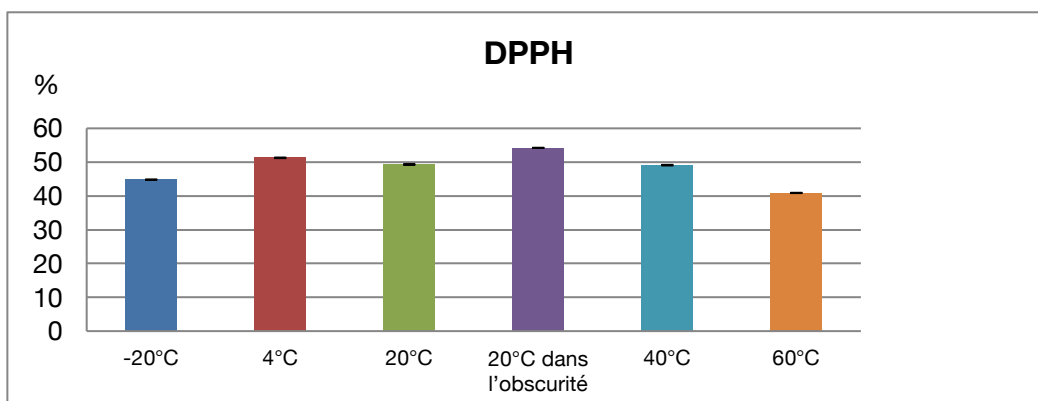


Figure 42 : Diagramme DPPH de l'étude de l'influence des conditions de stockage

Tableau 26 : Valeurs du test DPPH de l'étude de l'influence des conditions de stockage

Conditions de stockage	Moyenne [mg / g]	Écart Type	CV	%
-20°C	0,47	0,04	7,59	44,8062016
4°C	0,42	0,02	5,64	51,2790698
20°C	0,44	0,04	9,93	49,3023256
20°C dans l'obscurité	0,39	0,07	18,29	54,2248062
40°C	0,44	0,04	9,41	49,1085271
60°C	0,51	0,04	8,07	40,8914729

En somme, l'influence de la température et de la lumière de stockage sur la composition des truffes du désert est relativement faible sur le court terme ; car il faut garder à l'esprit que la durée de l'expérimentation est assez courte (2 semaines d'incubation). 20 ° C dans l'obscurité représente possiblement les meilleures conditions de stockage.

La courbe ci-dessous (Figure 43) a été obtenue en comparant le pourcentage de diminution de composés phénoliques et autres composés à activité antioxydante d'extraits obtenues à partir de poudre de truffes stockée dans chaque condition à celui au rendement d'extraction le plus élevé (20°C dans l'obscurité), considéré comme 100%. On observe une diminution de composés antioxydants de 7 à 25 % en fonction de la température.

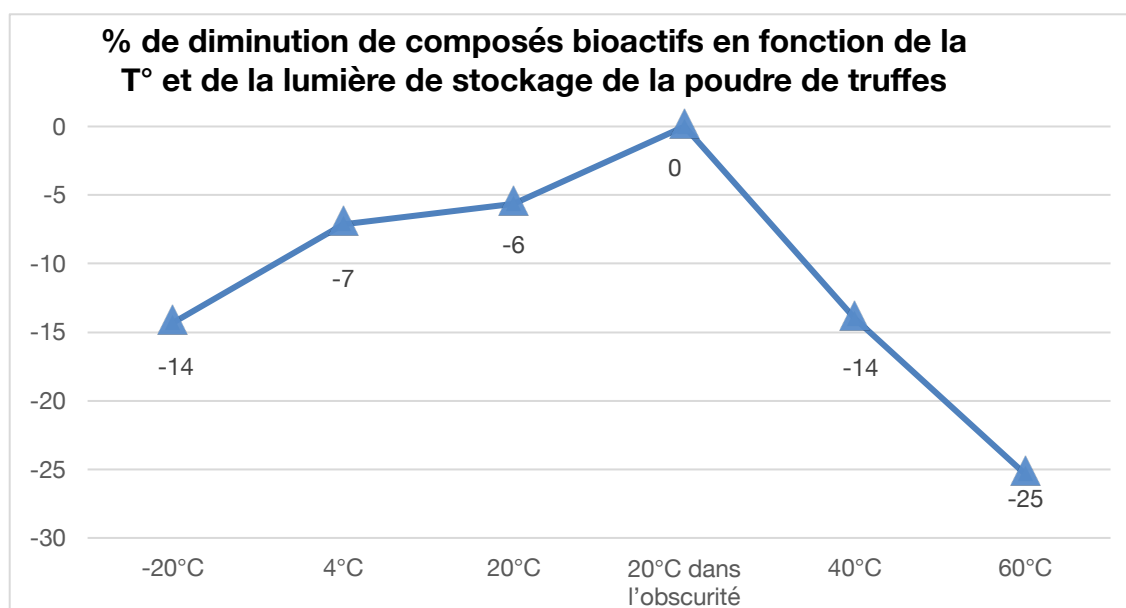


Figure 43 : Courbe d'influence des conditions de stockage

## 2.4. Discussion

Les conditions optimales de stockage et d'extraction de la truffe ont donc été évalués tout en explorant le pouvoir antioxydant des extraits. Les résultats étaient généralement en accord avec la littérature ; les résultats montrent des activités antioxydants notables, à l'exception fait de la deuxième conception de mélange axial simplex avec Hexane. Ceci peut être expliqué par la forme des échantillons utilisés. En effet dans le cas des expériences réalisées à l'ANPMA la truffe du désert collectée était sèche (perte des COVs) et les extraits aqueux délivraient la meilleur activité ; tandis que dans certaines études l'extraction à l'hexane montrait une des meilleures activités antioxydante et antitumorale bien que l'eau ait le meilleur rendement (25), avec extraction principalement des phytostérols à partir d'échantillons frais de la truffe du désert (25).

Un écart-type élevé a été obtenu dans certains cas, probablement en raison de quelques difficultés survenues lors de l'expérience (problèmes de protocole, dysfonctionnement du spectrophotomètre IR). Au vu de la période courte du projet les répétitions étaient limitées. Une durée d'expérience plus longue aurait permis plus d'exploration (protocoles, dilutions, analyses).

En conclusion, la température, le temps et le solvant d'extraction se sont révélés être des facteurs importants pour l'extraction des composés de la truffe du désert. Et les meilleures conditions ont

été définies étant l'eau pure comme solvant, à 40°C et 20min pour la température et le temps d'extraction.

Pour la température et la lumière nous avons également observés leur influence sur la composition et les propriétés de la truffe du désert durant le stockage. Cette influence négative de la température sur la composition des truffes du désert suggère qu'elles perdent une partie de leurs valeurs nutritives après avoir été cuites à haute température durant une longue durée, il serait donc probablement plus opportun de les consommer crues.

La concentration phénolique et la capacité antioxydante démontrées offrent des possibilités utilisations intéressantes de la truffe du désert dans les compléments alimentaires et la fabrication de cosmétiques dans lesquels les effets antioxydant sont très recherchés.

Une expérimentation de 6 mois avait été prévue par la suite au sein du département de génie alimentaire de l'Université de Sao Paulo ; afin d'effectuer une extraction par fluide supercritique avec du CO<sub>2</sub> et une extraction avec de l'éthanol sous pression ; cette méthode est notamment utilisée pour l'extraction d'huile de truffe en Inde. Une comparaison des résultats auraient ainsi pu être effectués avec ceux obtenus par ultrasonication solide-liquide à chaud, avec analyse des différents extraits par chromatographie liquide ou gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

Ce projet de recherche a dû être annulé du fait de la pandémie.

## Conclusion et perspectives

Ce document souligne la pertinence de la truffe du désert, d'abord comme aliment à haute teneur nutritionnelle en glucides, protéines, acides gras, minéraux, fibres et acides aminés essentiels ; ensuite, comme aliment à fort potentiel bénéfique pour la santé, notamment pour son pouvoir antioxydant, antitumoral, antimicrobien, immunomodulateur et antidépresseur ; il met également en lumière sur la nécessité de maîtriser et d'innover son processus de production, car son importance en tant qu'objet d'exploration pour la médecine et la nutrition modernes est incontestable.

Par conséquent, une recherche intensifiée sur le développement de méthodes de production efficaces, par l'étude de la composition du sol et de tous les paramètres de la culture de la truffe, l'évolution du processus (comme l'inoculation artificielle et le mycélium de fermentation), le comportement de la croissance de la truffe dans des environnements de production contrôlée et bien d'autres aspects, est nécessaire pour augmenter le rendement de la récolte, avec des meilleures teneurs en bioactifs de qualité. Il faut donc atteindre l'objectif de réduire la rareté de cette nourriture agréable, et ainsi répondre à la demande mondiale avec une évolution vers une réelle industrialisation.

La truffe du désert pourrait également améliorer la productivité agricole d'autres cultures, avec une utilisation potentielle comme alternative aux pesticides, fongicides et bactéricides (49).

En plus de toutes les connaissances ancestrales, une meilleure compréhension de la médecine populaire et une meilleure connaissance du contenu bioactif seront précieuses pour le développement de nouveaux produits pharmaceutiques et cosmétiques naturels basés sur des pratiques séculaires.

En plus de leur notoriété empirique nutritionnelle et thérapeutique, elles sont largement distribuées géographiquement et pourraient être une alternative à ces truffes coûteuses.

Domaine pharmaceutique (notamment pour Pathologies à composante inflammatoire), industrie cosmétique, compléments alimentaires, agriculture, conservateurs et additifs naturels pour l'industrie alimentaire, etc... de nombreuses applications socio-économiques prometteuses de la truffe du désert qui méritent d'être approfondies ...

## References

1. Patel S, Rauf A, Khan H, Khalid S, Mubarak MS. Potential health benefits of natural products derived from truffles: A review. *Trends Food Sci Technol*. 1 déc 2017;70:1-8.
2. Truffle price tracker - Find how much truffles cost! - Updated daily [Internet]. [cité 16 oct 2020]. Disponible sur: [https://truffle.farm/truffle\\_prices.html](https://truffle.farm/truffle_prices.html)
3. El Enshasy H, Elsayed EA, Aziz R, Wadaan MA. Mushrooms and Truffles: Historical Biofactories for Complementary Medicine in Africa and in the Middle East. *Evid-Based Complement Altern Med ECAM* [Internet]. 2013 [cité 16 oct 2020];2013. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3854548/>
4. Benzeggouta N. Mini Review : Why Desert Truffles “Terfès” Exist in Sahara? *J Mater Sci Eng A*. 1 nov 2014;4:380-3.
5. Alsheikh AM. Taxonomy of desert truffles : the genera *Phaeangium* and *Tirmania*. Oregon State University;
6. Rougieux R. [Antibiotic and stimulating actions of the desert truffle (*terfezia boudieri* chatin)]. *Ann Inst Pasteur*. août 1963;105:315-8.
7. Scopus - Analyze search results [Internet]. [cité 16 oct 2020]. Disponible sur: <https://www-scopus-com.docelec.u-bordeaux.fr/term/analyzer.uri?sid=4f691d388f46cb9459761f34960701a3&origin=resultslist&src=s&s=TITLE-ABS-KEY%2528desert+truffle%2529&sort=plf-f&sdt=b&sot=b&sl=29&count=124&analyzeResults=Analyze+results&txGid=a87b26179b2c0953965d348b2733725c>
8. Bradai L, Neffar S, Amrani K, Bissati S, Chenchouni H. Ethnomycological survey of traditional usage and indigenous knowledge on desert truffles among the native Sahara Desert people of Algeria. *J Ethnopharmacol*. 13 mars 2015;162:31-8.
9. Mridha A. Status and Need of Research on Desert Truffles in Saudi Arabia. [cité 16 oct 2020]; Disponible sur: [https://www.academia.edu/12236113/Status\\_and\\_Need\\_of\\_Research\\_on\\_Desert\\_Truffles\\_in\\_Saudi\\_Arabia](https://www.academia.edu/12236113/Status_and_Need_of_Research_on_Desert_Truffles_in_Saudi_Arabia)
10. Morte A, Gutiérrez A, Ródenas AN. Advances in Desert Truffle Mycorrhization and Cultivation. In: Pérez-Moreno J, Guerin-Laguette A, Flores Arzú R, Yu F-Q, éditeurs. *Mushrooms, Humans and Nature in a Changing World: Perspectives from Ecological, Agricultural and Social Sciences* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2020 [cité 17 oct 2020]. p. 205-19. Disponible sur: [https://doi.org/10.1007/978-3-030-37378-8\\_7](https://doi.org/10.1007/978-3-030-37378-8_7)
11. Mandeel QA, Al-Laith AAA. Ethnomycological aspects of the desert truffle among native Bahraini and non-Bahraini peoples of the Kingdom of Bahrain. *J Ethnopharmacol*. 1 mars 2007;110(1):118-29.
12. Owaid M. Bioecology and uses of desert truffles (Pezizales) in Middle Eastern. *Walailak J Sci Technol*. 1 mars 2018;15:179-88.
13. Varma A, Prasad R, Tuteja N. *Mycorrhiza - Eco-Physiology, Secondary Metabolites, Nanomaterials*. Mycorrhiza - Eco-Physiology, Secondary Metabolites, Nanomaterials: Fourth Edition. 2017.
14. Climate data for cities worldwide - Climate-Data.org [Internet]. [cité 17 oct 2020]. Disponible sur: <https://en.climate-data.org/>
15. Bouzadi M, Grebenc T, Turunen O, Kraigher H, Taib H, Alafai A, et al. Characterization of natural habitats and diversity of Libyan desert truffles. *3 Biotech*. 1 oct 2017;7(5):1-10.

16. Bradai L, Bissati S, Chenchouni H. Desert Truffles of the North Algerian Sahara: Diversity and Bioecology. *Emir J Food Agric* [Internet]. 1 janv 2014 [cité 17 oct 2020]; Disponible sur: <https://scinapse.io/papers/2127467371>
17. Trappe J, Claridge A, Arora D, Smit A. Desert Truffles of the African Kalahari: Ecology, Ethnomycology, and Taxonomy. *Econ Bot*. 1 nov 2008;62:521-9.
18. Kamle M, Bar E, Lewinsohn D, Shavit E, Roth-Bejerano N, Kagan-Zur V, et al. Characterization of Morphology, Volatile Profiles, and Molecular Markers in Edible Desert Truffles from the Negev Desert. *J Agric Food Chem*. 12 avr 2017;65(14):2977-83.
19. French KE. Engineering Mycorrhizal Symbioses to Alter Plant Metabolism and Improve Crop Health. *Front Microbiol* [Internet]. 21 juill 2017 [cité 19 oct 2020];8. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5519612/>
20. Turgeman T, Asher J, Roth-Bejerano N, Kagan-Zur V, Kapulnik Y, Sitrit Y. Mycorrhizal association between the desert truffle *Terfezia boudieri* and *Helianthemum sessiliflorum* alters plant physiology and fitness to arid conditions. *Mycorrhiza*. 1 mars 2011;21:623-30.
21. Sitrit Y, Roth-Bejerano N, Kagan-Zur V, Turgeman T. Pre-symbiotic Interactions Between the Desert Truffle *Terfezia boudieri* and Its Host Plant *Helianthemum sessiliflorum*. In 2014. p. 81-92.
22. Sitrit Y, Roth-Bejerano N, Kagan-Zur V, Turgeman T. Pre-symbiotic Interactions Between the Desert Truffle *Terfezia boudieri* and Its Host Plant *Helianthemum sessiliflorum*. In: Kagan-Zur V, Roth-Bejerano N, Sitrit Y, Morte A, éditeurs. *Desert Truffles: Phylogeny, Physiology, Distribution and Domestication* [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer; 2014 [cité 19 oct 2020]. p. 81-92. (Soil Biology). Disponible sur: [https://doi.org/10.1007/978-3-642-40096-4\\_6](https://doi.org/10.1007/978-3-642-40096-4_6)
23. Truffle hunting: Seeking Saudi Arabia's 'Diamonds in the dirt' [Internet]. *Arab News*. 2019 [cité 17 oct 2020]. Disponible sur: <https://www.arabnews.com/node/1440286/saudi-arabia>
24. Tsai S-Y, Huang S-J, Lo S-H, Wu T-P, Lian P-Y, Mau J-L. Flavour components and antioxidant properties of several cultivated mushrooms. *Food Chem*. 15 mars 2009;113(2):578-84.
25. Dahham SS, Al-Rawi SS, Ibrahim AH, Abdul Majid AS, Abdul Majid AMS. Antioxidant, anticancer, apoptosis properties and chemical composition of black truffle *Terfezia clavaryi*. *Saudi J Biol Sci*. déc 2018;25(8):1524-34.
26. Luo Q, Zhang J, Yan L, Tang Y, Ding X, Yang Z, et al. Composition and Antioxidant Activity of Water-Soluble Polysaccharides from Tuber *indicum*. *J Med Food*. déc 2011;14(12):1609-16.
27. Comparison of Lipid Content and Fatty Acid Composition between Tuber Fermentation Mycelia and Natural Fruiting Bodies | *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [Internet]. [cité 16 oct 2020]. Disponible sur: <https://pubs-acsc-org.docelec.u-bordeaux.fr/doi/10.1021/jf200141s>
28. Doğan HH, Aydın S. Determination of Antimicrobial Effect, Antioxidant Activity and Phenolic Contents of Desert Truffle in Turkey. *Afr J Tradit Complement Altern Med*. 16 mai 2013;10(4):52-8.
29. Laith A. Antioxidant components and antioxidant/antiradical activities of desert truffle (*Tirmania nivea*) from various Middle Eastern origins. *J Food Compos Anal*. 1 févr 2010;23:15-22.
30. Elsayed EA, El Enshasy H, Wadaan MAM, Aziz R. Mushrooms: A Potential Natural Source of Anti-Inflammatory Compounds for Medical Applications. *Mediators Inflamm*

[Internet]. 2014 [cité 16 oct 2020];2014. Disponible sur:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4258329/>

31. Schillaci D, Cusimano MG, Cascioferro SM, Di Stefano V, Arizza V, Chiamonte M, et al. Antibacterial Activity of Desert Truffles from Saudi Arabia Against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Med Mushrooms*. 2017;19(2):121-5.

32. Stojković D, Reis FS, Ferreira ICFR, Barros L, Glamočlija J, Ćirić A, et al. *Tirmania pinoyi*: Chemical composition, in vitro antioxidant and antibacterial activities and in situ control of *Staphylococcus aureus* in chicken soup. *Food Res Int*. 1 août 2013;53(1):56-62.

33. Natural Products for the Treatment of Trachoma and *Chlamydia trachomatis* [Internet]. [cité 16 oct 2020]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6272789/>

34. Brown MA, Potroz MG, Teh S-W, Cho N-J. Natural Products for the Treatment of Chlamydiae Infections. *Microorganisms* [Internet]. 16 oct 2016 [cité 16 oct 2020];4(4). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5192522/>

35. Janakat S, Al-Fakhiri S, Sallal A-K. A promising peptide antibiotic from *Terfezia claveryi* aqueous extract against *Staphylococcus aureus* in vitro. *Phytother Res PTR*. oct 2004;18(10):810-3.

36. Mando, H.M.H. Effect of roots' mycorrhization of two rockrose plant species: *Helianthemum almeriense* (L.) Mill. and *Helianthemum violaceum* (L.) Mill., with the mycorrhiza fungus *Terfezia claveryi*, to protect them against some fungal pathogen [Internet]. 2018 [cité 16 oct 2020]. Disponible sur: <https://www-scopus-com.docelec.u-bordeaux.fr/record/display.uri?eid=2-s2.0-85052573357&origin=resultslist&sort=plf-f&src=s&sid=549a101beb8c9a9f99bc45dc507d0778&ot=b&sd=cl&cluster=scopubyr%2c%222018%22%2ct&sl=29&s=TITLE-ABS-KEY%28desert+truffle%29&relpos=5&citeCnt=3&searchTerm=>

37. Bawadekji A. Evaluation of some in vitro Anti-Carcinogenic Activities of Polysaccharides Extracted from Ascomata of the Desert Truffle *Terfezia claveryi* Chatin. 1 févr 2018;

38. Isolation and characterization of polysaccharides with the antitumor activity from Tuber fruiting bodies and fermentation system | SpringerLink [Internet]. [cité 16 oct 2020]. Disponible sur: <https://link-springer-com.docelec.u-bordeaux.fr/article/10.1007/s00253-013-5379-7>

39. El Enshasy H, Elsayed EA, Aziz R, Wadaan MA. Mushrooms and Truffles: Historical Biofactories for Complementary Medicine in Africa and in the Middle East. *Evid-Based Complement Altern Med ECAM* [Internet]. 2013 [cité 16 oct 2020];2013. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3854548/>

40. Schmidberger PC, Schieberle P. Characterization of the Key Aroma Compounds in White Alba Truffle (*Tuber magnatum pico*) and Burgundy Truffle (*Tuber uncinatum*) by Means of the Sensomics Approach. *J Agric Food Chem*. 25 oct 2017;65(42):9287-96.

41. Beara IN, Lesjak MM, Četojević-Simin DD, Marjanović ŽS, Ristić JD, Mrkonjić ZO, et al. Phenolic profile, antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic activities of black (*Tuber aestivum* Vittad.) and white (*Tuber magnatum Pico*) truffles. *Food Chem*. 15 déc 2014;165:460-6.

42. Wang S, Marcone MF. The biochemistry and biological properties of the world's most expensive underground edible mushroom: Truffles. *Food Res Int*. 1 nov 2011;44(9):2567-81.

43. Bokhary HA, Parvez S. Chemical Composition of Desert Truffles *Terfezia claveryi*. *J Food Compos Anal*. 1 sept 1993;6(3):285-93.

44. Omer EA, Smith DL, Wood KV, El-Menshawi BS. The volatiles of desert

- truffle: *Tirmania nivea*. *Plant Foods Hum Nutr.* 1 avr 1994;45(3):247-9.
45. Villares A, García-Lafuente A, Guillamón E, Ramos Á. Identification and quantification of ergosterol and phenolic compounds occurring in Tuber spp. truffles. *J Food Compos Anal.* 1 mai 2012;26(1):177-82.
  46. Akyüz M. Nutritive value, flavonoid content and radical scavenging activity of the truffe (*Terfezia boudieri* Chatin). *J Soil Sci Plant Nutr.* 1 mars 2013;13:0-0.
  47. Al-Rawi AA, Taha AM. Chemical study for three Iraqi truffles types. *ANBAR J Agric Sci [Internet].* 2010 [cité 16 oct 2020];8(1). Disponible sur: <https://www.iasj.net/iasj/article/28786>
  48. Bokhary HA, Suleiman A a. A, Basalah MO. The Fatty Acid Components of the Desert Truffle « Al Kamah » of Saudi Arabia. *J Food Prot.* sept 1989;52(9):668-9.
  49. Kanchiswamy CN, Malnoy M, Maffei ME. Chemical diversity of microbial volatiles and their potential for plant growth and productivity. *Front Plant Sci [Internet].* 13 mars 2015 [cité 16 oct 2020];6. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4358370/>
  50. Morte A, Honrubia M, Gutiérrez A. Biotechnology and Cultivation of Desert Truffles. In: Varma A, éditeur. *Mycorrhiza: State of the Art, Genetics and Molecular Biology, Eco-Function, Biotechnology, Eco-Physiology, Structure and Systematics [Internet].* Berlin, Heidelberg: Springer; 2008 [cité 19 oct 2020]. p. 467-83. Disponible sur: [https://doi.org/10.1007/978-3-540-78826-3\\_23](https://doi.org/10.1007/978-3-540-78826-3_23)
  51. FoodData Central [Internet]. [cité 1 déc 2020]. Disponible sur: <https://fdc.nal.usda.gov/>
  52. Murcia M, Martínez-Tomé M, Vera A, Morte A, Gutierrez A, Honrubia M, et al. Effect of industrial processing on desert truffles *Terfezia clavaryi* Chatin and *Picoa juniperi* Vittadini): Proximate composition and fatty acids. *J Sci Food Agric.* 27 mars 2003;83:535-41.
  53. LC-MS-Based Metabolomic Approach Revealed the Significantly Different Metabolic Profiles of Five Commercial Truffle Species [Internet]. [cité 16 oct 2020]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6773953/>
  54. Mohammed RS, Ahmed RS, Abdaljalil RO. Uranium, thorium, potassium, and cesium radionuclides concentrations in desert truffles from the governorate of samawah in Southern Iraq. *J Food Prot.* 2018;81(9):1540-8.
  55. Les secrets de la reproduction de la Truffe du Périgord bientôt percés à jour ? [Internet]. Planet-Vie. [cité 18 janv 2021]. Disponible sur: <https://planet-vie.ens.fr/thematiques/champignons/les-secrets-de-la-reproduction-de-la-truffe-du-perigord-bientot-perces-a>
  56. Slama A, Fortas Z, Boudabous A, Neffati M. Cultivation of an edible desert truffle (*Terfezia boudieri* Chatin). *Afr J Microbiol Res.* 18 nov 2010;Vol. 4(22):2350-2356,.
  57. Tang Y, Li H-M, Tang Y-J. Comparison of sterol composition between Tuber fermentation mycelia and natural fruiting bodies. *Food Chem.* 1 juin 2012;132(3):1207-13.
  58. La maîtrise de la culture de la truffe g. Chevalier - h. Frochot [Internet]. [cité 18 janv 2021]. Disponible sur: [http://documents.irevues.inist.fr/bitstream/handle/2042/5669/201\\_213.pdf](http://documents.irevues.inist.fr/bitstream/handle/2042/5669/201_213.pdf)
  59. Solaiman Z, Abbott L, A V. *Mycorrhizal Fungi: Use in Sustainable Agriculture and Land Restoration.* 2014.
  60. Mello A, Murat C, Bonfante P. Truffles: much more than a prized and local fungal delicacy. *FEMS Microbiol Lett.* juill 2006;260(1):1-8.
  61. Partial Purification, Characterization, and Histochemical Localization of Fully Latent Desert Truffle (*Terfezia Clavaryi* Chatin) Polyphenol Oxidase | *Journal of Agricultural and Food Chemistry [Internet].* [cité 16 oct 2020]. Disponible sur: <https://pubs-acscs-org.doccelec.u->



bordeaux.fr/doi/10.1021/jf001009n

62. Chavan JJ, Gaikwad NB, Kshirsagar PR, Dixit GB. Total phenolics, flavonoids and antioxidant properties of three *Ceropegia* species from Western Ghats of India. *South Afr J Bot.* 1 sept 2013;88:273-7.

63. Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts (2 vol.) [Internet]. oiv.int. [cité 31 janv 2021]. Disponible sur: <http://www.oiv.int/fr/normes-et-documents-techniques/methodes-danalyse/recueil-des-methodes-internationales-danalyse-des-vins-et-des-mouts-2-vol>

## Annexes

### 1. Annexe 1 : Protocoles analyses ANPMA

#### **Teneur phénolique totale (CPT)**

Le contenu phénolique totale (CPT) a été déterminée par spectrophotométrie, selon la méthode colorimétrique en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu [1] avec modification.

Un volume de 50 µL de l'échantillon a été mélangé avec 450 µL d'une solution du réactif Folin-Ciocalteu diluée 10 fois. Après 5 minutes d'incubation à température ambiante, 450 µL d'une solution de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (75 g L<sup>-1</sup>) ont été ajoutés. Tous les échantillons ont été par la suite incubés dans l'obscurité pendant 2 h à la température ambiante et leur absorbance a été lue à 760 nm dans un spectrophotomètre. La concentration de la courbe d'étalonnage ( $y = 2,8388x + 0,0556$   $R^2 = 0,9994$ ) allait de 0,062 à 1 mg mL<sup>-1</sup> dans une solution éthanolique d'acide gallique. L'expérience a été réalisée en triplicata et les résultats sont exprimés en mg d'équivalent acide gallique (GAE) g<sup>-1</sup> de plante sèche.

#### **Capacité antioxydante totale (TAC)**

L'activité antioxydante totale des échantillons a été évaluée par la formation du complexe de phosphomolybdène [2]. Un volume de 50 µl de la solution d'échantillon a été combiné à 1 ml de solution de réactif (acide sulfurique 0,6 M, phosphate de sodium 28 mM et molybdate d'ammonium 4 mM). Après 90min d'incubation dans un bain-marie à 95°C. L'absorbance du mélange a été mesurée à 695 nm, contre un blanc, dans un spectrophotomètre. La solution aqueuse d'acide ascorbique, qui a servi de courbe d'étalonnage ( $y = 1,7355x + 0,235$   $R^2 = 0,9999$ ) comprenait une plage de concentrations allant de 1,0 à 0,0625 mg mL<sup>-1</sup>. L'expérience a été réalisée en triple exemplaire et les résultats indiqués (activité antioxydante en équivalent acide ascorbique) sont des valeurs moyennes exprimées en mg d'équivalents acide ascorbique par g de plante sèche.

#### **Activité de piégeage d'un radical libre : DPPH**

Le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) a été réalisé comme décrit par [3]. 25µl de différentes concentrations d'échantillons ou d'étalons ont été ajoutés à une solution éthanolique à 60 µM de DPPH (1 mL). Les mesures d'absorbance ont été lues à 517 nm, après 60 min de temps d'incubation à température ambiante (A1). L'absorption d'un échantillon vierge contenant la même quantité de méthanol et de solution de DPPH a servi de contrôle négatif (A0). L'expérience a été réalisée en triple exemplaire et le pourcentage d'inhibition de l'activité piégeant les radicaux libres de chaque extrait a été calculé comme suit :

$$\% \text{ inhibition} = [(A0 - A1 / A0) \times 100]$$

#### **Réduction du fer FRAP (Ferric Reducing-Antioxidant power)**

Le pouvoir réducteur a été réalisé selon le protocole décrit par [4] Chaque échantillon ou standard a été mélangé avec du tampon phosphate (2,5 ml, 0,2 M, pH 6,6) et du ferricyanure de potassium [K<sub>3</sub>Fe (CN) <sub>6</sub>] (2,5 ml, 1%). Le mélange a été incubé à 50 °C pendant 20 minutes. Une portion (2,5 ml) d'acide trichloracétique (10%) a été ajoutée au mélange, avec de l'eau distillée (2,5 ml) et du FeCl<sub>3</sub> (0,5 ml, 0,1%) et l'absorbance a été mesurée à 700 nm dans un spectrophotomètre.

#### **Analyse statistique**

Des comparaisons statistiques ont été effectuées avec une ANOVA unidirectionnelle suivie d'un test de comparaison multiple de Tukey. Le niveau de signification a été fixé à  $p < 0,05$ . Le calcul statistique a été effectué à l'aide de la version gratuite du logiciel STATISTICA version 10 (STATSOFT, INC., 2011).

#### Références des protocoles

- [1] T. Ma, Q. Wang, and H. Wu, "Optimization of extraction conditions for improving solubility of peanut protein concentrates by response surface methodology," *LWT - Food Sci. Technol.*, vol. 43, no. 9, pp. 1450–1455, Nov. 2010.
- [2] L. M. Libbey and J. P. Walradt, "3,5-di-Tert-butyl-4-hydroxytoluene (BHT) as an artifact from diethyl ether," *Lipids*, vol. 3, no. 6, pp. 561–561, Nov. 1968.
- [3] M. C. DiCiaulaa, G. C. Lopesa, I. S. Scarminiob, and J. C. P. de Melloa, "Optimization of solvent mixtures for extraction from bark of schinus terebinthifolius by a statistical mixture-design technique and development of a uv-vis spectrophotometric method for analysis of total polyphenols in the extract," *Quim. Nov.*, vol. 37, no. 1, pp. 158–163, 2014.
- [4] J. J. Chavan, N. B. Gaikwad, P. R. Kshirsagar, and G. B. Dixit, "Total phenolics, flavonoids and antioxidant properties of three Ceropegia species from Western Ghats of India," *South African J. Bot.*, vol. 88, pp. 273–277, Sep. 2013.

## 2. Annexe 2 : Traitements statistiques

### Optimisation du mélange de solvants

#### *Test CAT*

**Tableau 27 : Méthodes de surface de réponse CAT Tableau des paramètres statistiques**

Source	Overall Fit of Model; Var.: <b>TAC</b> (Spreadsheet1)3 Factor mixture design;				
	SS	df	MS	F	p
Model	2099,477	5	419,8953	310,9047	0,000000
Total Error	20,258	15	1,3506		
Lack of Fit	1,250	1	1,2501	0,9207	0,353573
Pure Error	19,008	14	1,3577		
Total Adjusted	2119,735	20	105,9868		

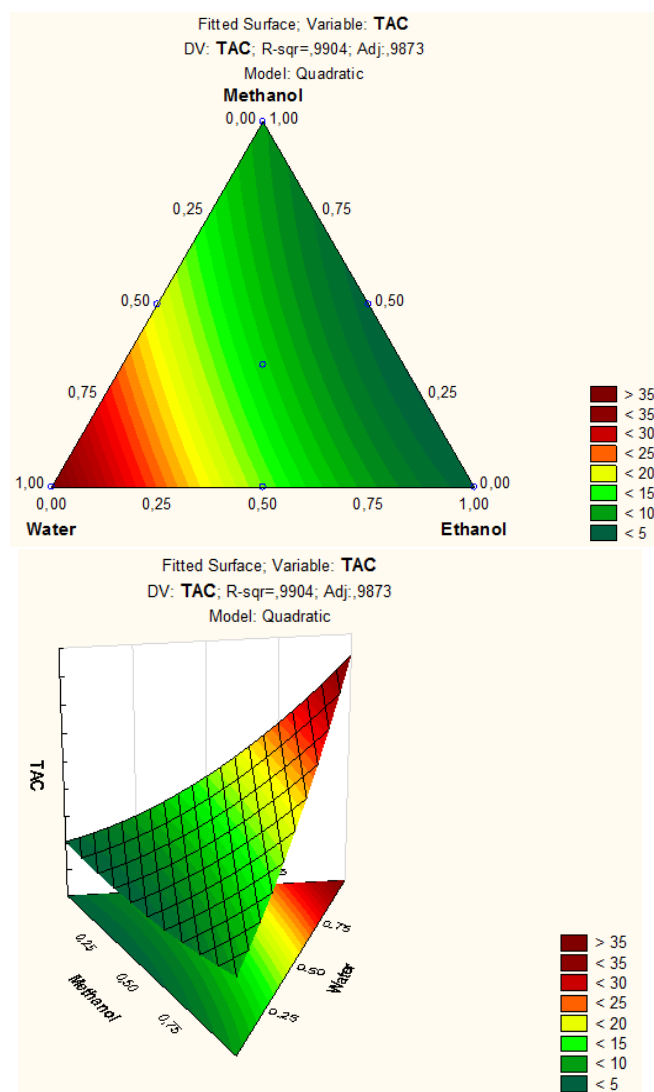


Figure 44 : Surface de réponse CAT de l'optimisation des mélanges de solvants

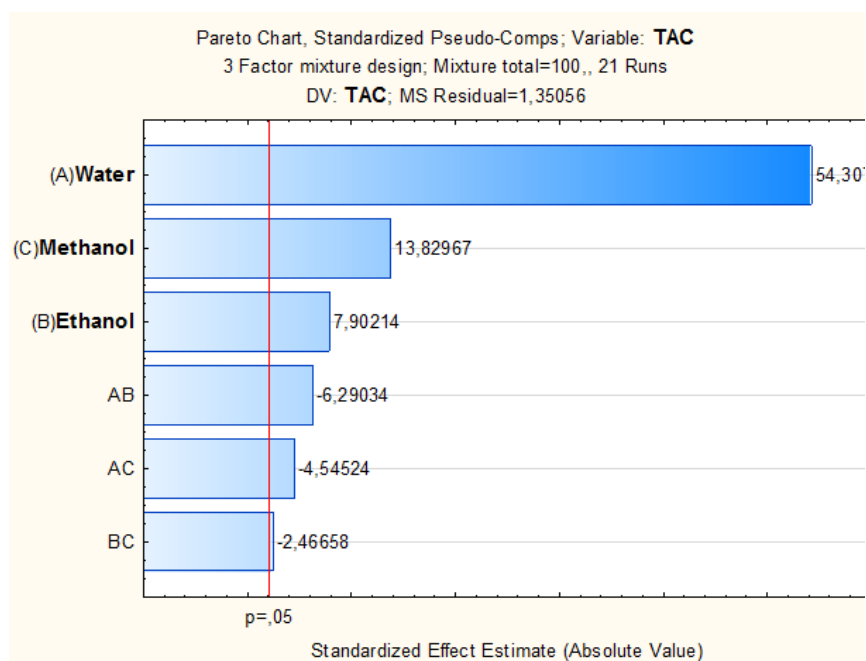


Figure 45 : Tableau de Pareto d'optimisation du mélange de solvants CAT

L'équation du modèle corrélant les trois variables et la réponse analytique est :

$$CAT = + 36,2996872641 * x + 5,281893669794 * y + 9,2439340019411 * z - 19,327078615335 * x * y - 13,965275531112 * x * z - 7,5785614148604 * y * z + 0$$

### Test FRAP

Tableau 28 : Méthodes de surface de réponse FRAP Tableau des paramètres statistiques

Source	Overall Fit of Model; Var.: <b>FRAP</b> (Spreadsheet1)3 Factor mixture design				
	SS	df	MS	F	p
Model	5,053892	5	1,010778	71,34000	0,000000
Total Error	0,212527	15	0,014168		
Lack of Fit	0,032437	1	0,032437	2,52162	0,134617
Pure Error	0,180090	14	0,012864		
Total Adjusted	5,266419	20	0,263321		

L'erreur totale dépasse largement l'erreur pure.

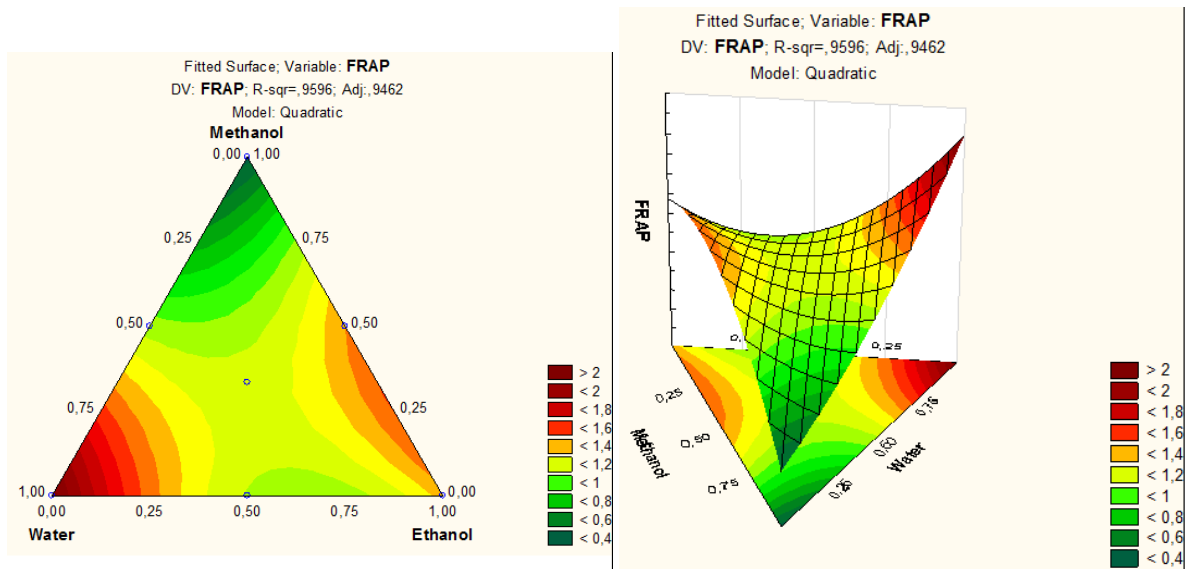


Figure 46 : Surface de réponse FRAP de l'optimisation des mélanges de solvants

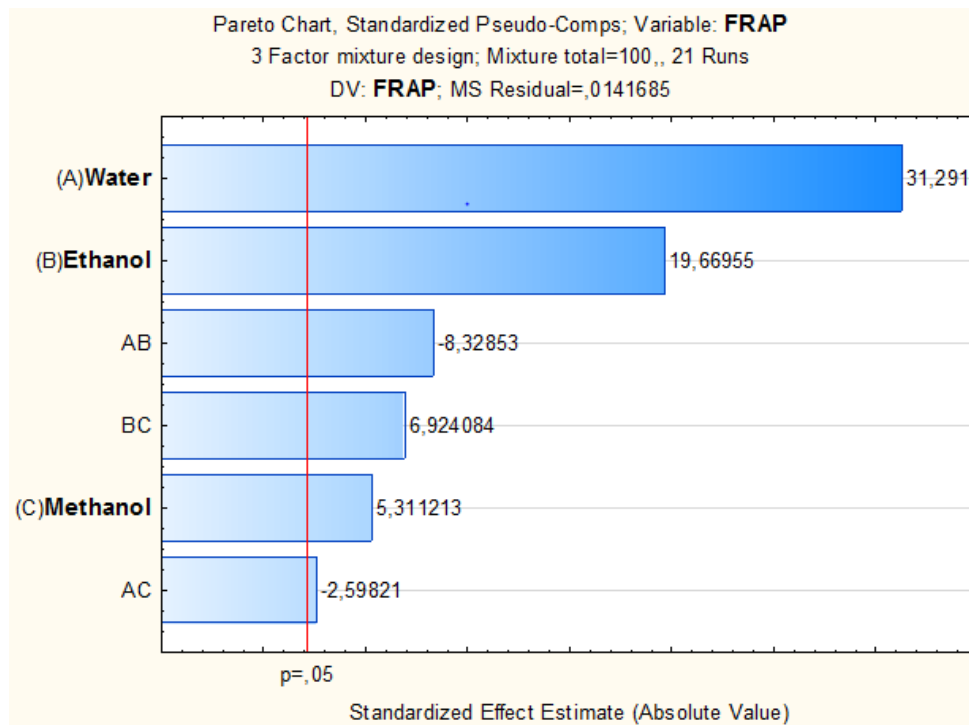


Figure 47 : Diagramme de Pareto de l'optimisation du mélange de solvants FRAP

L'équation du modèle corrélant les trois variables et la réponse analytique est :

$$FRAP = + 2,1422828282828 * x + 1,34661616161616 * y + 3,6361616161616 * z - 2,6209898989899 * x * y - 8,1765656565657 * x * z + 2,1790101010101 * y * z + 0$$

## Test DPPH

Source	Overall Fit of Model; Var.: <b>DPPH</b> (Spreadsheet1)3 Factor mixture design				
	SS	df	MS	F	p
Model	7127,005	5	1425,401	109,1864	0,000000
Total Error	195,821	15	13,055		
Lack of Fit	109,549	1	109,549	17,7771	0,000863
Pure Error	86,273	14	6,162		
Total Adjusted	7322,826	20	366,141		

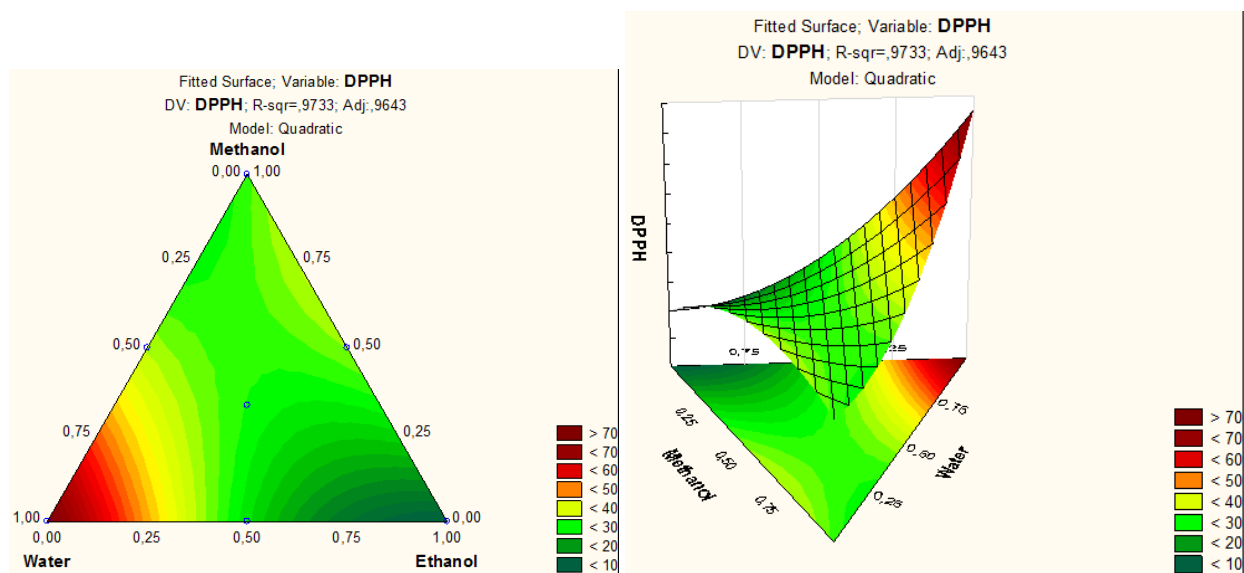


Figure 48 : Surface de réponse DPPH de l'optimisation des mélanges de solvants

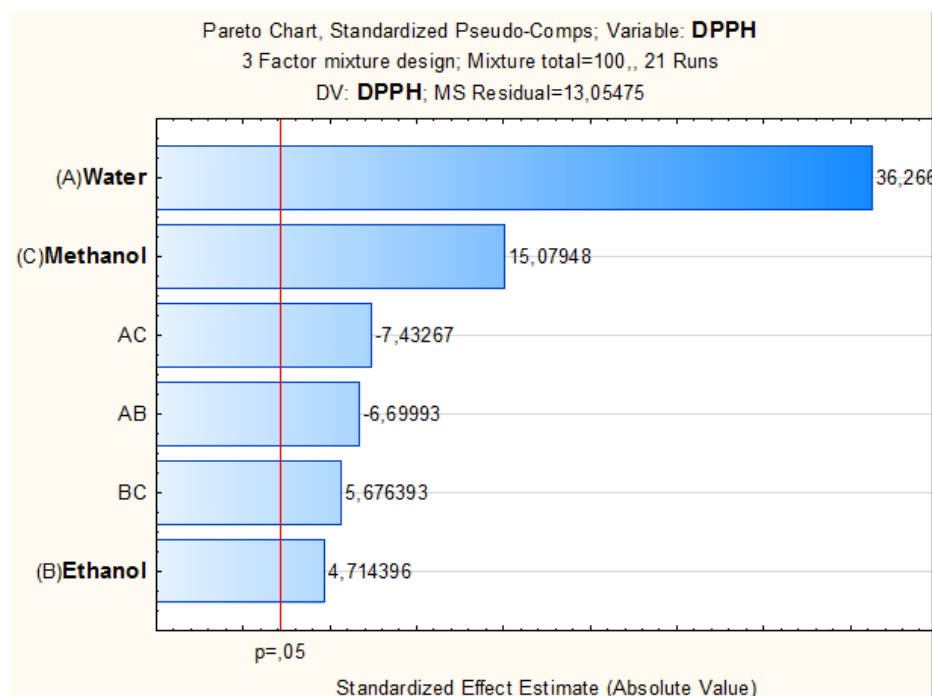


Figure 49 : Diagramme de Pareto de l'optimisation du mélange de solvants DPPH

L'équation du modèle corrélant les trois variables et la réponse analytique est :

$$DPPH = + 75,365795097345 * x + 9,797119410588 * y + 31,337094810342 * z - 64,001428802167 * x * y - 71,001018798067 * x * z + 54,224073452856 * y * z + 0$$

### Conditions d'extraction optimales

#### *Test de CPT*

Tableau 29 : Méthodes de surface de réponse CPT Tableau des paramètres statistiques

Factor	ANOVA; Var.: <b>TPC</b> ; R-sqr=,42904; Adj.,21493 (Spreadsheet2)**(2-0) de				
	SS	df	MS	F	p
(1) <b>Tempera</b>	16,82825	1	16,82825	5,579438	0,045809
(2) <b>Time</b>	0,38558	1	0,38558	0,127839	0,729933
1 by 2	0,91747	1	0,91747	0,304189	0,596333
Error	24,12896	8	3,01612		
Total SS	42,26026	11			



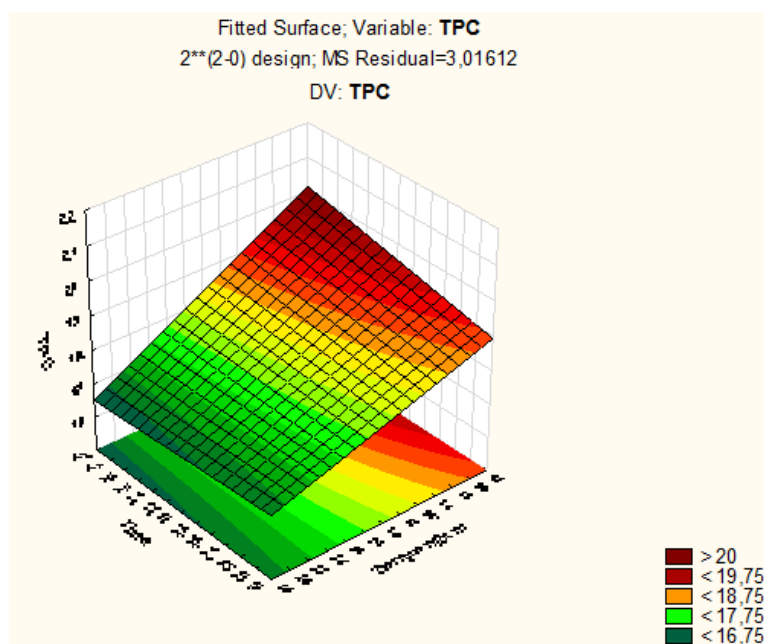


Figure 50 : Surface de réponse CPT de l'étude des Conditions d'extraction optimales

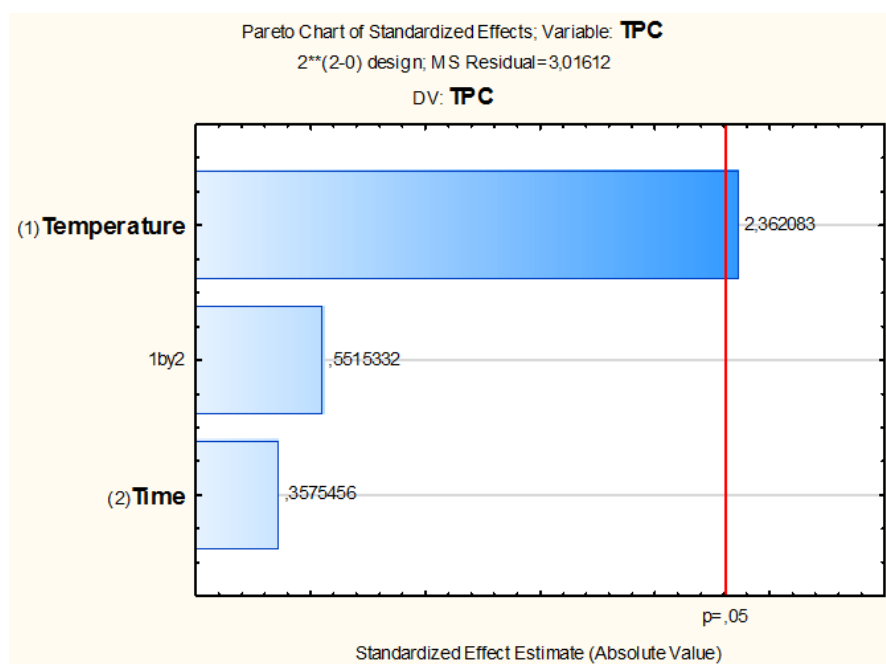


Figure 51 : Diagramme de Pareto de l'étude des Conditions d'extraction optimales TPC

## Test DPPH

Tableau 30 : Méthodes de surface de réponse DPPH Tableau des paramètres statistiques

Factor	ANOVA; Var.: <b>DPPH</b> ; R-sqr=,99606; Adj.,99459 (Spreadsheet2)2**(2-0)				
	SS	df	MS	F	p
(1) <b>Tempera</b>	3626,514	1	3626,514	1574,393	0,000000
(2) <b>Time</b>	91,911	1	91,911	39,901	0,000229
1 by 2	945,526	1	945,526	410,485	0,000000
Error	18,427	8	2,303		
Total SS	4682,378	11			

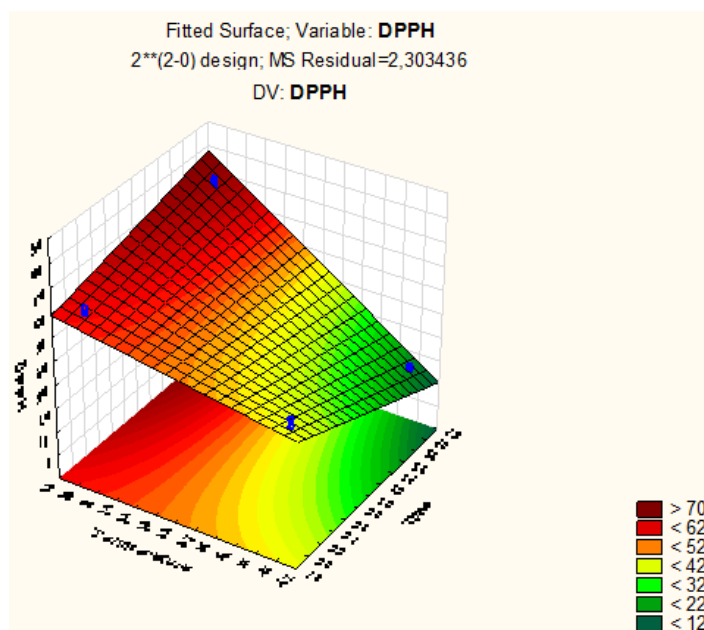


Figure 52 : Surface de réponse DPPH de l'étude des Conditions d'extraction optimales

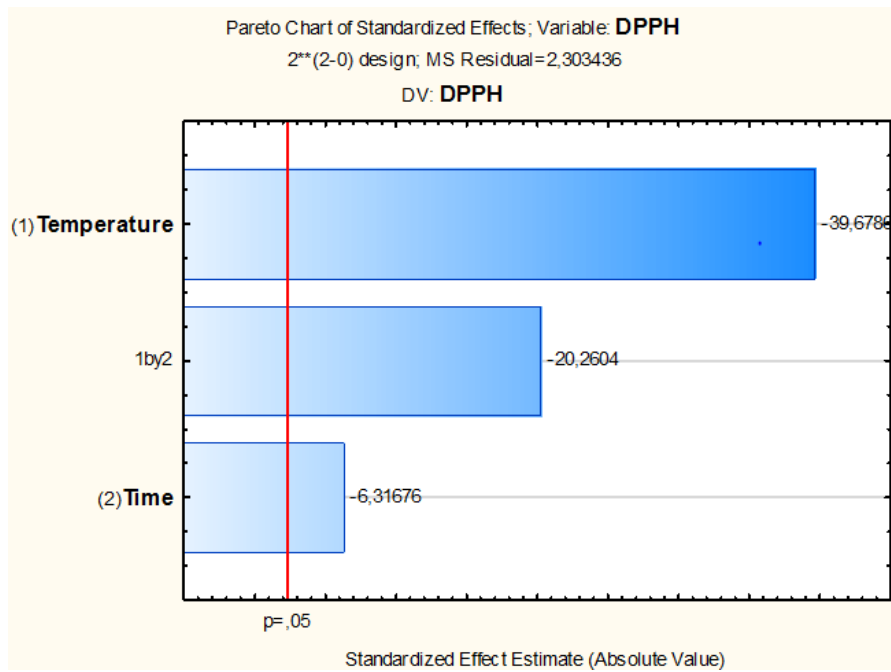


Figure 53 : Diagramme de Pareto de l'étude des Conditions d'extraction optimales DPPH

### 3. SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des Pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couverte d'opprobre et méprisée de mes confrères si j'y manque.