

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Biologiques



Mémoire

MASTER ACADEMIQUE

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Biologie

Spécialité: Biochimie appliquée

Présenté par :

M^{elle} ABED Djihad

M^{elle} BOURAS Sarah

**Contribution à l'étude de l'activité antidiabétique des extraits
polysaccharidiques de truffes du désert (*Tirmania nivea*, *Terfazia arenaria*)**

Soutenu publiquement

Le : 29/05/2017

Devant le jury :

Présidente	BAYOUCEF Z.	MCB	Univ. Ouargla
Encadreur	BRADAI L.	MCA	Univ. Ouargla
Co-Encadreur	BOUAL Z.	MCA	Univ. Ouargla
Examineur	KEDDAR M.N	MAA	Univ. Ouargla

Année Universitaire : 2016/2017

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous aide et nous donne la patience et le courage durant ces longues années d'étude, et qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.

Nous tenons d'abord à remercier très chaleureusement Monsieur BRADAI Lyès , Maître de conférences A à l'Université Kasdi Merbah-Ouargla, et Monsieur BOUAL Zakaria, Maître de conférences A à l'Université Kasdi Merbah-Ouargla, qui nous ont permis de bénéficier de leurs encadrement. Les conseils qu'ils nous ont prodigué, la patience, la confiance qu'ils nous ont témoignées ont été déterminants dans la réalisation de notre travail de recherche.

Madame BAYOUCEF Z. Maître de conférences B au Département des Sciences biologiques à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Kasdi Merbah-Ouargla, qui nous fait l'honneur de présider ce jury.

Nous présentons nos remerciements les plus sincères à Monsieur KADDAR M. NADIR, Maître assistant A au Département des Sciences Biologiques à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Kasdi Merbah-Ouargla, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous remercions le Laboratoire d'analyse médical « IBN ROCHD » Ghardaïa, et en particulier son Directeur, Dr. AMMI SAÏD Mustapha de nous avoir accueilli au sein du Laboratoire.

Enfin, nous adressons nos plus sincères remerciements à tous nos proches et amis, qui nous ont toujours encouragées au cours de la réalisation de ce mémoire.



Dédicace

Je dédie cet humble travail à Allah le Tout Puissant de m'avoir donné la santé, le courage et la force de mener ce travail à bout.

À mes parents qui m'ont donné la naissance et la croyance religieuse

À mon père BOAMAMA qui m'a élevé, éduqué et m'a donné les actes les plus nobles de la vie pour grandir dans un environnement sain.

À ma mère MERIEM qui ne cesse de m'orienter.

À mes sœurs AMAL et SAMIA et INAS.

À mes frères YACINE, BOUHAFES, ZIAD, LYÈS, ANAS, MOUAD.

À tous les membres de la grande famille ABED.

À ma binôme et amies de travail SARAH

*À tous mes professeurs particulièrement M. ZAKARIA BOUAL,
M. BRADAI LYÈS*

À mes chères amies FATIHA, NAIMA, KALTHOM, et ZAHIA.

À tous les collègues de près et de loin.

À tous ceux qui utilisent la science pour le bonheur et la prospérité de l'humanité.

Je dédie cet humble travail

Djihad



Dédicace

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu « le tout Puissant » de nous avoir accordé la force et le courage afin de réaliser ce modeste travail.

*À mes parents qui m'ont donné la naissance et la croyance religieuse
À ma mère SABAH qui ne cesse de m'orienter.
À mon père HAMZA BOURAS qui m'a élevé, éduqué et ma donnée les actes les plus nobles de la vie pour grandir dans un environnement sain.*

*À ma sœur BIYA et son mari MOUHAMD SALAH SALHI.
À mes frères SOUHEIB et sa femme MERYEM et le petit prince ISHAK, MOUHAMD TAHER, KHALIL, OUSSAMA, FARES.*

À tous les membres de la grande famille BOURAS.

*À ma binôme et amie de travail DJIHED.
À tous mes professeurs particulièrement ^{Mr} ZAKARIA BOUAL,
^{Mr} BRADAI LYES.*

*À mes chères amies, À tous les collègues de près et de loin.
À tous ceux qui utilisent la science pour le bonheur et la prospérité de l'humanité.*

Je dédie cet humble travail

Sarah



Table des matières

Introduction	1
Chapitre I. - Synthèse bibliographique	
I.1.-Position taxonomique.....	3
I.2.- Répartition géographique.....	3
I.3.- Facteurs influents la répartition et la production des Terfez.....	4
I.3.1.- Facteurs climatiques.....	5
I.3.2.- Plantes symbiotiques des Terfez.....	6
I.3.3.- Cycle biologique des Terfez.....	7
I.4.-La composition chimique des Terfez.....	8
I.5.-Valeur nutritionnel.....	10
I.6.-Les activités biologiques des truffes.....	11
I.6.1.-Activité antidiabétique.....	12
Chapitre II.- Matériels et méthodes	
II.1.- Principe d'étude.....	14
II.2.-Matériel d'étude.....	14
II.2.2.1- La récolte.....	17
II.2.2.2.- Techniques du séchage et de broyage.....	18
II.3.-Etude des polysaccharides.....	19
II.3.1.-Extraction des polysaccharides hydrosolubles.....	19
II.4.- Composition des extrais des polysaccharides hydrosolubles.....	22
II.4.1.- Dosage des protéines par la méthode de BRADFORD.....	22
II.4.1.1.-Principe.....	22
II.4.1.4.-Mode opératoire.....	23
II.4.2.- Dosages des oses totaux.....	24
II.4.2.1.- Principe.....	24
II.4.2.4.- Mode opératoire.....	25
II.4.3.-Dosages des oses neutres.....	25
II.4.3.1.- Principe.....	25
II.4.3.4.-Mode opératoire.....	26
II.4.4.- Dosages des oses acides.....	27
II.4.4.1.- Principe.....	27
II.4.4.4.-Mode opératoire.....	28
II.5.- Caractérisation structurale des polysaccharides.....	29
II.5.1.-Identification des résidus glycosidiques.....	29

II.5.1.1.-Hydrolyse acide des liaisons glycosidiques.....	29
II.5.1.2.-Principe.....	29
II.5.1.4.-Mode opératoire.....	30
II.6.-Chromatographie sur couche mince (CCM).....	30
II.7.- Teste de l'Activité antidiabétique	34
II.7.1.- Principe de l'enzyme l'alpha-glucosidase.....	34
II.7.1.3.-Mode opératoire.....	37

III.- Résultats et discussions

III.1.- Rendements d'extraction des polysaccharides.....	38
III.2.- Analyse biochimique de l'extrait polysaccharidiques de <i>Terfazia arenaria</i> et <i>Tirmania nivea</i>	39
III.3.-Caractérisation des oses constitutifs des extraits polysaccharidiques par CCM	41
III.3.1.- L'analyse de chromatogramme pour l'hydrolysate polysaccharidique de <i>Terfazia arenaria</i> et <i>Tirmania nivea</i>	42
III.4.- Activité antidiabétique de l'extrait polysaccharidique de <i>Tirmania nivea</i> et <i>Terfazia arenaria</i>	46
Conclusion	49
Références bibliographiques.....	50
Annexes	65

Liste des tableaux

<i>N°</i>	<i>Titre</i>	<i>Page</i>
01	Caractéristiques physicochimiques des produits chimiques utilisés au cours de l'expérimentation	15
02	Type des appareils utilisés au cours de l'expérimentation	16
03	Préparation de gamme étalon de sérum albumine bovine	23
04	Préparation des étalons du glucose (oses totaux)	25
05	Préparation des étalons du glucose (oses neutre)	26
06	Préparation des étalons de l'acide glucuronique	28
07	Dilutions de la solution mère de l'extrait polysaccharidique	35
08	Préparation des étalons de l'acarbose	36
09	Test de l'activité antidiabétique	36
10	Rendement polysaccharidique de <i>Tirmania nivea</i> et <i>Terfazia arenaria</i>	38
11	Compositions de polysaccharides hydrosolubles de <i>Tirmania nivea</i> et <i>Terfazia arenaria</i>	40
12	Résultats du chromatogramme de l'extrait polysaccharidique de <i>Terfazia arenaria</i> et <i>Tirmania nivea</i>	42

Liste des figures

<i>N°</i>	<i>Titre</i>	<i>Page</i>
01	Cycle biologique de <i>Terfez</i>	8
02	Carpophore de <i>Tirmania nivea</i>	17
03	Carpophore de <i>Terfazia arenaria</i>	18
04	Etapes de l'extraction des polysaccharides hydrosoluble de <i>Terfezia arenaria</i> et de <i>Tirmania nivea</i>	21
05	Chromatogramme des oses étalons et des échantillons de <i>Tirmania nivea</i> et <i>Terfazia arenaria</i> du système (1)	45
06	Chromatogramme des oses étalons et des échantillons de <i>Tirmania nivea</i> et <i>Terfazia arenaria</i> du système (2)	45
07	Chromatogramme des oses étalons et des échantillons de <i>Tirmania nivea</i> et <i>Terfazia arenaria</i> du système (3)	45
08	Chromatogramme des oses étalons et des échantillons de <i>Tirmania nivea</i> et <i>Terfazia arenaria</i> du système (4)	45
09	Cinétique enzymatique de l' α -glucosidase en présence de l'extrait	46

Liste des annexes

<i>N°</i>	<i>Titre</i>	<i>Page</i>
01	Courbe étalon des protéines selon la méthode de BRADFORD	65
02	Courbe etalon des oses totaux	65
03	Courbe etalon des oses neutres	66
04	Courbe étalon des oses acides	66
05	Position systématique de <i>Tirmania nivea</i>	67
06	Position systématique de <i>Terfazia arenaria</i>	67

Liste des abréviations

Abréviation	Signification
A.gal:	Acide galacturonique
A.glc:	Acide glucuronique
ADNr:	Acide désoxyribonucléique ribosomique
Ara:	Arabinose
BSA:	Albumine de sérum bovine
CCM:	Chromatographie sur couche mince
Cl:	Chlore
Cu⁺²:	Ions de cuivre
Fru:	Fructose
Gal:	Galactose
Glc:	Glucose
Ic₅₀:	Concentration inhibitrice médiane
K :	Potassium
Lac :	Lactose
Mal :	Maltose
Man :	Mannose
Mant :	Mannitol
m-HDP :	Méta-hydroxydiphényl
Na :	Sodium
OH :	Hydroxyle d'oxygène
P :	Phosphore
PBS :	Phosphate buffer saline (tampon phosphate saline)
PH :	Potentiel d'hydrogène
ppm :	Partie par mille
Rf :	Rapport frontale
Rham:	Rhamnose
rpm:	Rotation par minute
UV:	Ultraviolet
Xyl:	Xylose

Introduction

Aujourd'hui, les champignons ont attiré beaucoup d'attention comme étant comestibles et médicinales et source de développement dans de nombreux pays asiatiques, semblable à d'autres champignons, les truffes comprennent une nouvelle source thérapeutique. Elles sont très appréciée en raison de leur valeur nutritionnelle et leurs utilisations à des fins thérapeutiques (**AL-LAITH, 2010 ; WU et al., 2013 ; AHMED et TAHER, 2016**).

L'importance des champignons a été évaluée par les chercheurs au cours de ces dernières décennies (**WU et al., 2013**). Il a été prouvé qu'ils sont riches en composants bioactifs ce qui contribue à leur valeur nutritive pharmaceutique et industrielle (**CHEUNG et al., 2003 ; ZHANG et al., 2014**).

Les truffes sont des champignons hypogées (appelées localement AI-Kamah ou AI-Fag'a) (**BOKHARY et al., 1987**), le mot "AI-Kamah" signifie couvert ou caché, et "AI-Faga'a" le craquement du sol (**SHAVIT, 2008**), ils vivent en symbiose avec les racines des plantes hôtes afin d'accomplir leur cycle de vie (**LIU et al., 2008**).

L'utilisation de jus de truffes pendant des siècles, pour traiter les maladies de l'œil et des lésions de la peau ont poussées la recherche scientifique moderne à étudier leurs compositions et leurs propriétés bioactives (**SHAVIT et SHAVIT, 2014**).

Parmi les composés thérapeutiques des truffes du désert, ceux anti-inflammatoires, anticancéreux, antioxydants, antimicrobiens (**MURCIA et al., 2003 ; AL- LAITH, 2010 ; HAMZA et al., 2013 ; WANG et MARCONE, 2011 ; MURCIA et al., 2003**).

Récemment, une attention particulière et croissante est réservée aux polysaccharides provenant de sources naturelles. Ils sont utilisés comme complément alimentaire pour les aliments de santé et thérapeutique pour le diabète (**ZY et al., 2014 ; KAUR et al., 2015**). ces molécules biologiques peuvent sensibiliser le récepteur de l'insuline à l'insuline ou stimuler les cellules β des îlots de Langerhans pour libérer de l'insuline qui peut finalement conduire à une amélioration des enzymes métabolisant les glucides vers le rétablissement du taux de glucose dans le sang (**ROY et al., 2015**).

Les polysaccharides, tels que les bêta-glucanes contenus dans les champignons, ont la capacité de restaurer la fonction des tissus pancréatiques en provoquant une augmentation de la production d'insuline par les cellules β (KAUR *et al.*, 2015).

L'une des approches thérapeutiques consiste à diminuer l'hyperglycémie postprandiale en retardant l'absorption du glucose par l'inhibition des enzymes qui hydrolysent les carbohydrates dans l'intestin, à savoir de l'amylase et de l' α -glucosidase (WANG *et al.*, 2016). L' α -glucosidase est une cible importante pour découvrir de nouveaux agents pour le traitement du diabète type II (ABD EL-MOHSEN *et al.*, 2014).

L'intérêt des truffes dans le domaine des nutraceutiques, aucune étude portant sur la composition chimique et l'activité biologique des polysaccharides de la truffe de désert en Algérie. Dans cette optique, ce travail s'inscrit dans un programme de recherche destiné à valoriser les truffes de désert, avait pour objectif d'effectuer une évaluation de la composition chimique et vis à caractériser les polysaccharides de la truffe blanche de désert (*Tirmania nivea*) et de tester leurs activité antidiabétique.

Poussé par les vertus des Terfez et ceux des polysaccharides, notre travail s'inscrit dans ce contexte qui porte sur l'étude de l'activité antidiabétique des polysaccharides de la truffe du désert. Notre travail est ficelé par deux grands axes :

Un premier consiste à déterminer la composition globale (oses totaux, oses neutres, oses acides, protéines) et caractériser les résidus glycosidiques par chromatographie sur couches mince.

Le second s'articule une activité biologique des Terfez, celle antidiabétique de l'extrait polysaccharidique des ascocarpes de la truffe du désert.

Chapitre I:
Synthèse bibliographique

I.1.-Position taxonomique

Les ascomycètes hypogées représentent l'un des groupes systématiques les plus intéressants et les plus compliqués (**BARSEGHYAN et WASSER, 2010**). Selon la mycologie classique, la plupart des espèces ont été décrites en fonction de leurs caractéristiques morphologiques et d'autres caractéristiques organoleptiques (**LAESSOE et HANSEN, 2007**).

La taxonomie des Terfez est basée essentiellement sur les caractéristiques du péridium (aspect, couleur, forme des hyphes) et sur celles des spores (nombre, forme, ornementation), des caractères complémentaires (forme ou taille des corps fructifères, coloration de la gléba, disposition des veines, odeur...) (**BRADAI, 2014**).

Les genres *Terfezia* et *Tirmania* sont des ascomycètes hypogés les plus connus et appréciés appartiennent aux *Pezizaceae* plutôt qu'à la famille *Terfeziaceae* (**KAGAN-ZUR et ROTH-BEJERANO, 2008**), anciennement classés dans la famille des *Terfeziacées* et l'ordre des *Tubérales* puis transférés dans l'ordre des *Pézizales* et la famille des *Pezizaceae* (**JAMALI, 2014**).

Nombreuses études phylogénétiques des truffes ont également été sur ADN autre études phylogénétiques moléculaires ont été basées sur des séquences des gènes des l'ARNr présentent différents niveaux de conservation qui peuvent être exploitées pour analyser tout niveau phylogénétique souhaité. L'origine monophylétique de certains membres de *Terfezia* et *Tirmania* a été confirmée par **DIEZ et al., (2002)**, appartient à la famille *Pezizaceae* plutôt que les *Terfeziaceae* (**FERDMAN et al., 2005**).

I.2.-Répartition géographique

Les truffes de désert sont cultivées naturellement en grandes quantités en terres vierges (**DUNDAR et al., 2011**). Sont jusqu'ici connues non retrouvées n'importe où dans le monde (**KHANAQA, 2005**), elles colonisent les zones semi-arides et arides à climat subsaharien, approximativement entre le 28^{ème} et le 45^{ème} degré de latitude Nord.

I.2.1.-Dans le monde

Les Terfez se développent, en particulier dans les pays d'Europe du Sud comme l'Espagne, le Portugal, l'Italie, la France, la Hongrie et la Turquie (**BRADAI, 2014 ; BRADAI et al., 2015**). En le Moyen-Orient et l'Afrique du Nord (Maroc, Tunisie, Algérie et Égypte), et d'autres pays limitrophes comme la Libye, Syrie ainsi qu'en Iran, en Irak, le Koweït et la Turquie (**DUNDAR et al., 2011**), en plus aux pays de la péninsule arabique tels que la Jordanie, l'Irak, le Bahreïn, l'Arabie Saoudite et le Koweït (**EL ENSHASY et al., 2013**).

D'autres genres de truffes de désert se produisent en Afrique, Australie et au nord de L'Amérique (**KOACS et TRAPPE, 2014**).

Les truffes désertiques, notamment *Terfezia* et *Tirmania* sont bien distribués autour du globe. On les trouve dans les zones arides et semi-arides des bassins méditerranéens, l'Irak et le Koweït, le Sahara de l'Arabie saoudite et la Hongrie, la Yougoslavie, la Chine, le Kalahari en Australie et en Amérique du Nord (**KAGAN-ZUR et ROTH-BEJERANO, 2008**).

I.2.2.-En Algérie

En Algérie, la recherche sur des truffes de désert est clairsemée, particulièrement dans le désert du Sahara. Bien qu'existant les rapports ont décrit quelques espèces des genres *Terfezia* et *Tirmania*. Ces espèces sont retrouvées dans les régions de Béchar (Kenadssa, Taghit, Tabelbala, Abadla, Beni Abbes), Tindouf, Timimoune, Ouargla (Oued Mya), Touggourt, Tamanrasset (Montagnes du Hoggar), Ghardaïa, El Golea, Biskra, Batna, Djelfa, Saida, Boussaâda, Mécherai, Naama, Laghouat (**BRADAI et al. 2014**), ces régions les terfez sont récoltées en abondance pendant les années de bonne production, ils sont représentés par trois genres: *Terfezia*, *Tirmania* et *Picoa* (**FORTAS, 2009**).

I.3.-Facteurs influents la répartition et la production des Terfez

Le développement des truffes du désert dépend de plusieurs facteurs écologiques notamment les conditions climatiques et paramètres édaphiques, telle que la saison des

pluies avec sa quantité, les types et les caractéristiques de sol (AKYUZI *et al.*, 2012 ; BRADAI *et al.*, 2014).

I.3.1.-Facteurs climatiques

I.3.1.1.- Les précipitations

Les truffes du désert du Sahara septentrional algérien se développent sous un climat aride, elles exigent un certain niveau des pluies automnales et des hivers doux. Leur production est conditionnée par le cumul des précipitations durant le mois d'octobre au mois de février qui présente la période de croissance des Terfez (BRADAI *et al.*, 2014).

Les truffes sont principalement trouvées durant la période allant du mois février au mois d'avril, accroissant dans le printemps avec le début des pluies (PEGLER, 2002).

La précipitation est le facteur climatique limitant pour l'apparition et la productivité (BRADAI *et al.*, 2014).

La croissance des truffes de désert exige une gamme annuelle de précipitations entre 50 et 380 millimètres, en Afrique du Nord, de bons rendements de truffe sont habituellement obtenus si les précipitations s'étendent entre 70 à 120 millimètres, et de 100 à 350 millimètres dans les pays de l'Europe méridionale (AL QARAWI *et al.*, 2012 ; BRADAI *et al.*, 2014).

I.3.1.2.-La température

Les températures moyennes annuelles régions arides et semi arides sont élevées, avec un maxima pouvant atteindre et même dépasser (50°C), et des minima de janvier variant de (2 à 9°C) (LE HOUEROU, 1990).

Les températures basses de l'hiver diminuent la croissance des truffes du désert et par conséquent l'impact des facteurs climatiques est perceptible pour la période précédant leur apparition (BRADAI *et al.*, 2014). Selon (PATEL, 2012) la diversité des truffes est favorisée généralement par les climats chauds.

Les régions où les truffes du désert se développer ont une température moyenne de 17 à 24.1 C° (MURCIA et al., 2003)

Le sol est un facteur limitant qui permet le développement et la fructification des truffes du désert (SLAMA et al., 2006), en générale les truffes été trouvées dans des terrains plats ou dans les micro-vallées (BRADAI et al., 2014).

I.3.1.3.- Facteurs édaphique

Les sols où les truffes sont trouvées sont caractérisés par une bonne circulation des éléments minéraux, les truffes se développent sous une profondeur d'environ 10-25 cm (FORTAS, 1990 ; BRADAI et al., 2013).

Les Terfez préfèrent des terrains plats sablonneux, ou gypseux, ou graveleux-gypseux, relativement riches en calcaire et pauvres en matière organique et en phosphore (BONIFACIO et MORTE, 2014).

Le pH des sols truffiers est généralement alcalin (pH entre 7.5 et 8.3) et préfèrent un taux élevé du calcium : ces conditions sont très importantes pour la formation du mycorhize et du développement du mycélium (FORTAS, 1990; BRADAI, 2014).

Les truffes sont trouvées aussi dans les soles acides ou basidiques, les truffes préfèrent en générales les sols arides gypseux qui sont caractérisées par la conductivité électrique élevée (ALSHEIKH et TRAPPE, 1983 b ; BRADAI, 2014).

Les Terfez en Algérie colonisent des sols sablonneux, calcaires, riches en magnésium, et pauvres en matière organique et phosphore, pourvu en potassium (FORTAS, 1990).

I.3.2.-Plantes symbiotiques des Terfez

Les Terfez sont des champignons ascomycètes vivant en symbiose avec des plantes annuelles et pérennes (DIEZ et al., 2002 ; BRADAI et al., 2014). Les Terfez avec les plantes pérennes, peuvent développer des associations mycorhiziennes avec les pins: Pin d'Alep (*Pinus halepensis*) et le Pin des canaries (*Pinus canariensis*) (BESSAH, 1999). Aussi, les Terfez exige la présence des plantes d'hélianthème

(*Helianthemumlippii*) en forte densité et en pleine vigueur pour leur développement, et pour la maturité correspondons au stade inflorescence de la plante (BRADAI et al., 2014).

La plupart des espèces de *Terfezia* sont établissent une symbiose mycorhizienne avec des plantes de la famille des *Cistaceae*, principalement avec des plantes vivaces et des espèces annuelles d'*Helianthemum* (BORDALLO et al., 2015). En Algérie la symbiose mycorhizienne est avec des plantes *Helianthemum guttatum*, *Helianthemum almeriense* et *Helianthemum ovatum* (FORTAS, 1990; BRADAI et al., 2013)

Au Kuwait avec *Helianthemum ledifolium* et *Helianthemum salicifolium* (AWAMEH et ALSHEIKH, 1980a). Mais au Maroc, établissent une symbiose mycorhizienne avec les genres *Helianthemum*, *Cistus*, *Pinus* (KHABAR et al., 1994).

En France, les Terfez s'associent aussi à d'autres plantes annuelles: *Artemisia herba alba*, *Planta goalticans* (AWAMEH et al., 1980 a ; JANEX-FAVRE et al., 1988).

I.3.3.- Cycle biologique

Les stades du cycle biologique des Terfez ne sont que partiellement connus (FORTAS, 1990 ; BRADAI, 2006).

Le cycle biologique des Terfez se déroule intégralement dans le sol et dépend d'une plante-hôte avec laquelle ce champignon forme une association mycorhizienne. Le vent, la pluie et certains animaux sont des moyens physiques dispersent les ascospores (FORTAS, 1990) sur le long parcours vers d'autres sites et ce qui favorise la levée de dormance des spores avant leur germination (FORTAS et CHEVALIER, 1992).

La germination des spores donne la naissance d'un hyphe, ce dernier s'associant un hyphe d'une autre spore. Par la suite, le champignon infectera les racines d'Hélianthème pour former les mycorhizes. Les facteurs climatiques favorables stimulent la germination des spores (BRADAI, 2006).

Le mycélium est un réseau formé par les filaments, il permet aux champignons de se nourrir par l'association aux racines de l'arbre et la création d'un mycorhize aussi, le mycélium est un moyen pour la colonisation des nouveaux sites (BRADAI, 2006).

Les hyphes mycéliens divergent et se ramifient, l'ensemble évoluant globalement vers l'édification d'un organisme à front de croissance circulaire. Avec le temps, l'initiation fructifère débute par la formation de petits pelotons (primordium) au début de l'hiver, dans l'enchevêtrement des filaments (Figure 02) du mycélium secondaire, à proximité des racines. Chaque peloton évoluera en terfez. Quand le terfez n'est pas récolté à la fin du printemps, l'ascocarpe se décompose, les ascospores libèrent les spores, et le cycle recommence (BRADAI, 2006).

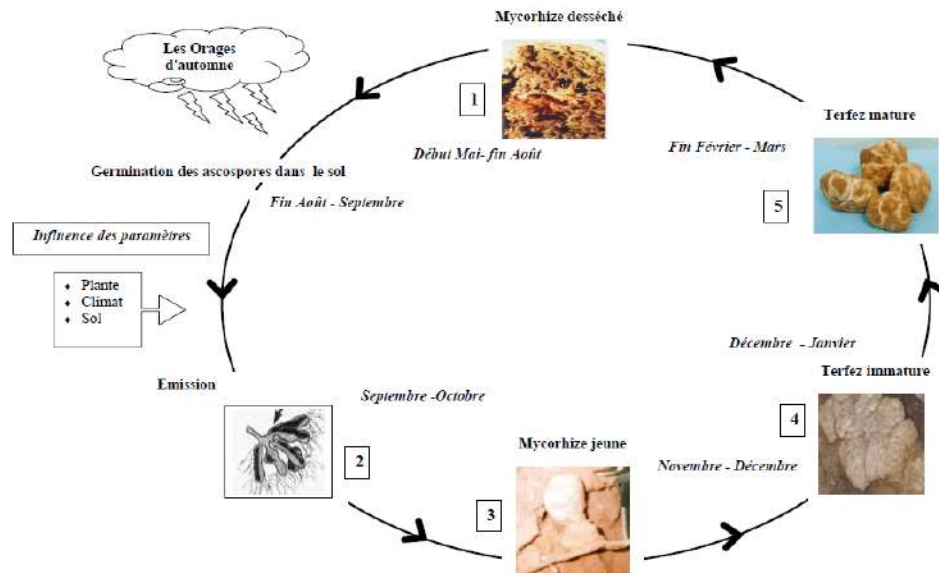


Figure 01: Cycle biologique de Terfez (source : BRADAI, 2006)

I.4.-Composition chimique des Terfez

Compte tenu de l'utilisation intensive de champignons dans l'alimentation humaine, il est de grande importance pour étudier leur profil chimique et bio-potentiel (BEARA et al., 2014), variaient d'une espèce à l'autre (HUSSAN et AL-RUQAIE,1999), et qui diffèrent selon leur région de récolte probablement due aux nombreux facteurs environnementaux tels que la quantité de pluie, le temps, les types de sols et les changements climatiques (ABDUL MAJID et al., 2016).

Un groupe des chercheurs indiquent que les truffes possèdent une teneur en protéines plus élevée que les autres champignons comestibles (**SINGER, 1961** In **WANG et MARCONE, 2011**), par l'analyse de la matière sèche a montré : environ 20-27% de protéines et 3-7,5% de matières grasses (acides gras insaturés et saturés) (**KAGAN-ZUR et ROTH-BEJERANO, 2008**), et 16-22 % de fibres (**MORTE et al., 2008**), sont riches en glucides 60% (**KAGAN-ZUR et ROTH-BEJERANO, 2008**), avec 70% d'eau (**SARITHA et al., 2016**), et renferment des quantités élevées d'acide ascorbique (2 –5%) (**BRADAI, 2014**).

Les truffes sont des sources alimentaires potentiellement importante (**TRAPPE et al., 2008**), riches de divers acides aminés par l'abondance de la cystéine, la méthionine et la lysine (**WANG et MARCONE, 2011**), et présents également de nombreux hydrates de carbone (glycérol, glucose, fructose, mannitol, inositol et tréhalose (**BOKHARY et PARVEZ, 1995**). L'acide galacturonique, l'arabinose (**HIFNAWY et al., 2001**), et des vitamines et un teneur important des composés phénoliques (**PATEL, 2012**).

Les principaux polysaccharides de ces champignons sont: le glucose, le mannitol et le tréhalose, leurs dérivés et oligosaccharides, contribuent généralement à environ 5-10% de la matière sèche (**EL ENSHASY et al., 2013**).

Les truffes désertique sont riches en acide linoléique, acide oléique et les acides palmitiques (**GADALLAH et ASHOUSH, 2016**), elle comprennent également des cendres (5-12% de Matière) (**EL ENSHASY et al., 2013**).

Les truffes du désert représentent une source nutritive non négligeable par leur richesse en éléments minéraux tels que : le potassium, magnésium, phosphore, sodium et calcium (**SAWAYA et al., 1985 ; BOKHARY et al., 1987 ; BOKHARY et PARVEZ, 1993**).

Parmi leurs rôles principale écologiques, est de fournir des éléments minéraux à leur plante symbiotique et par conséquence les Terfez deviennent une bonne source des minéraux (**AL-RAHMAH, 2001**).

Les Terfez contiennent des pourcentages appropriés de manganèse (Mn), Zinc (Zn), phosphore (p), cobalt (Co), le silicium (Si), Aluminium (Al), soufre(S), potassium

(K) et des quantités modérées de calcium (Ca), magnésium (Mg), fer (Fe), cuivre (Cu), et sodium (Na) (SAWAYA et al., 1985 ; HUSSAIN et AL- RUQAIE, 1999).

L'étude de BOKHARY et al., (1987) fait sortir que la composition chimique de trois autres espèces d'Arabie Saoudite (*Tirmania nivea*, *Tirmania pinoyi*, *Terfezia boudieri*) sont riches en éléments minéraux. Ces études se proportionner avec les études de (SAWAYA et al., 1985 ; BOKHARY et PARVEZ, 1993).

I.5.-Valeur nutritionnel

Les truffes du désert sont consommées depuis trois milles ans (KERMANI, 2013), ces champignons sont les plus chères du monde (WANG et MARCONE, 2011). Elle sont considérées comme l'une des formes les plus anciennes de la nourriture (ABDUL MAJID et al., 2016).

Les truffes du désert sont utilisées comme un substitut de viande et consommé en grandes quantités en raison (ABDUL MAJID et al., 2016), de leur valeur nutritive, de leur goût très délicieux et de leur arôme musqué (HAMZA et al., 2013).

Les truffes sont devenues non seulement un exhausteur d'arôme alimentaire mais également des ingrédients alimentaires exceptionnels (WANG et MARCONE, 2011).

Les truffes du sable sont pauvres en calories et en graisses (AHMED et al., 1981), de plus semblent être une bonne source des vitamines C, B et β -carotène (ACKERMAN et al., 1975), et D₃ et une quantité importante de vitamine E (HIFNAWY et al., 2001).

Ces champignons contiennent également une teneur élevée en fibres insolubles ce qui augmente sa valeur nutritionnelle (EL ENSHASY et al., 2013), et sont riche en flavonoïdes qui lui a fait montrer un haut activité de balayant les radicaux libres (GADALLAH et ASHOUSH, 2016).

Selon AHMED et al., (1981), les truffes sont des aliments sains aucun composé toxique n'a été détecté.

La qualité nutritionnelle des truffes est affectée au cours du traitement conventionnel et en outre, l'arôme de différentes espèces de truffes est perdu à cause des techniques de conservation (**AHMED, 2013**).

Les truffes du désert présentent divers activités biologiques et nutritionnelles démontré leur utilisations potentielles à des fins thérapeutiques (**WANG et MARCONE, 2011**).

I.6.-Les activités biologiques des truffes

Outre leur valeur nutritive, les truffes du désert sont utilisées depuis longtemps en médecine traditionnelle par les populations autochtones d'Afrique du Nord et du moyen orient (**SHAVIT et SHAVITE, 2014**), en particulier les bédouins et les nomades du désert qui les emploient pour traiter les infections oculaires (**MANDAVILLE, 2011 ; VALPATO et al., 2013**).

Les truffes du désert présentent des caractéristiques biologiques inhabituelles (**KAGAN-ZUR et ROHT-BEJERANO, 2008**), et sont même utilisés comme des médicament (**EL ENSHASY et al., 2013**).

Les principaux types de composés bioactifs (polysaccharides, peptidoglycanes, terpénoïdes, composés phénoliques, stéroïdes, lectines... etc.) qui possèdent un large éventail d'effets thérapeutique (**BADALYAN, 2012**).

Les polysaccharides sont des substances les plus puissants avec une propriété médicinales (**WU et al., 2013**), qui sont des macromolécules de poids moléculaire élevé qui peuvent être facilement dissoutes et dispersées dans de l'eau dans des conditions appropriées, Ils peuvent moduler les propriétés rhéologiques des aliments et sont généralement utilisés comme épaississants alimentaires, modificateurs de texture, stabilisants et émulsifiants pour diverses applications (**AFSHARI et al., 2015**).

La plupart des polysaccharides biochimiques ont diverses ramifications types de (1 → 3) - et (1 → 6) -β-D-glucane. Cependant, l'activité de ces polysaccharides dépend fortement de la longueur, ramification, rigidité de la chaîne et la conformation hélicoïdale (**EL ENSHASY et al., 2013**).

Les champignons médicinaux ont été considérés comme une source traditionnelle de composés bioactifs naturels pendant de nombreux siècles et ont été ciblés comme agents hypoglycémians et antidiabétiques potentiels (DE et al., 2012).

Les truffes du désert ayant plusieurs propriétés thérapeutiques telles que des propriétés antitumorales, hypocholestérolémiantes, antidiabétiques et immuno-modulatrices (SINGDEVSACHAN et al., 2016 ; SANCHEZ, 2006).

Les activités antivirales et antimicrobiennes ont été traditionnellement les activités biologiques les plus étudiées de la truffe avec la plupart des chercheurs limitant leur portée aux truffes du désert (HUSSAN et AI-RUQUAIE, 1999) contiennent également des enzymes à intérêt médical et industriel (DIB, 2012), et possèdent la propriété d'inhibent la libération d'histamine et révéler des effets anti-inflammatoires (BADALYAN, 2012).

D'autres travaux ont également montré que les extraits de truffes ont des propriétés hépato-protectrices, anticancéreuses et aphrodisiaques (KHOJASTCH et al., 2013 ; AL-DAMEGH, 2014 ; MEKAWAY, 2015 ; DAHHAM et al., 2016).

Les truffes du désert les plus populaires sont des espèces des genres *Terfezia* et *Tirmania* ayant plusieurs propriétés thérapeutiques telles que des propriétés anti-inflammatoires, antihistaminiques, hypocholestérolémiantes, antidiabétiques (SANCHEZ, 2006 ; KAGAN-ZUR et ROHT-BEJERANO, 2008 ; SHAVIT, 2008).

I.6.1.-Activité antidiabétique

Le diabète est une maladie endocrinienne ubiquitaire qui touche environ 2 % de la population mondiale), se définit comme une élévation anormale du taux de sucre dans le sang, il s'agit d'un désordre métabolique d'étiologie multiple caractérisé par une hyperglycémie chronique, causée par le manque de cellules β du pancréas qui produisent l'insuline. Par défaut de la sécrétion (type-1) ou d'action d'insuline (type-2), ou de ces deux anomalies, elles entraînent une perturbation du métabolisme et des complications diabétiques associées telles que l'hypertension, les maladies cardiovasculaires et la neuropathie diabétique (BARBOSA et al., 2008; SY et al., 2008 ; GAO et al., 2013 ; CHABANE et al., 2013 ; MANGAMBU et al., 2014 ; HOLALY et al., 2015; LEATITIA et al., 2015 ; SULISTIYANI et al., 2016).

Objectif principal dans la prise en charge du diabète est consiste à réguler la concentrations de glucose de sang, afin de prévenir les maladies chroniques et les complications diabétiques certains agents antidiabétiques tels que l'acarbose, exercent leur effets de réduction de la glycémie par l'inhibition des enzymes hydrolysantes les glucides gastro-intestinaux telles que l' α -amylase salivaire et pancréatique, ainsi que l'enzymes α -glucosidase de bordure de brosse intestinale (GY et al., 2008, KAZEEM et al., 2013 ; POONGUNRAN et al., 2015).

On croit actuellement que le contrôle de l'hyperglycémie postprandiale est une approche thérapeutique efficace pour gérer le diabète et ce processus est généralement réalisé en retardant deux enzymes clés dans le système digestif liées à l'adsorption du glucose (α -amylase et α -glucosidase) (GAO et al., 2013).

L' α -glucosidase et l' α -amylase sont les enzymes importantes impliquées dans la digestion des glucides. L' α -amylase est impliquée dans la dégradation des glucides à longue chaîne et de l' α glucosidase décompose l'amidon et les disaccharides en glucose (NAIR et al., 2013).

Chapitre II :
Matériel et méthodes

II.1.-Principe d'étude

Bien que de nombreux champignons comestibles, les truffes font l'objet d'études scientifiques qui confirment leurs bienfaits (**BEARA et al., 2014**).

Et d'après **KAGAN-ZUR et ROTH-BEJERANO (2008)**, la composition chimique des truffes désertiques et ils montrent que les glucides sont l'un des composants majoritaires.

Des études antérieures ont démontré que les polysaccharides extraits de champignons comestibles et médicinaux, présentaient divers activités biologiques (**LUO et al., 2011**), en raison de leur large spectre de propriétés thérapeutiques, de leur abondance, de leurs sources renouvelables, non-toxiques et biodégradables (**BOUAL, 2014**).

La présente étude est une contribution à valoriser les truffes du désert récoltées dans la Sahara septentrional Algérien. L'étude porte sur l'analyse biochimique de *Terfezia arenaria* et *Tirmania nivea* suivie d'une extraction des polysaccharides hydrosolubles et leur caractérisation. De même, ce travail a pour objectif de tester le potentiel biologique, d'extrait polysaccharidiques isolés à partir de *Terfezia arenaria* et *Tirmania nivea* dont l'activité antidiabétique.

II.2.-Matériel d'étude

II.2.1.- Produits et appareillages utilisés

Les caractéristiques physicochimiques et l'origine des produits chimiques utilisés au cours de l'expérimentation sont indiquées dans le tableau 01, et l'origine et type des appareils utilisés au cours de l'expérimentation sont indiqués dans le tableau 02.

Tableau 01:Caractéristiques physicochimiques des produits chimiques utilisés au cours de l'expérimentation

<i>Produit</i>	Caractéristiques				
	Forme	Formule chimique	M. molaire g/mol	Densité g/cm³	Pureté %
<i>Acétone</i>	Liquide	C ₃ H ₆ O	58.08	0.792	100
<i>Acétate d'éthyle</i>	Liquide	C ₄ H ₈ O ₂	88,11	/	
<i>Acide acétique</i>	Liquide	CH ₃ COOH	60,05	1.048-1.051	99.5
<i>Acide chloro- hydrique</i>	Liquide	HCl	36.46	1.19	37
<i>Acide ortho-phosphorique</i>	Liquide	H ₃ PO ₄	98	1,69	85-88
<i>Acide tri-fluoro-acétique</i>	Liquide	CF ₃ COOH	114,02	1,49	99.8
<i>Aniline</i>	Liquide	C ₆ H ₅ NH ₂	93.13g	1.02-1.03	98.5
<i>Butanol</i>	Liquide	C ₄ H ₉ OH	74.12	81	99.9
<i>Chloroforme</i>	Liquide	CHCl ₃	119.38	1.47	99-99.6
<i>Chlorure de potassium</i>	Poudre	KCl	74.55	1.98	99
<i>Diphénylamine</i>	Liquide	C ₁₂ H ₁₁ N	169.23	52.5-54.5	98
<i>Ethanol</i>		C ₂ H ₆ O	46,07		99
<i>Isopropanol</i>	Liquide	C ₄ H ₈ O	66,10	0,803-0,805	99,5
<i>Méthanol</i>	Poudre	CH ₃ OH	32.04	0.79	99.9
<i>Phénol</i>	Liquide	C ₆ H ₆ O	94,11	/	90
<i>Pyridine</i>	Liquide	C ₅ H ₅ N	79,10	/	99,5
<i>Sérum Albumine Bovine</i>	Solide	/			96

Tableau 02: type des appareils utilisés au cours de l'expérimentation

Appareil	Type	Lieu de fabrication
<i>Agitateur magnétique</i>	F20520162	EUROPE
<i>Autoclave</i>	WEBECKE. P : 2.5BAR, T :138°C	/
<i>Bain marie</i>	MEMMERTGMBH. WB 7. NENNTEMP ; 100 °C	GERMANY
<i>Balance</i>	DISCOVERY DV 215CD OHAUS.	USA.
<i>Centrifugeuse</i>	SIGMA. 15PK, 14000 RPM.	GERMANY
<i>Distillateur</i>	D30-BURGWEDL, 2108	GERMANY
<i>Etuve</i>	MELAG815.220V, 50HZ, 12.3A,2700w.	GERMANY
<i>Hotte</i>	TELSTAR AV-100. MODELE50/60 HZ, 0.6KW.	SPAIN
<i>Lyophilisateur</i>	CHRIST.ALPHA 1-2LD. 101021.230V, 50HZ, 0.7. KW.	GERMANY
<i>Micropipette</i>	ACURA 821. 200-1000ML	SWIS
<i>PH metre</i>	WTW.D-82362. PH 1970.	GERMANY
<i>Spectrophotometre</i>	UV-MINI-1240.UV-VIS SPECTROPHOTOMETRE	CHINA

II.2.2.-Matériels biologique

Le matériel biologique regroupe deux espèces de Terfez: *Terfezia arenaria* et *tirmania nivea*, sont parmi les espèces les plus étudiés, en Algérie. Elles sont abondantes dans les régions steppiques et nord sahariennes (BRADAI et al., 2014). Les 02 genres (*Terfezia* et *Tirmania*) sont appréciés pour leur valeur alimentaire (richesse en protéines, acides gras, glucides, éléments minéraux et vitamines) mais aussi pour leurs propriétés médicinales, leurs vertus en médecine traditionnelle contre certaines affections oculaires et cutanées sont relatées par les arabes de l'ancien temps depuis plusieurs siècles et par certains hadiths religieux (FORTAS et DIB, 2006).

II.2.2.1- La récolte

En général, la récolte des Terfez des genres *Terfezia*, *Tirmania*, a lieu au printemps de Mars à Avril. En Algérie, leur récolte a lieu de fin Février à Avril dans les zones semi-arides et de Décembre à Janvier, dans les zones arides (FORTAS, 1990 ; ZITOUNI, 2010).

Nos échantillons frais de truffes (*Tirmania nivea* et *Terfezia arenaria*) sont récoltés le mois de janvier 2016 du Sahara algérien (Bechar et M'nia) puis identifiés par Dr Bradai Lyes.

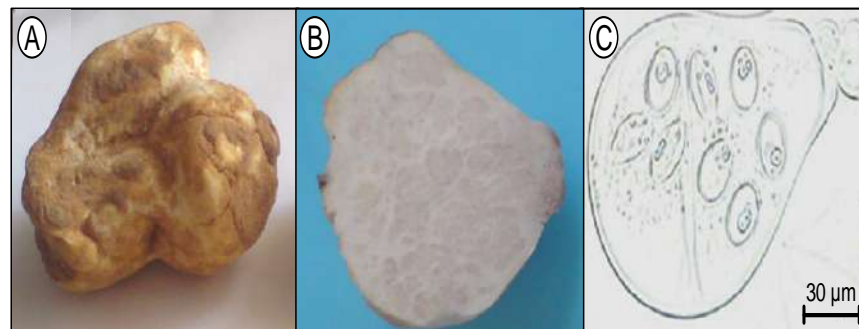


Figure 02:(A) Carpophore de *Tirmania nivea* (B): Section de l'ascocarpe, (C):Asques et spores. (source : BRADAI et al., 2014)

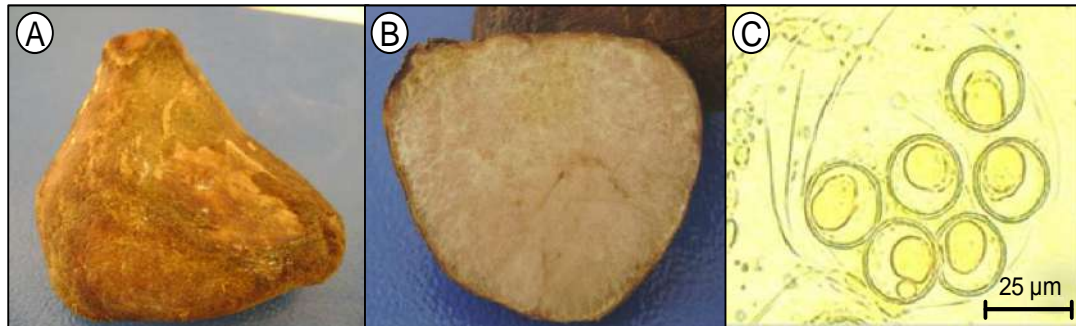


Figure 03: (A) : Carpophore de *Terfezia arenaria*: (B): Section de l'ascocarpe, (C):Asques et spores (source : BRADAI et al., 2014).

II.2.2.- Techniques du séchage et de broyage

II.2.2.1.-Séchage

Le séchage est l'une des techniques de conservation de truffes, par la vaporisation l'eau qui imprègne dans les truffes afin de le transformer en produit solide sec dont l'humidité résiduelle est très faible (AHMED, 2013).

Dans les régions arides, où l'air est sec, cette préparation est facile, il suffit de disposer les ascocarpes de Terfez à l'air libre, dans l'ombre, durant un mois. Pour inhiber le développement des moisissures, l'échantillon de *Tirmania nivea*, *Terfazia arenaria* est traité par l'éthanol 96%, au début les ascocarpes sont immergées totalement dans l'alcool, et pendant séchage sont chaque fois vaporisés à l'aide d'un vaporisateur jusqu'à le séchage total.

II.2.2.2.-Broyage

L'échantillon est broyé pendant 1 min par un broyeur WARING, Torrington CT06790, Modèle WSG90E, puis séché à l'étuve à 50°C pendant 12 heures.

II.3.-Etude des polysaccharides

II.3.1.-Extraction des polysaccharides hydrosolubles

L'extraction des polysaccharides est un processus important pour leur application ou pour Développement, ce qui a incité la publication ces dernières années de nombreux travaux de recherche technologie pour l'extraction de polysaccharides à partir de plantes ou de champignons (**HUANG et al., 2010**), en raison des nombreux facteurs qui influent sur l'extraction des polysaccharides, l'optimisation du protocole d'extraction est nécessaire (**WE et al., 2013**), la méthode la plus couramment utilisée pour l'extraction de polysaccharides est l'extraction d'eau chaude. Le rendement de cette méthode dépend largement du temps d'extraction et de la température (**WANG et al., 2016**).

Une quantité de 20 g du broyat séché des ascocarpes de *Tirmania nivea* et *Terfazia arenaria* sont prétraitée par 200 ml d'éthanol à 96%, en mettant à 4 c pendant 24h, afin d'éliminer les composés lipophiles et les composés de faible poids moléculaire (**CAI et al., 2015**), après une macération, le surnageant récupérer dans une flacon est l'extrait éthanoïque de *Tirmania nivea* et *Terfazia arenaria*, puis le culot sont macérées dans l'eau distillée (après conservation a4°C pendant 24h) (**CHIDOUH et al., 2014**), pendant 2 heures à 80°C et sous agitation constante. L'extraction est répétée trois fois. Après une centrifugation à 4000 rpm pendant 15mn (**CHEN et al., 2008**), les trois surnageant sont réunis et concentrés.

48,1 g gramme de l'acide trichloracétique pour l'extrait de *Tirmania nivea* et 53.6 g pour l'extrait de *Terfazia arenaria* sont ajouté à la solution afin de précipiter les protéines (**LU, 2004; BOUAL, 2014**), dont il est remarqué l'apparition d'un trouble blanc (**TOGOLA et al., 2008**), puis centrifugée à 4000 rpm pendant 15 min à la température ambiante (**XIE et al., 2014**).

Les polysaccharides de l'extrait, sont précipités à l'aide de 3 volumes d'isopropanol (95%) (**IBANEZ et FERRERO, 2003 ; BOUAL, 2015**), pour chaque extrait pendant 24 heures à 4°C. Le filtrat est concentré à 60°C jusqu'à l'obtention du 1/3 du volume initial, dans un Rotor vapeur (**KURBANOVA et al., 2003**).

Après une centrifugation à 4000 rpm pendant 15mn, le culot est récupéré puis lavé trois fois par l'acétone (**YAN et al., 2008**), et lyophilisé pendant 24 heures (**HE et al., 2014**), le lyophilisat représente l'extrait brut de polysaccharides hydrosolubles (**ZHU et al., 2016**).

Les étapes expérimentale de l'extraction est résumé dans la figure 04

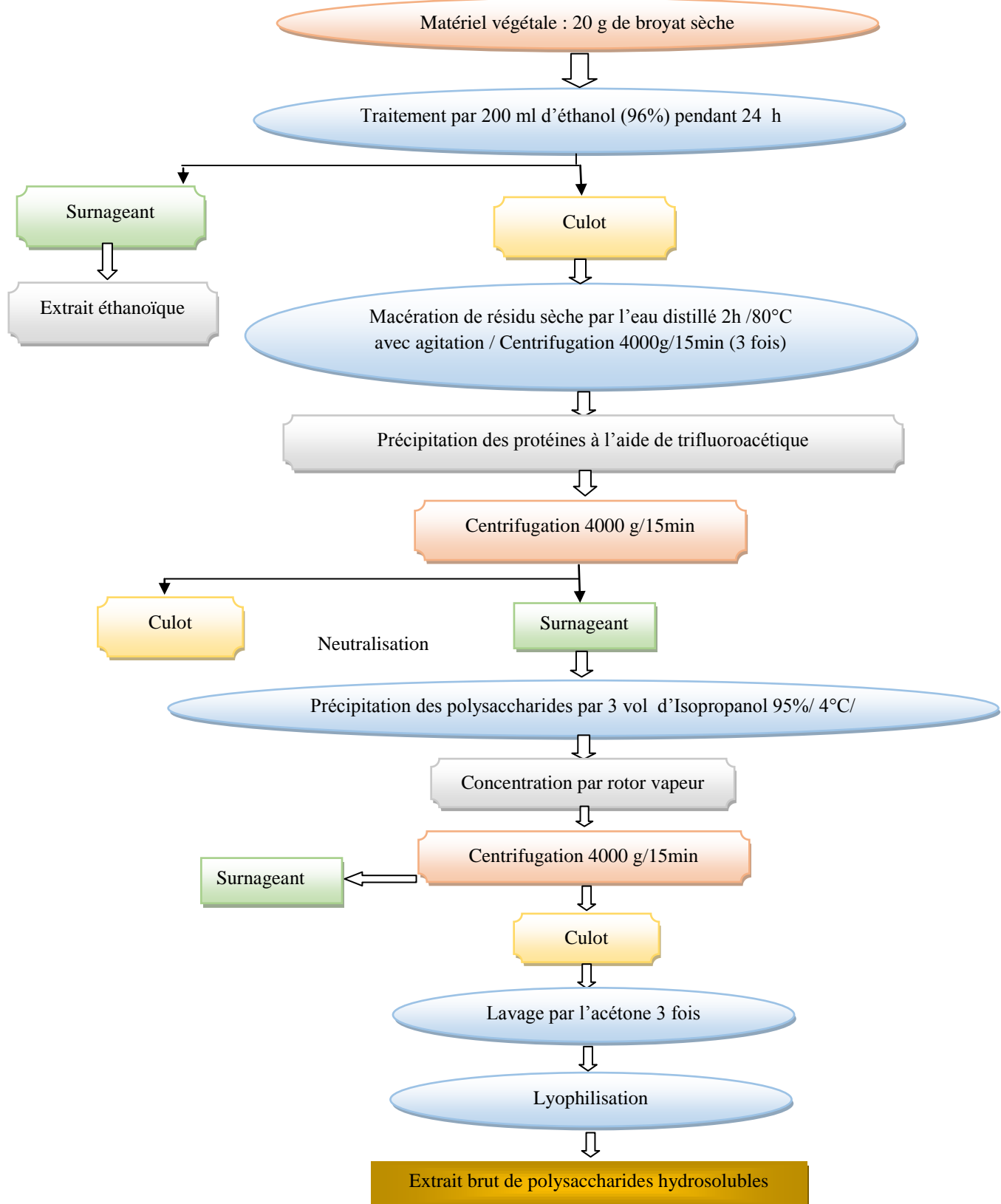


Figure 04: Etapes de l'extraction des polysaccharides hydrosoluble de *Terfezia arenaria* et de *Tirmania nivea* (YAN et al., 2008; CHEN et al., 2008; WANG et al., 2013; BOUAL, 2015; CHIDOUEH et al., 2014; He et al., 2014; ZHAUYNBAEVA et al., 2010; ZHU et al., 2016).

Calcul du rendement des polysaccharides (extraits bruts)

Le rendement massique, est un rapport entre la masse de l'extrait brut obtenu et la masse de la matière de départ. Il se calcule comme suit (MARAN et PRIYA, 2014 ; ZHAO et al., 2015).

$$R (\%) = \frac{\text{Poids de l'extrait brut des polysaccharides hydrosolubles}}{\text{Poids de la matière végétal sec}} \times 100$$

II.4.- Composition des extrais des polysaccharides hydrosolubles

La composition des extraits de polysaccharides hydrosolubles concerne le dosage des protéines, des oses totaux, oses neutres et oses acides.

II.4.1.- Dosage des protéines par la méthode de BRADFORD

II.4.1.1.-Principe

La teneur en protéines dans les extraits polysaccharidiques est mesurée par la méthode de BRADFORD (1976), cette technique utilise le réactif de bleu de coomassie qui a la propriété de s'adsorber sur les protéines par interactions non covalentes avec les résidus des acides aminés hydrophobes des protéines provoquant la formation d'un complexe de coloration bleue, du spectre d'absorption décalé vers 595 nm

La concentration en protéines est obtenue par référence avec une gamme étalon de sérum albumine bovine (BRADFORD, 1976 ; AUTRAN, 1991). (Annexe 01)

II.4.1.2.- Préparations des solutions à doser

Préparation de Bleu de Coomassie

À 50 mg de Bleu de coomassie sont ajoutés 25ml d'éthanol (95%), puis agités pendant quelque heure, 50 ml d'acide phosphorique 85% sont ajoutés. Le réactif est dilué jusqu'à 500 ml par l'eau distillée, le réactif est stocké à 4°C.

Solution mère de BSA (sérum albumine bovine)

La solution mère d'étalon est préparée à 0.01% par l'ajout de 10 mg de BSA à 100ml d'eau distillée.

Solution de l'échantillon à doser

Pour les deux espèces on a préparé 10 mg des polysaccharides dans 10 ml d'eau distillé suivit par une dilution 1/10.

II.4.1.3.- Préparation de la courbe d'étalonnage de BSA

Tableau 03:Préparation de gamme étalon de sérum albumine bovine.

	Blanc	0,001%	0,002%	0,005%	0,008%	0,01%
Eau distillé (ml)	1	0,9	0,8	0,5	0,2	0
BSA 0,01%(ml)	0	0,1	0,2	0,5	0,8	1
Concentration(mg.L ⁻¹)	0	10	20	50	80	100

II.4.1.4.-Mode opératoire

Le dosage est effectué selon la méthode micro **BRADFORD (1976)** qui consiste à

- Introduire 200µl de l'échantillon ou l'étalon dans des tubes à essai en verre;
- Ajouter 2ml de bleu de Coomassie
- Après agitation, faire chauffer les échantillons au bain Marie à 37°C pendant 30 min;

- Ensuite après refroidissement à température ambiante pendant 20min, lire la densité optique à 595nm par un spectrophotomètre UV-Visible.

II.4.2.- Dosages des oses totaux

II.4.2.1.- Principe

La composition en sucres totaux des différentes fractions a été déterminée via l'utilisation de la méthode de dosage colorimétrique développée par **DUBOIS et al., (1956)**. Il est important de noter que les acides uroniques peuvent être également détectés par cette méthode, les oses et leurs dérivés méthylés réagissent avec le phénol et l'acide sulfurique concentré pour donner un produit de coloration jaune orangée stable pendant plusieurs heures, le maximum d'absorption se situe à 490 nm pour les hexoses et à 480 nm pour les pentoses (**ALAOUI, 1993 ; PIERRE, 2010**). (Annexe 02)

II.4.2.2.- Préparation des solutions à doser

Solution mère de glucose

Pour préparer une solution mère du glucose de 0,01%, on a dissous une quantité de 10 mg de glucose dans 100 ml eau distillée.

Solution de l'échantillon à doser

Pour les deux espèces on a préparé 10 mg des polysaccharides dans 10 ml d'eau distillé suivit par une dilution 1/10.

Préparation du phénol

La solution de phénols à 5%, est obtenue par la dissout d'une quantité de 0,5g de phénol dans 10 ml d'eau distillée.

II.4.2.3.- Préparation de la gamme d'étalonnage du glucose

Tableau 04:Préparation des étalons du glucose.

	Blanc	0,001%	0,002%	0,005%	0,008%	0,01%
Eau distillé (ml)	1	0,9	0,8	0,5	0,2	0
Glucose 0,01%(ml)	0	0,1	0,2	0,5	0,8	1
Concentration (mg.L ⁻¹)	0	10	20	50	80	100

II.4.2.4. - Mode opératoire

Les oses totaux présents dans la solution polysaccharidique sont déterminés par la méthode de **BUBOIS et al., (1956)** :

200µl de solution de polysaccharide de concentrations 0,01% sont versé dans des tubes à essai en verre, ainsi que des solutions de glucose constitutives de la gamme d'étalonnage dont les concentrations varient de 0,001 à 0,01%, puis on ajout 200 µL d'une solution de phénol à 5%, le mélange est homogénéisé, rapidement 1ml d'acide sulfurique concentré.

Le mélange est porté au bain de Marie à 100°C durant 5min. Les tubes refroidis dans un bain de glace et ensuite placés à l'obscurité pendant 30mn.

Les densités optiques sont mesurées à 490nm par un spectrophotomètre UV-visible.

II.4.3.-Dosages des oses neutres

II.4.3.1.- Principe

Le dosage des oses constitutifs des polysaccharides repose sur la réaction des dérivés furfuraliques obtenus par action à chaud, d'un acide concentré comme l'acide sulfurique (H₂SO₄), pour divers composés aromatiques tels que le résorcinol pour le dosage des oses neutres pour donner un complexe de couleur brune jaune.

La concentration est obtenue par référence à une gamme d'étalonnages sont réalisées avec des concentrations en glucose comprises entre 0,001 et 0,01% (DUBOIS, 1956 ; MONSIGNY *et al.*, 1988). (Annexe 03)

II.4.3.2.- Préparation des solutions à doser

Préparation de la solution mère de glucose

Pour préparer une solution mère du glucose de 0,01%, on a dissoudre une quantité de 10 mg de glucose dans 100 ml eau distillée.

Solution de l'échantillon à doser

Pour les deux espèces on a préparé 10 mg des polysaccharides dans 10 ml d'eau distillé par une dilution 1/10.

Préparation du résorcinol

La solution est préparé par la dissous de 0.6 g de résorcinol dans un 100 ml d'eau distillé.

II.4.3.3.- Préparation de la gamme d'étalonnage de glucose

Tableau 05:Préparation des étalons du glucose.

	Blanc	0,001%	0,002%	0,005%	0,008%	0,01%
Eau distillé (ml)	1	0,9	0,8	0,5	0,2	0
Glucose 0,01%(ml)	0	0,1	0,2	0,5	0,8	1
Concentration (mg.L	0	10	20	50	80	100

II.4.3.4.-Mode opératoire

200µl de solution à doser sont mis dans des tubes en verre, 200 µl de solution résorcinol sont ajoutés, puis 1 ml d'H₂SO₄ à 96% est rapidement introduit dans le milieu réactionnel. Après agitation les tubes sont incubés à l'étuve à 90°C, pendant 30 mn jusqu'à

l'apparition d'une couleur jaune brun. Après refroidissement dans un bain de glace pendant 30 mn l'absorbance est mesurée à 480 nm (MONSIGNY *et al.*, 1988).

II.4.4.- Dosages des oses acides

Dosage de des acides uroniques par la méthode au M-HDP

Le dosage des acides uraniques a été réalisé par la méthode au méthahydroxydiphényl (m-HDP) mise au point par BLUMENKRANTZ et ASBOE-HANSEN (1973), a été modifiée par KINTER et VAN BUREN (1982). L'acide libéré lors de l'hydrolyse des filtrats est déterminé par la formation d'un produit de réaction coloré en rose en présence de m-HDP, dont le maximum d'absorption se situe à 520 nm (ALAOUI, 1993).

II.4.4.1.- Principe

Les acides uroniques réagissent avec le *méta*-hydroxydiphényl, le produit développe une coloration rose lue à 525 nm. La coloration est améliorée en présence de borate, mais la réaction colorimétrique est sensible aux interférences dues aux sucres neutres qui brunissent en présence d'acide sulfurique. Cette interférence est minimisée par traitement de l'échantillon avec du sulfamate avant l'hydrolyse acide (PIERRE, 2010).

II.4.4.2.- Préparation des solutions à doser

Solution A

Une quantité de 0,95 g de Borax ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$) est dissous dans 2ml d' H_2O , puis on complétée par l'acide sulfurique concentré jusqu'au trait de fiole de jauge de 100 ml.

Solution B

Dissoudre une quantité de 150 mg de m-HDP et 500 mg de NaOH dans une fiole, puis complétée par d'eau distillé jusqu'au trait de fiole de jauge de 100 ml. Mettre la solution sous agitation.

Solution mère de l'acide glucuronique

Préparer une solution mère de l'acide glucuronique de 0,01%, dissoudre une quantité de 10 mg de l'acide glucuronique dans 100 ml d'eau distillé.

Solution de l'échantillon à doser

Pour les deux espèces on a préparé 10 mg dans 10 ml d'eau distillé suivit par une dilution 1/10.

II.4.4.3.- Préparation de la gamme d'étalonnage de l'acide glucuronique

Tableau 06:Préparation des étalons de l'acide glucuronique.

	Blanc	0,001%	0,002%	0,005%	0,008%	0,01%
Eau distillé (ml)	1	0,9	0,8	0,5	0,2	0
A. glucuronique 0,01%(ml)	0	0,1	0,2	0,5	0,8	1
Concentration (mg.L ⁻¹)	0	10	20	50	80	100

II.4.4.4.-Mode opératoire

200 µl de la solution à doser est ajouté à 1,2 ml de la solution de tétraborate de sodium à 0,0125 M dans l'acide sulfurique concentré. Après agitation, les tubes sont incubés au bain de glace pendant 5mn puis placés au bain Marie à 100°C pendant 5 mn.

Les tubes sont refroidissent au bain de glace environ 10mn, puis 20 µl d'm-HDP est ajouté avec agitation, une coloration rose se développe et la lecture des densités optique est lue à 520 nm.

Les quantités d'oses acides sont déterminées en comparaison avec une gamme d'étalonnage d'acide glucuronique de concentration varier 0,001% à 0,01% (**GHEDEBA et al., 2014**). (Annexe 04)

II.5.- Caractérisation structurale des polysaccharides

L'identification des monosaccharides constitutifs des polysaccharides nécessitent la rupture de toutes les liaisons glycosidiques. L'analyse repose d'une part sur des techniques de dosage colorimétriques et d'autre part sur des techniques chromatographiques.

II.5.1.-Identification des résidus glycosidiques

Le fractionnement des substances bioactives contenues dans les extraits bruts a été réalisé par des méthodes chromatographiques (**FORTAS et DIB, 2006**).

II.5.1.1.-Hydrolyse acide des liaisons glycosidiques

II.5.1.2.-Principe

La méthode d'hydrolyse en milieu acide est basée sur la résistance différentielle des liaisons glycosidiques. Elle permet en théorie la libération de fragments oligosaccharidiques représentatifs d'une structure et permet aussi la rupture des liaisons glycosidiques (-C-O-C-) présentes chez les hétérosides, ils utilisent des acides minéraux sous des paramètres tels que la concentration, la nature de l'acide, la température, la pression et le temps de réaction sont à moduler, les acides principalement utilisés sont les acides hydrochlorique, sulfurique, ou phosphorique.

Les polysaccharides ont été hydrolysés dans un tube en verre scellé avec de l'acide trifluoroacétique 2 M (TFA, 2 ml) pendant 4 h à 110 ° C. L'acide résiduel a été éliminé sous vide, puis les hydrolysats ont été convertis en acétates d'alditol selon des modes opératoires classiques. L'évolution du profil est suivie par chromatographie sur couche mince (**THOMAS, 2001 ; DOHOU et al., 2003 ; RUIZ, 2005 ; CLAISSE, 2006 ; BOUAL et al., 2013 ; CAI et al., 2016**).

II.5.1.3.-Préparation de solution de l'acide trifluoroacétique de 2M

La concentration de l'acide trifluoroacétique est calculée selon formule suivante:

Sachant que:

$$C = P \times D \times 10 / M$$

M Masse molaire de TFA= 114.02 g/mol, **P** Pureté= 99%, **D** Densité=1,5351

Selon la formule on obtient $V_2 = (50)(2) / 13.32 = 7.50$ ml de TFA

$50 - 7.50 = 42.5$ ml de l'eau distille

Donc la solution est préparée par 7,50 ml de TFA, avec 42,5 ml d'eau distillé

II.5.1.4.-Mode opératoire

Un échantillon de 25mg de lyophilisat de polysaccharides est ajouté à 1ml d'acide trifluoroacétique de concentration 2M est ajouté. Les tubes sont laissés dans l'étuve à 100°C pendant 4 h. Ensuite, les tubes sont refroidis au bain de glace et les surnageant sont récupérés sur des verres de montre. Quelques gouttes de méthanol (99,7%) sont ajoutées. Les verres de montre sont déposés dans un dessiccateur sous hotte pendant 24h. Après séchage et évaporation totale, 1ml d'eau distillée est additionnée pour solubiliser les oses, puis récupérer dans des eppendorfs de 1,5 ml (CAI et al., 2016).

II.6.-Chromatographie sur couche mince (CCM)

II.6.1.- Principe

La chromatographie sur couche mince est une méthode de séparation des composés qui permet d'analyser la complexité d'un mélange qui repose sur les phénomènes d'adsorption, d'interactions et de polarité, couramment utilisée pour l'identification de composés organiques et, permet un contrôle aisé et rapide de la pureté des produits

analysés, qui utilise des phases stationnaires fixées sur des supports rigides maintenus verticalement dans une cuve à chromatographie.

La phase mobile composée d'un solvant pure ou d'un mélange de solvant, se déplacent par capillarité le long de la phase stationnaire.

L'identification est rendue possible grâce à des témoins, solutions de sucres connus déposés dans les mêmes conditions que le mélange à analyser. Chaque sucre est caractérisé par son R_f , rapport de la distance de migration du spot à la distance de migration du front du solvant.

De plus, étant donné que la CCM indique le nombre de composants d'un mélange, semble employer pour suivre la progression d'une réaction comme, c'est le cas de l'hydrolyse de polysaccharides.

Après migration, les spots sont révélés par une réaction colorée le Nigrum, basée sur les réactions furfuraliques des sucres (AUDIGIE et al., 1980 ; AUTRAN, 1991 ; PAULSEN et al., 2002 ; SINE, 2003 ; DELATTRE, 2005 ; HANIQUE et al., 2008 ; ABEDINI, 2013).

II.6.2.-Mode opératoire

II.6.2.1.-Préparation de Révélateur

La chromatographie est une méthode de séparation, il faut lui adjoindre une méthode de détection afin de permettre une identification des produits séparés (BALLEREAU et al., 1993).

Le révélateur utilisé est le NIGRUM. Ce dernier se compose de deux solutions A et B selon PAULSEN et al., (2002):

- **Solution A:** 4g de diphénylamine dans 100 ml d'acétone,
- **Solution B:** 96 ml d'acétone complété jusqu'à 100 ml par l'aniline.

Après mélangé les deux solutions A et B, 20 ml d'acide ortho-phosphorique (85%) sont ajoutés.

II.6.2.2.-Préparation des phases mobiles

Quatre phases mobiles sont utilisées pour la séparation :

- **La phase mobile 1:** EST constituée de: d'acétate d'éthyle- pyridine- eau distillée- n butanol-

Acide acétique dans un rapport de 5-4-4-10-2 respectivement (**GHEBREGZABEIER et al., 1976**).

- **La phase mobile 2:** EST constituée de: chloroforme-nbutanol-méthanol-eau distillée-acide

acétique 4,5-12,5-5-1,5-1,5 (**YANG et al., 2010**).

- **La phase mobile: 3** EST constituée de: n-butanol-acide acétique-eau avec les proportions suivantes: 6-1, 5-2 (**LOUCIF, 2011**)

- **La phase mobile: 4** EST constituée de: acétonitrile, acétate d'éthyle, propanol, eau avec les proportions suivantes: 8, 5-2-2-1, 5 (**HAN et ROBYT, 1998**).

II.6.2.3.-Préparation de la phase stationnaire

Les phases stationnaires sont des plaques en gel de silice prêtes à l'emploi de type (Silica gel 60 F 254) de 0,25mm d'épaisseur, étalée sur une feuille d'aluminium. Les plaques sont entièrement utilisées. Une ligne de dépôt est tracée à 1,5cm du bord inférieur de la plaque, puis activée dans l'étuve à 100°C pendant 10mn. Une fois activée, la plaque est prête pour le dépôt des échantillons.

Les solutions sont déposées à l'aide d'un applicateur, en utilisant une micropipette de 10 µl (**BOUAL, 2011**).

II.6.2.4.- Préparation des cuves chromatographiques

La préparation des cuves est réalisée selon la méthode d'AUDIGIE *et al.* (1995), modifiée. La phase mobile est versée dans la cuve à une hauteur de 0,5 cm d'environ. La cuve est laissée fermée hermétiquement pendant 24h pour assurer une saturation maximale en vapeur de la phase mobile. Cette saturation a pour but de limiter l'évaporation de la phase mobile depuis la cuve chromatographique.

II.6.2.5.-Calcul du rapport frontal des spots

Le rapport frontal est calculé pour chaque spot obtenu des hydrolysats et des étalons (Le dépôt est obtenu à chaque 10 mg de l'échantillon ou d'étalons est ajouté 1 ml d'eau distillée) (BOUAL *et al.*, 2013 a), pour but de comparer les Rf, et déterminer les différents types d'oses constitutifs des extraits bruts de polysaccharides hydrosolubles obtenus.

$$R_f = \frac{\text{Distance parcourue par l'échantillon ou le témoin}}{\text{Distance parcourue par le solvant (phase mobile)}}$$

(AUDIGIE *et al.*, 1980).

II.6.2.6.-Développement des plaques

Le développement des plaques est effectué dans des cuves saturées 2h auparavant par les systèmes de solvants de migration. Les plaques sont placées verticalement dans les cuves de façon à ce que les plaques trempent sur une hauteur d'environ 1 cm et de sorte que la ligne de dépôt soit au-dessus de la phase mobile. La cuve est ensuite fermée pour laisser les plaques se développer avec le temps, en évitant tout déplacement ou vibration des cuves pendant l'éluion. Quand le solvant arrivera à 1 cm du bord supérieur, les plaques sont retirées doucement et le front du solvant est marqué avec un crayon, elles sont ensuite séchées à l'air libre et révélées par le NIGRUM à l'aide d'un pulvérisateur

La comparaison entre les spots des échantillons avec celles des étalons et le calcul de leurs rapports frontaux (Rf) permet la détermination de la composition des extraits en monosaccharides (DAVID *et HAZEL*, 1998 ; BOUAL, 2011).

$$RF = \frac{\text{Distance parcourue par le constituant}}{\text{Distance parcourue par le solvant H}} \times 100$$

(DAVID et HAZEL, 1998).

II.7.- Teste de l'activité antidiabétique

II.7.1.- Principe de l'enzyme alpha-glucosidase

L'alpha-glucosidase (α -D-glucoside glucohydrolase; EC 3.2.1.20) est une enzyme clé dans la digestion des glucides, se libéré dans la bordure de la brosse de l'intestin grêle, qui hydrolysent les liaisons α -1,4-glycosidiques à partir de l'extrémité non-réductrice des oligosaccharides et des polysaccharides avec la libération de α - glucose qui peuvent être absorbées par l'intestin (DOLORES et al., 2006 ; WU et al.,2012 ; KAZEEM et al., 2013 ; ABD EL-MOHSEN et al., 2014 ; POONGUNRAN et al., 2015 ; SULISTIYANI et al., 2016).

Les inhibiteurs de l'alpha-glucosidase agissent comme des inhibiteurs compétitifs de l'alpha glucosidase nécessaire pour digérer les glucides, pour cette raison, les inhibiteurs de la α -glucosidase, comme l'acarbose et voglibose, sont cliniquement utilisés comme agents antihyperglycémiant, ces inhibiteurs jouent un rôle crucial dans le diabète, ils retardent l'absorption des glucides ingérés, et réduise la glycémie postprandiale, ils sont trouvée comme une stratégie utile et efficace pour diminuer les niveaux d'hyperglycémie postprandiale et gestion plus économique de la prévention du diabète sucré (LIU et al., 2011 ; SUNIL et al., 2011 ; WU et al., 2012 ; KAZEEM et al., 2013 ; SALEHI et al., 2013 ; NAIR et al., 2013 ; SULISTIYANI et al., 2016) .

L' α -glucosidasehydrolysep-Nitrophenyl α -D-glucoopyranosidequi est une substrat artificielen libérant le glucose et le *p*-nitrophenol, l'activité de l'alpha-glucosidase est déterminée en utilisant le *p*-nitrophenolqui a une absorbance mesurée à 405 nm, le taux de la formation de *p*-nitrophenol est traduit par une augmentation de l'absorbance (SOUZA et al., 2011 ; SULISTIYANI et al., 2016).

II.7.1.1.- Expression des résultats

L'activité inhibitrice des polysaccharides ou l'acarbose est déterminé par le résultat d'inhibition en pourcentage, qui est exprimée en utilisant la formule suivante:

$$\% \text{inhibition} = \frac{\Delta A_{\text{contrôle}} - \Delta A_{\text{échantillon}}}{\Delta A_{\text{contrôle}}} \times 100$$

(KAZEEM *et al.*, 2013 ; TELAGARI *et HULLATTI*, 2015 ; SULISTIYANI *et al.*, 2016).

Δ Absorbance du contrôle: La pente de la tangente de contrôle négatif.

Δ Absorbance de l'échantillon: La pente de la tangente de l'échantillon.

II.7.1.2.-Préparation des solutions et réactifs

La préparation se fait selon les méthodes de **BISHT *et al.*, (2013) ; QIAN *et al.* (2015)** modifiées.

Préparation de la solution mère de l'extrait polysaccharidique (10mg/100µl)

La solution est préparée avec 10 mg de l'extrait brut polysaccharidique lyophilisé dans 100µl d'eau distillée.

Préparation des dilutions de la solution mère de l'extrait polysaccharidique

Tableau 07:Dilutions de la solution mère de l'extrait polysaccharidique

	Blanc	10%	25%	50%	75%	100%
Eau distillée (µl)	20	19	15	10	05	0
Solution mère (µl)	0	01	05	10	15	20
Concentration (mg.ml-1)	0	10	25	50	75	100

Préparation la solution de l'acarbose

Pour préparer une solution de l'acarbose de 100mM, 50 mg de l'acarbose est dissout dans 774 μ l d'eau distillée.

Préparation des dilutions de l'acarbose

Une gamme de dilution allant de 0,01 à 100 mM est préparée à partir de la solution mère d'acarbose 100mM.

Tableau 08: Préparation des étalons de l'acarbose

	0%	10%	25%	50%	75%	100%
<i>Concentration Mm</i>	0	10	25	50	75	100
<i>Solution mère μl</i>	0	1	2,5	5	7,5	10
<i>Eau distillée μl</i>	0	9	7,5	5	2,5	0
<i>Volume totale μl</i>	0	10	10	10	10	10

Tableau 09: Test de l'activité antidiabétique

		Volume μ l
Contrôle positif	<i>p</i> -NPG	125
	α -Dglycosidase	500
	Acarbose	10
<i>Tirmania Nivea</i> <i>Terfazia Arenaria</i>	<i>p</i> -NPG	125
	α -Dglycosidase	500
	Polysaccharides	10
Control négatif	<i>p</i> -NPG	125
	α -Dglycosidase	500
	Eaudislilleé	10

II.7.1.3.-Mode opératoire (BISHT et al., 2013; QIAN et al., 2015)

Dans un tube sec, ajouter un volume de 500 μ l de la solution de l' α -D-glucosidase,

- Ajouter 10 μ l de l'acarbose pour le contrôle positif, de l'extrait polysaccharidique pour le test, ou de l'eau distillée pour le contrôle négatif;
- Incuber le mélange pendant 15 min à 37° C;
- Ajouter un volume de 125 μ l de la solution du substrat (*p*-NPG) préalablement incubé à 37°C.
- Faire agiter bien le tube pendant une minute;
- Après 2 min d'incubation, lire l'Absorbance à 405 nm et suivre la cinétique enzymatique de l' α -D-glucosidase en mesurant l'Absorbance chaque 12 sec pendant 3 min de réaction par un spectrophotomètre UV- Visible.

Chapitre III:
Résultats et discussions

III.1.- Rendements d'extraction des polysaccharides

Le tableau 10 illustre le rendement d'extrait des polysaccharides de *Tirmania nivea* et *Terfazia arenaria*. Nous constatons que le rendement massique de l'extrait polysaccharidique par rapport à la matière sèche est de 22% pour *Tirmania nivea* et 55% pour *Terfazia arenaria*.

Tableau 10 : Rendement polysaccharidique de *Tirmania nivea* et *Terfazia arenaria*

Echantillons	Rendement d'extraction (%)
Ascocarpe de <i>Tirmania nivea</i>	22(%)
Ascocarpe de <i>Terfazia arenaria</i>	55(%)

Ce rendement de l'extrait polysaccharidique semble plus proche que celui de glucides trouvés par **HUSSAN et AL-RUQAIE (1999)**, 21.53% dans *Tirmania nivea* et 24.87% dans *Tirmania pinoyi*, aussi de celui signalé par **WANG et al., (2011)**, ce qui concerne le genre *Tirmania* (*Tirmania pinoyi* et *Tirmania nivea*), dont ils présentent de 16,66 à 24,87 % par rapport à la matière sèche.

Selon **HAMZA et al., (2016)**, Les glucides étaient les macronutriments les plus abondants dans la truffe de *Tirmania nivea* à une valeur atteint 60% des glucides.

Une autre étude sur les truffes irakiennes (*Tirmania nivea* et *Tirmania pinoyi*) ont montré que La concentration de glucides en matière sèche atteint jusqu' a 24,8% (**EL ENSHASY et al., 2013**).

Ce qu'il concerne *Terfazia arenaria*, **HARKI et GHANMI (2014)**, trouvé que les polysaccharides représentent 28,2% dans *Terfazia arenaria* mais pour l'espèce de *Terfezia boudieri*, **AHMED et al., (1981)** signalé un pourcentage de 17,19% par rapport au matière sèche, par contre **SLAMA et al.,(2009)** trouvés un pourcentage plus faible dans *Terfezia boudieri* de la Tunisie qu'est 15,14%.

Tandis que **MIAO et al., (2011)**, ont montré un rendement dans des conditions optimales de l'extraction chez les truffes chinoises, allant de 12,89% jusqu'à 13,03% et un

rendement inférieur de polysaccharides hydrosolubles extraite à partir de matière fraîche lyophilisé de *Tuber indicum* est de 2.91% décrit par **LUO et al., (2011)**.

L'étude de **SALTARELLI et al., (2008)**, sur les polysaccharides de quelques espèces de genre *Tuber* montre que le rendement dans *T. melanosporum* soit 1,77%, *T.aestivum*1,52%, *T. magnatum*2,23%, et *T. borchii*5,65%.

Autres études sur le rendement de polysaccharides d'autres champignons comestibles d'Europe montré par **VAMANU (2012)**, pour les polysaccharides d'un champignon *Pleurotus ostreatus* est de 1,15%. Et d'autre type d'*Armillari amellea* signalent un rendement plus élevé de 16,89% décrite par **ZHANG et al., (2015)**, qui sont des champignons utilisés dans la médecine traditionnelle chinoise.

Le rendement massique des polysaccharides varie selon l'état éco-physiologique de l'ascocarpe, dont la teneur élevée en sucres peut être expliquée par la maturation des champignons et la teneur basse signifier le contraire (**SALTARELLI et al., 2008**).

De même, le type de polysaccharide et la procédure d'extraction, le type et la quantité de solvant, les températures et les concentrations utilisées (**EBRINGEROVA et al., 2008 ; MOURADI et al., 2006**), le temps, et le pH (**MIAO et al., 2011**), ainsi que le rapport du solvant par rapport à la matière première (**BOUAL, 2014**), agissent aussi sur le rendement massique de polysaccharides.

III.2.- Analyse biochimique de l'extrait polysaccharidiques de *Terfazia arenaria* et *Tirmania nivea*

L'étude de la composition de l'extrait polysaccharidique de *Tirmania nivea* à montrer que les oses totaux représentent $37,15 \pm 0,018\%$, parmi eux $84,5 \pm 0,05\%$ sont des oses neutres qui sont les plus dominants et $10,76 \pm 0,04\%$, oses acides qui montrent un teneur faible.

Ce qu'il concerne Les oses totaux représentent dans l'extrait polysaccharidique de *Terfazia arenaria* est $25,76 \pm 0,14\%$, parmi eux $59,58 \pm 0,038\%$ sont des oses neutres qui sont aussi les plus dominants et $39,98 \pm 0,09\%$ des oses acides.

Tableau 11: Compositions de polysaccharides hydrosolubles de *Tirmania nivea* et *Terfazia arenaria*

Echantillons	Teneur en protein (%)	Teneur en oses(%)		
		Totaux	Neutres	Acides
<i>Tirmanianivea</i>	8,25±0,016	37,15±0,018	84,5±0,05	10,76±0,04
<i>Terfazia arenaria</i>	7±0,007	25,76±0,14	59,58±0,038	39,98±0,09

Selon **HAMZA et al., (2013)**, les oses totaux présentent les composants majeurs de l'extrait polysaccharidique hydrosolubles de *Terfazia arenaria* qui est inférieur à celui de *Terfezia boudieiri* a une valeur 62,03%.

Par contre les résultats trouvés par **EL ENSHASY et al., (2013)** sur *Terfazia claveryi* a un teneur 16,6% proche à celle qui est trouvé par **SLAMA et al., (2009)** chez *Terfazia bouderi* 15,4 %.

HARKI et al., 2006, ont signalé 11,2% d'oses acides chez *Tuber melanosporum* immature, semble proche à celui de *Tirmania nivea* et inférieur par rapport *Terfazia arenaria*. Alors que le teneur en oses neutres soit 68,9% chez *Tuber melanosporum* immature semblent inférieur à celles de *Tirmania nivea* et un peu élevée pour *Terfazia arenaria*, En revanche, lors de stade de maturation de *Tuber melanosporum*, le taux des oses acides est de 2,8% très inférieur pour les deux, alors que le taux des oses neutres de *Tuber melanosporum* soit 80,9% reste inférieur à celle de *Terfazia arenaria* et proche a celle de *Tirmania nivea*.

La teneur en protéines a été déterminée par la méthode de **BRADFORD et al., (1976)**, qui est de 8,25 % et 7 % chez *Tirmania nivea* et *Terfazia arenaria* respectivement.

ELENSHASY et al.,(2013) montrant que la teneur en protéines pour les deux espèces *Terfezia claveryi* et *Tirmania nivea* variait de 8,1 à 13,8%, semblable à **HUSSAN et AL-RUQAIE (1999)**, qui ont trouvé que la teneur en protéines existaient dans les trois différentes truffes irakiennes, plus précisément les espèces *Terfezia claveryi*, *Tirmania*

nivea et *Tirmania pinoyi*, varie de 8,02 à 13,84% (WANG et MACRONE, 2011), par contre les teneurs déterminés par SWAYA et al., (1885), chez les truffes en Arabie Saoudite, *Terfezia claveryi* et *Tirmania nivea*, qui ont 19,6 et 27,2%, respectivement, sur les mêmes espèces AL-DAMEGH (2014), trouve que, *Terfezia claveryi* contient $18,15\% \pm 0,67$ et *Tirmania nivea* contient $17,51\% \pm 0,92\%$.

Une autre étude sur l'espèce *Terfezia claveryi*, montrant que le taux en protéines trouvé par SAWAYA et al., (1985) est de 24.96%, et BOKHARY et SARWAT(1993)et BOKHARY et PARVEZ (1993) indique 16%, de même tenure trouvée par AL-DAMEGH (2014), mais HASHEM et AL-OBAID (1996) note 19,6%, alors que HUSSAN et AL-RUQAIE (1999) décrit 8.02%.

Le taux des protéines chez *Tirmania nivea* déterminé par HAMZA et al., (2016) à une quantité égale de $28,81\% \pm 0,63$ par contre SHAVIT, (2008) trouvé dans le même espèce d'Arabie Saoudite était 27,2%.

Les compositions chimiques d'une même espèce de truffes diffèrent selon leur région de récolte. Encore, cette diversité est probablement due aux nombreux facteurs environnementaux tels que la quantité de pluie, le temps, les types de sols et les changements climatiques (ABDUL MAJID et al., 2016).

III.3.-Caractérisation des oses constitutifs des extraits polysaccharidiques par CCM

Un seul type de traitement acide a été appliqué pour l'hydrolyse acide (acide trifluoacétique TFA) de l'extrait polysaccharidique avant l'analyse par chromatographie sur couche mince, et pour l'identification, différents systèmes sont utilisés pour obtenir des meilleurs résultats. Ce type d'hydrolyse permet d'observer des taches ayant des différentes Rf.

III.3.1.- L'analyse de chromatogramme pour l'hydrolysats polysaccharidique de *Terfazia arenaria* montre:

- Pour le système 01: montré l'apparition de 03 taches, deux sont clair a un Rf 0,26 et 0,32 non identifier, et une a un Rf 0,45 correspondant au glucose.

- Pour le **système 02**: montré l'apparition de 02 taches, une clair a un Rf 0,36 non identifier et une sombre a un Rf 0,47 correspondant au glucose.
- Pour le **système 03**: montré l'apparition de 02 taches, une clair a un Rf 0,38 non identifier et une sombre a un Rf 0,50 correspondant au galactose.
- Pour le **système 04**: montré l'apparition d'un seul tache a un Rf 0,56 correspondant au glucose.

III.3.2.- L'analyse de chromatogramme pour l'hydrolysat polysaccharidique de *Tirmania nivea* montre :

- Pour le **système 01**: montré l'apparition de 03 taches, deux sont clair a un Rf 0,26 et 0,33 non identifier, et une a un Rf 0,46 correspondant au glucose.
- Pour le **système 02**: montré l'apparition de 02 taches, une clair a un Rf 0,35 non identifier et une sombre a un Rf 0,48 correspondant au glucose.
- Pour le **système 03**: montré aussi l'apparition de 02 taches, une clair à un Rf 0,37 non identifié et une sombre a un Rf 0,50 correspondant au galactose.
- Pour le **système 04**: montré l'apparition d'un seul tache a un Rf 0,56 correspondant au glucose.

Les résultats de chromatographie des extraits polysaccharidiques de *Terfazia arenaria* et *Tirmania nivea* obtenus sont consignés dans le tableau 12

Tableau 12 : Résultats du chromatogramme de l'extrait polysaccharidique de *Terfazia arenaria* et *Tirmania nivea*

	Système I	Système II	Système III	Système IV
<i>Tirmania nivea</i>	Glucose	Glucose	Galactose	Glucose
<i>Terfazia arenaria</i>	Glucose	Glucose	Galactose	Glucose

Nos résultats obtenue de chromatogramme pour la composition de l'hydrolysat polysaccharidique des deux espèces (*Terfazia arenaria* et *Tirmania nivea*) indique la prédominance de glucose.

On a remarqué l'absence d'arabinose, xylose et l'hémicellulose qui sont identifiés par chromatographie en phase gazeuse de la fraction insoluble de l'hydrolysat de *Tirmania nivea* qui sont décrit par **BOKHARY et al., (1987)**, ces résultats ne sont pas en concordance avec les résultats obtenus dans de cette étude.

Selon **ACKERMAN et al., (1975)**, ont montré la présence de fructose, de glucose, de saccharose et de sorbitol dans *Terfezia sp.* Par contre **BOKHARY et al., (1987)** ont constaté que la fraction soluble dans l'éthanol de *Tirmania nivea* est principalement composée de glycérol, de tréhalose, des sucres alcools à savoir l'inositol et le mannitol, des hexoses à savoir le glucose et le fructose, Bien que la présence de saccharose ne soit pas censée dans les champignons.

D'autre étude sur la composition de deux souches d'un champignon comestible d'Europe *Pleurotus ostreatus* (la souche IPS M2191 et IPS PBS281009), décrit par **VAMAN (2012)**, la chromatographie sur couche mince montre la présence de glucose, galactose, mannose et d'arabinose. Tandis que l'absence de xylose, la composition en monosaccharides de *Pleurotus ostreatus* montre l'absence de xylose ces résultats n'ont pas semblé être de nous résultats.

BOKHARY et al., (1987), ont indiqué la présence de glycérol, glucose, fructose, mannitol, l'inositol et le tréhalose dans les extraits solubles de *Tirmania pinoyi* et *Terfezia boudieri* qui sont déterminés par la chromatographie en phase gazeuse dont l'inositol est absent chez *Terfezia boudieri*.

WU et al., (2013) ont rapporté trois composants: l'acide glucuronique, le galactose et le glucose dans les polysaccharides hydrosolubles de *Pleurotus tuber regium sclerotia*, par contre **ZHANG et al., (2015)** ont montré que les compositions en monosaccharidiques de *Armillaria mellea* déterminées par chromatographie en phase gazeuse, contient de glucose, le D-xylose et le D-galactose.

Quatre sucres libres sont identifiés chez *Terfazia pinoyi* les quelles, ramnose, tréhalose, mannitol et fructose (STOJKOVIC et al., 2013), sachant que BOUKHARY et PARVEZ (1993) montre que les différentes fraction saccharidique existé chez *Terfazia claveryi* sont glucose, tréhalose, mannito le et fructose.

Selon HARKI et GHANMI (2014), le *Tuber oligospermum* et *Terfazia arenaria* présentant les mêmes fractions monosaccharidiques qui sont glucose, mannose et rhamnose, de même MIAO et al., (2011) ont signalés que les polysaccharides hydrosolubles des truffes chinoises sont constituées de glucose, galactose et mannose, et pour les constituants des polysaccharides de *Tuber melanosporum* dans les différentes stades de maturation identifiés par l'HPLC indique que le glucose est resté le principale sucre a un valeurs de 59% .

Il est remarqué la prédominance de glucose, ce qui a été remarqué dans les chromatogrammes par une tache très condensé et claire. Tandis que, la différence de composition en monosaccharides mineurs de point de vue quantitative pourrait expliquer par certains facteurs, tels que la saison de récolte, la procédure d'extraction, l'état écologique et physiologique, et le stade de maturation (SALTARELLI et al., 2008), de même peuvent être liées aux différentes méthodes d'analyses des échantillonnages, les constituants des polysaccharides sont facilement oxydés par des procédés chimiques et le temps et l'humidité peuvent affectés les résultats de caractérisation (WU et al., 2013).

La prédominance de glucose dans nos échantillons suggère que notre polysaccharide est un glucane.

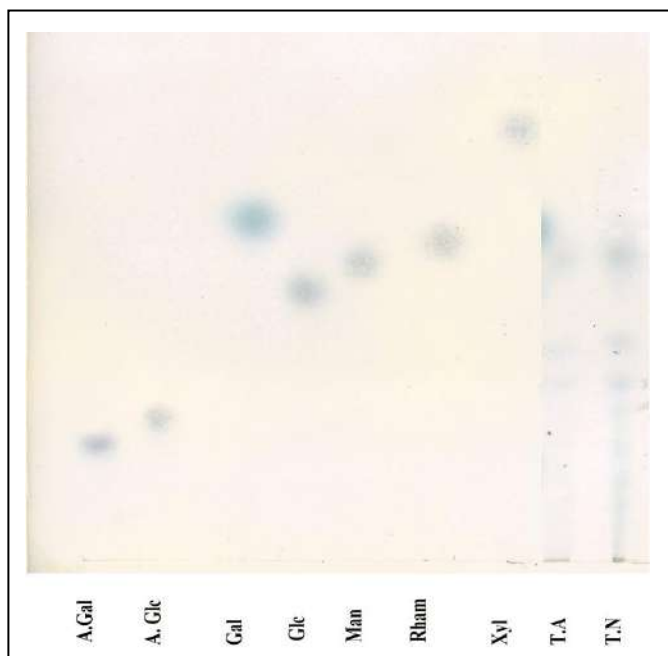


Figure 05:Chromatogramme des oses étalons et des échantillons de *Tirmanianivea* et *Terfaziaarenaria* du système (1)

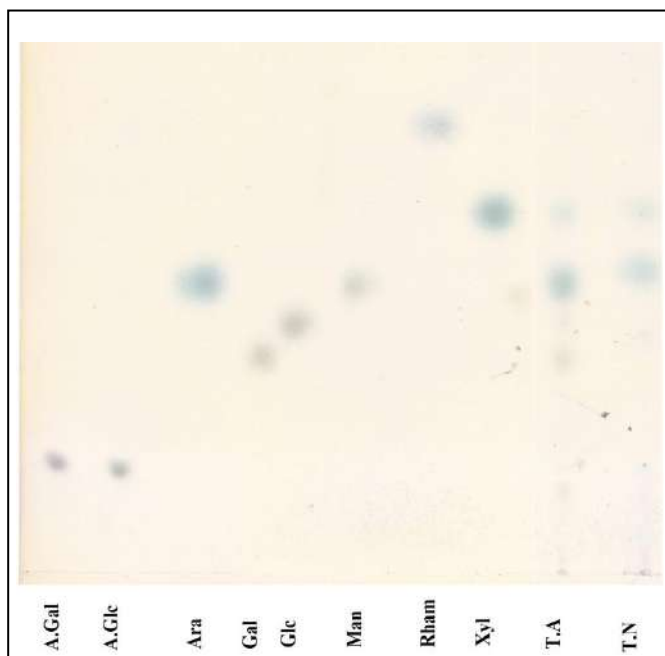


Figure 06:Chromatogramme des oses étalons et des échantillons de *Tirmanianivea* et *Terfaziaarenaria* du système (2)

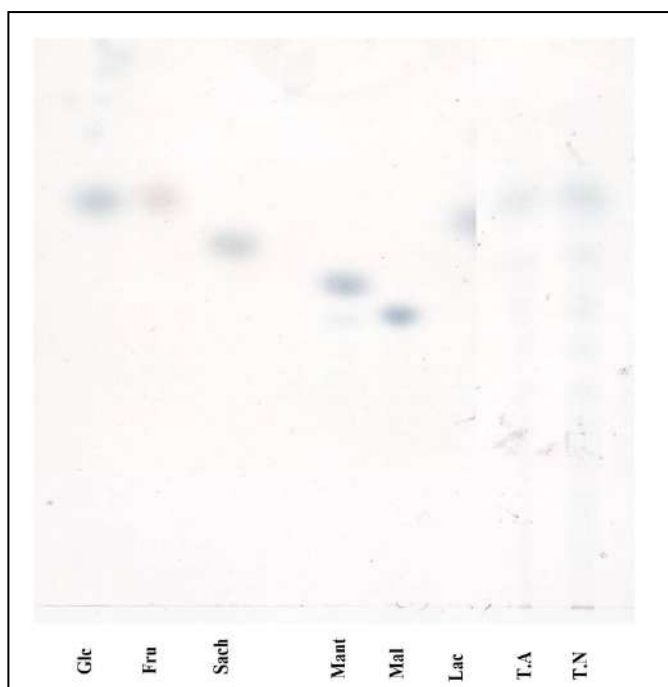


Figure 07:Chromatogramme des oses étalons et des échantillons de *Tirmanianivea* et *Terfaziaarenaria* du système (3)

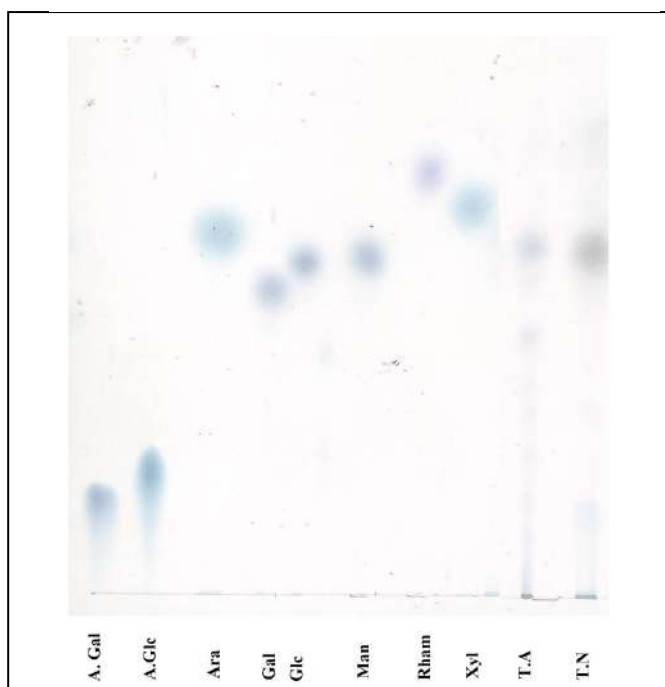


Figure 08: Chromatogramme des oses étalons et des échantillons de *Tirmanianivea* et *Terfaziaarenaria* du système (4)

III.4.- Activité antidiabétique de l'extrait polysaccharidique de *Tirmania nivea* et *Terfazia arenaria*

Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentages de l'inhibition de α -glucosidase, différentes concentrations d'acarbose et de l'extrait polysaccharidique de *Tirmania nivea* et *Terfazia arenaria* ont été testées. Les résultats sont consignés dans la figure 08

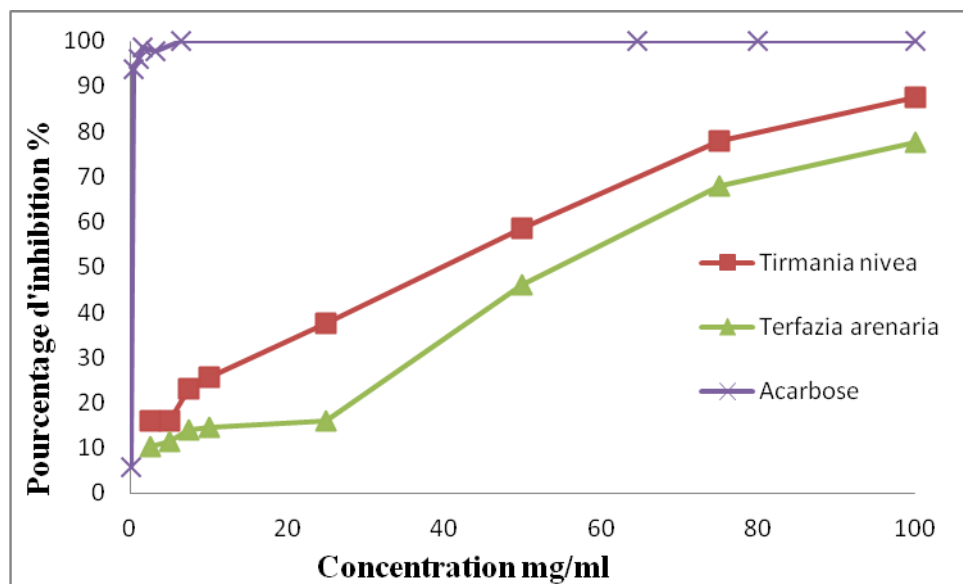


Figure 09: Cinétique enzymatique de l' α -glucosidase en présence de l'extrait polysaccharidique de *Tirmania nivea*, *Terfazia arenaria*, acarbose (Control+).

L'effet des inhibiteurs de l' α -glucosidase est généralement évalué *in vitro* par la détermination de l'activité inhibitrice de l' α -glucosidase utilisant le *p*-NPG comme substrat artificiel de la réaction (JAISWAL *et al.*, 2012).

Il est trouvé que certains types de polysaccharides de nourriture présentent dans certaines plantes médicinales ont un effet inhibiteur sur l' α -glucosidase (ZHANG *et al.*, 2015), mais jusqu'à présent il n'y a pas eu des études rapportées sur les effets des polysaccharides de *Terfazia arenaria* et *Tirmania nivea* sur l'activité de α -glucosidase.

De toute évidence, les polysaccharides de *Tirmania nivea* présente un potentiel d'inhibition plus forte que les polysaccharides de *Terfazia arenaria* à une concentration de 100 mg / ml dans lequel l'effet inhibiteur de ces polysaccharides sur l' α -glucosidase atteint un pourcentage de 85 % et 75 % respectivement, qui est significativement différente de celle de l'acarbose qui est de l'environ de 100 % dans les mêmes conditions expérimentales.

L'acarbose, un inhibiteur de l' α -glucosidase commercialement connu, a montré une forte activité inhibitrice contre α -glucosidase avec des valeurs IC_{50} de 2.154 μ g /ml (SULISTIYANI et al., 2016), par contre BISHT et al., (2013), notent que l'acarbose à un potentiel d'inhibition de l' α -glucosidase de 81,9 % à une concentration de 4 mg/ml.

L'extrait de *Ganoderma lucidum* présentait la meilleure activité inhibitrice dépendant de la dose contre l' α -glycosidase avec IC_{50} à 4,88 mg / ml (WU, 2015).

Le pourcentage d'inhibition de l' α -glucosidase du polysaccharide *Astragalus* et du polysaccharide et champignons d'huîtres est supérieur à 40% à la concentration en polysaccharides de 0,4 mg /ml ainsi que le IC_{50} du polysaccharide *Astragalus* et les polysaccharides aux champignons d'huîtres sont respectivement de 0,28 et 0,424 mg/ ml (ZY et al., 2014)

Une étude réalisée par ZHEN-YUAN et al., (2014), sur l'évaluation comparative de l'inhibition de l' α -glucosidase par des polysaccharides isolés à partir des racines d'*Astragalus membraneuseus* et les pleurotes a montré qu'à concentration de 0,4 mg/ml, l'inhibition de l' α -glucosidase atteindre un pourcentage d'inhibition de 66,2% et de 40,1% pour les polysaccharides d'*Astragalus* et les pleurotes, respectivement.

BISHT et al., (2013), a montré que les polysaccharides d'*Acacia tortilis* ont un pourcentage d'inhibition maximal de 76,77% à 5mg/ml.

Tandis que WANG et al., (2011), ont trouvé que les polysaccharides d'*Ampelopsis grossedentata* présentent une activité antidiabétique, les polysaccharides des feuilles d'*Ampelopsis grossedentata* ont un pourcentage d'inhibition de 78% à une concentration de

4mg/ml, alors que les polysaccharides de tiges d'*Ampelopsis grossedentata* montrent 32,80% d'inhibition à la même concentration.

HSU et al., (2013), ont montré qu'il n'y a aucune relation entre les composants chimiques des polysaccharides et l'activité inhibitrice de α -glucosidase. Cette observation a conduit que l'effet inhibiteur de l'enzyme peut être dépend à la structure du polysaccharide.

On peut conclure que les champignons ont un potentiel immense et peuvent être développés comme une thérapie antidiabétique efficace et sûre, bien que des études détaillées soient encore nécessaires pour l'isolement et la production de nouveaux composés antidiabétiques à partir de champignons (**KAUR et al., 2015**).

Conclusion

A travers la présente étude, nous avons pu mettre en évidence quelques paramètres liés à la composition chimique de la truffe du désert *Tirmania nivea* et *Terfazia arenaria* récoltée, dans la région du Sahara septentrional algérien. Ainsi, nous avons pu évaluer l'activité antidiabétique de l'extrait polysaccharidique.

Ce qu'il concerne l'extraction des polysaccharides et l'étude de la composition de l'extrait polysaccharidique en oses constitutifs, nous avons enregistré un rendement remarquable de 22 % et 55% pour *Tirmania nivea* et *Terfazia arenaria* respectivement, de polysaccharides hydrosolubles obtenu à partir du poids sec. L'analyse de l'extrait polysaccharidique fait sortir deux groupes d'oses : acides et neutres avec une dominance d'oses neutres a été remarqués. Ainsi, une quantité des protéines a été détecté dans l'extrait polysaccharidique de *Tirmania nivea* et *Terfazia arenaria* $8,25\pm 0,016$ et $7\pm 0,007$ respectivement.

L'étude de l'activité antidiabétique des polysaccharides de *Tirmania nivea* et *Terfazia arenaria* nous permis de les considérer comme des inhibiteurs de l' α -glucosidase, en raison de leur capacité de modifier leur cinétique enzymatique, aussi possèdent un pourcentage d'inhibition plus forte sur l' α -glucosidase.

En outre, l'effet thérapeutique de polysaccharides ne se limite pas à l'abaissement du sucre dans le sang, mais ils présentent également des propriétés anti-inflammatoires.

Au terme de ce travail il doit être validée l'effet hypoglycémiant de polysaccharides de *Tirmania nivea* et *Terfazia arenaria* dans des modèles *in vivo*, et avoir contribué à mettre en disponibilité des médicaments à base de champignons médicinaux efficaces et accessibles pour les traitements.

Bien que des études détaillées soient encore nécessaires pour l'isolement et la production de nouveaux composés antidiabétiques à partir de champignons.

Références bibliographiques

ABDUL MAJID A-M S., DAHHAM S-S., AL-RAWI S-S., IBRAHIM A-H., ABDUL MAJID A. S., 2016- Antioxidant, anticancer, apoptosis properties and chemical composition of black truffle *Terfezia claveryi*. Saudi Journal of Biological Sciences.

ABEDINI A., 2013- Evaluation biologique et phytochimique des substances naturelles d'hyptisatrorubenspoit (*Lamiaceae*), sélectionnée par un criblage d'extraits de 42 plantes, Thèse de doctorat. Université de Lille nord de France.

ACKERMAN L. G., VAN WYK P.L. DU PLESSIS L.M., 1975- Some aspects of the composition of the Kalahari truffle or N'abba. Since Arabia Food. Review, vol. 2(5): 145.

AFSHARI K., SAMAVATI V. et SHAHIDI S. A., 2015- Ultrasonic-assisted extraction and in-vitro antioxidant activity of polysaccharide from Hibiscus leaf. International Journal of Biological Macromolecules, vol.74: 558–567.

AHMED J., TAHER A., 2016- Effect of dring on rheological, thermal, and structural properties of desert truffles (*Terfazia claveryi*) powder dispersions, International journal of food properties, vol. 19: 395-408.

AHMED A-A., Mohamed M-A., Hamid M-A.,1981-Libyan truffles “*Terfezia boudieri* Chatin”, Chemical composition and toxicity. Journal Food Science, vol. 46 (3): 927-929.

AHMED j., 2013- Effect of pH and temperature on rheological and calorimetric behavior of the DECODE study group, European Diabetes Epidemiology Group, Diabetes Epidemiology: Collaborative analysis of diagnostic criteria in Europe. Glucose tolerance and mortality: comparison of WHO and American Diabetes Association diagnostic criteria, *Lancet*. 1999, vol. 354: 617-621.

ALAOUI A-B., 1993- Nature des polysaccharides issus du processus d'extraction du saccharose à partir de la bettrave, Thèse de doctorat, institut national polytechnique de lorraine.

AL-DAMEGH M-A., 2104- *Tirmania (Zubaidi)* and *Terfazia (Khallasi)* Fungi preparation method modulates body and testicular weights and blood and testicular testosterone concentration in Albino Rats, Journal of American science, vol., 10 (6).

AL-QARAWI, A-A., MRIDHA, M. A. U., ALGHAMDI, O-M., 2012- Diversity of Structural Colonization and Spore Population of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Some Plants from Riyadh, Saudi Arabia. Journal of pure and applied microbiology, 6(3), 1119-1125.

ALSHEIKH A. M., TRAPPE J. M., 1983a- Desert truffles: The genus *Tirmania*. Trans. Br. Mycol. Soc., vol. 8 (1): 83-90.

AUDIGIE C-L., DUPONT G., TONZAIN F., 1995- Chromatographie principes des méthodes d'analyses biochimiques. Tome 1, édition Doin, 207p.

AUDIGIE C-L., FIGARELLA J., ZONZAIN F., 1984- Manipulation d'analyse biochimique. Ed Doin, Paris, 84p.

AUTRAN J-C., 1991- Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires. Ed. Tec et Doc, Paris, 115-137p.

AWAMEH M-S., ALSHEIKH A., 1980a- Ascospore germination of black kame (*Terfezia boudieri*). Mycologia, vol. 72 (1): 50-54.

BADALYAN S., 2012- Medicinal aspects of edible ectomycorrhizal mushrooms, Soil biology 34, Chapter 18.

BRADAI L., BISSATI S., CHENCHOUNI H., 2014- Desert truffles of the Algerian Sahara: Diversity and bioecology, Emir. J. Food Agric, vol. 26(25): 425-435.

BEARA I., LESJAK M., CETOJEVIC-SIMIN D., MARJANOVIC Z., RISTIC J., MRKONJIC Z., MIMICA-DUKIC N., 2014- Phenolic profile, antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic activities of black (*Tuber aestivumvittad.*) and white (*Tuber magnatum Pico*) truffles, Food chemistry, vol. 165: 460-466.

BESSAH G., 1999 - Contribution à l'étude de la symbiose mycorrhizienne entre deux espèces de Terfez : *Terfezia claveryi*, *Terfezia boudieri* avec le pin d'Alpe (*Pinus halepensis Mill*) dans la région du Djelfa. Thèse Maj Institut National d'Agronomie EL-HARACH, 153 p.

BISHT S., KANT R., et KUMAR V., 2013- α -d-Glucosidase inhibitory activity of polysaccharide isolated from *Acacia tortili* sgumexudate, International Journal of Biological Macromolecules, Article original, vol. 59: 214– 220.

BOKHARY H- A., SARWAT P., 1993-Soil mycoflora from trufflè native areas of Saudi Arabia, mycologia, vol. 118, issue 2, 103-107.

BOKHARY H. A., SULEIMAN A. A., BASALAH M. O., PARVEZ S., 1987- Chemical Composition of Desert Truffles from Saudi Arabia. Food Science. Technology, vol. 20:336-341.

- BOKHARY H.A., 1987- Desert truffles "Al-Kemah" of the Kingdom of Saudi Arabia.1. Occurrence, identification and distribution. Arab Gulf. Journal of Science Research, vol. 5: 245-255.
- BOKHARY H.A., PARVEZ S., 1995-Studies on the chemical composition of the ascomycète fungus *Phaeangiumlefebvrei* Pat. J. King Saud Univ., 7; Science, vol. (2): 215-224.
- BOKHARY H-A., PARVEZ S., 1993-Chemical composition of desert truffle *Terfezia claveryi*. J. food Composition and analysis, vol. 6 (3): 285-293.
- BONIFACIO E., MORTE A., 2014-Désert Truffles phylogeny physiology, Distribution and Domestication, Soil Biology, Springer, Berlin, vol. 38: 57-67.
- BORDALLO J-J., RODRIGUEZ A., KAOUNAS V., CAMELLO F., HONRUBAI M., MORTE A., 2015- Two new *terfazia* species from southern Europe, Phytotaxa, vol. 230(3): 239-249.
- BOUAL Z., 2014- Caractérisation physico-chimique des polysaccharides de quelques plantes spontanées à caractère médicinal récoltées dans la région de Ghardaïa (Sahara Septentrional Est algérien): Activité biologique. Thèse en vue d'obtention de grade Doctorat, université d'Ouargla, 219p.
- BOUAL Z., KEMASSI A., HAMID OUDJANA A., MICHAUD P., OULD EL HADJ M. D., 2013a- Caractérisation partielle des polysaccharides hydrosolubles des feuilles de *Malvaparvi flora* L. (*malvacées*): activité prébiotique. Journal of Lebanese Science, vol. 14: 2.
- BOUAL Z., KEMASSI A., MICHAUD P., OULD EL HADJ M. D., 2011- Caractérisation partielle des polysaccharides hydrosolubles des feuilles d'*asphodelus tenuifoliuscavan* (Liliaceae): effet prébiotique des oligosaccharides issus de l'hydrolyse des polysaccharides. Algerian journal of arid environment, vol. 1: 52-60.
- BOUAL Z., PIERRE G., DELATTRE C., BENAOUN F., PETIT E., GARDARIN C., MICHAUD P., OULD ELHADJ M. D., 2015- Mediterranean semi-arid plant *Astragalus armatus* as a source of bioactive galactomannan. Bioactive carbohydrate and dietary fibre, vol. 5:10-18.
- BRADAI L., 2006- contribution à l'étude bioécologique de la truffe blanche de désert (Terfeziasp) cas de la région de Oued Mya (Ouargla).Thèse de Magister. Univ .Kasdi Merbah, Ouargla. 123p.

BRADAI L., 2014- Inventaire et bio-écologie des Terfez dans quelques régions du Sahara septentrional (Oued M'ya, Oued Righ et Ghardaïa), Thèse de doctorat, Es Sciences université Kassdi Merbah Ouargla, Algérie, 16 p.

BRADAI L., BISSATI S., CHENCHOUNI H., 2013- Etude mycologique et bioécologique de la truffe blanche du désert (*Tirmania nivea* Desf. Trappe 1971) dans la région d'Oued M'ya (Ouargla, Sahara algérien). Revue des Bioressources, Article original, vol. 3(1), 6-14.

BRADAI L., NEFFAR S., AMRANI K., BISSATI S. ET CHENCHOUNI H., 2015- Ethnomycological survey of traditional usage and indigenous knowledge on desert truffles among the native Sahara Desert people of Algeria. Journal of Ethnopharmacology, vol. 162: 31–38.

BRADFORD M-M., 1976- A Rapid and Sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-Dye binding. Analytical biochemistry, vol. 72: 248-254.

CAI W., XU H., XIE L., SUN J., SUN T., WU X., FU Q., 2016- Purification, characterization and in vitro anticoagulant activity of polysaccharides from *Gentiana scabra* roots, Carbohydrate polymers, vol. 140, 308-313.

CAI W., XU H., XIE L., SUN J., WU X., FU Q., 2015- Purification, characterization and in vitro anticoagulant activity of polysaccharides from *Gentiana scabra* Bunge roots, Carbohydrate polymers, Article original China, 22pp.

CHEN H-X., ZHANG M., QU Z., XIE, B., 2008- Antioxidant activities of different fractions of polysaccharide conjugates from green tea (*Camellia Sinensis*). Food chemistry, Article original, vol. 106 (2): 559-563.

CHEUNG L. M., CHEUNG C. K., OOI V .C., 2003- Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. Food Chem, vol. 81: 249-255 International Journal of Biological Macromolecules, vol. 65: 28–32.

CHIDOUH A., AOUADI S., HEYRAUD A., 2014- Extraction, fractionation and characterization of water-soluble polysaccharide fractions from myrtle (*Myrtus communis* L.) fruit. Food Hydrocolloids, vol. 35: 733-73.

CLAISSE N., 2006- Préparation et modification d'oligosaccharides de cellulose par chimie douce bio-inspirée, Thèse de doctorat, université Grenoble, en chimie organique.

DAHAM S. S., AL-RAWI S. S., IBRAHIM A. H., MAJID A. S. A., MAJID A. M. S. A., 2016- Antioxidant, anticancer, apoptosis properties and chemical composition of black truffle *Terfezia claveryi*, Saudi Journal of Biological Sciences, Article original, vol. 01-31.

DAVID J-H., HAZEL P., 1998- Analytical biochemistry, 3ème Edition. Ed. Prentice Hall, Angleterre, 336p.

DE D., HYDE K-D., BAHKALI A., RAPIOR S., 2012- Medicinal mushrooms in prevention and control of diabetes mellitus, Diversité fongique, vol. 56 (1): 1-29.

DELATTRE C., 2005- Stratégie d'obtention d'oligosaccharides anioniques par dégradation enzymatique de glucuronanes. Thèse Doctorat d'université de Picardie Jules Verne, Amiens: 52-83p.

DIB S., 2012- Etude de pouvoir antimicrobien et mycorhizien de deux espèces de Terfez : *Tirmaniapinoi* (Maire) Malençon et *Terfezia leptoderma* Tul., Thèse de Doctorat, Université d'Oran Es-Senia, Algérie, 205p.

DIEZ J., MANJON J-L., MARTIN F., 2002- Molecular phylogeny of the mycorrhizal desert truffles (*Terfezia* and *Tirmania*) host specificity and edaphic tolerance. Mycologia, vol. 94 (2): 247-259.

DOHOU N., YAMNI K., TAHROUCH S., HASSANI M., BADOUC A., GMIRA N., 2003- screening phytochimique d'une endémique berbéro-marocaine, thymelaeales, faculté des sciences pharmaceutiques, université victor-segalen bordeaux 2, vol. 142: 61-78.

DU B., LIN C., BAIN Z., XU B., 2014- An insight into anti-inflammatory effects of fungal beta-glucan, Trends in food science and Technology, 111p.

DUBOIS, M., GILLES, K-A., HAMILTON, J-D., REBERS P-A., SMITH F., 1956- Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal. Chem., vol. 28: 350-356.

DUNDAR A., YESIL O-F., ACAY H., OKUMUS V., OZDEMIR S., YILDIZ A., 2012- Antioxidant properties, chemical composition and nutritional value of *Terfezia boudieri* Chatin, Turk. Food Science Technology. Int., vol. 18(4):317-328.

EBRINGEROVA A., HRIBALOVA V. et HARDING S.E., 2008- In vitro cytostatic and immunomodulatory properties of the medicinal mushroom *Lentinula edodes*. Phytomedicine, vol.15: 512-519.

EI ENSHASY H. A., HATTI-KAUL R., 2013- Mushroom immunomodulators: unique molecules with unlimited applications. Trends in Biotechnology, 31-12p.

FELLER C., JEANSON P., GIUMMELLY P., BONALY P., 1991- Comparaison de différentes méthodes d'hydrolyse acide en vue du dosage des glucides totaux dans les sols, science du sol, vol. 29 (1): 13-22.

FERDMAN Y., AVIRAM S., ROTH-BEJERANO N., TRAPPE J-M., KAGAN-ZUR V., 2005- Phylogenetic studies of *Terfezia pfeilii* and *choiromyces echinulatus* (Pezizales) support new genera for southern Africa truffles: Kalahari tube and *Eremiomyces*, Mycol, Res, vol. 109(2): 237-245.

FERDMAN Y, SITRIT Y, LI Y-F, ROTH-BEJERANO N, KAGAN-ZUR V., 2009- Cryptic species in the *Terfezia boudieri* complex. A van Leeuw J Microb 95:351–362.

FORTAS Z., BELAHOUEL-DIB S., 2006- Extraction des substances bioactives des terfez d'Algérie et mise en évidence de leur activité antimicrobienne. Revue des régions arides, Numéro spécial, actes du séminaire international, les plantes à parfum, Aromatiques et médicinales.

FORTAS Z., 1990- Etude de trois espèces de Terfez: caractères cultureux et cytologie de mycélium isolé et associé à *Helianthemum gutatum*. Thèse de Doctorat d'état. Université d'Es-Sénia (Oran), 166p.

FORTAS Z., 2009- Diversité des espèces de terfez (truffes des sables) des zones arides algériennes. Séminaire international: Protection et préservation des écosystèmes sahariens « Ouargla », 51p.

FORTAS Z., CHEVALIER G., 1992 b- Effet des conditions de culture sur la mycorhization de l'*Helianthemum guttatum* par trois espèces de terfez des genres *Terfezia* et *Tirmania* d'Algérie. Can. Journal of Botanic, vol.70: 2453-2460.

GHEDADBA N., HAMBABA L., ABERKANE M- C., Oued-Mokhtar S. M. , BOUSSELSA F-H., 2014- Évaluation de l'activité hémostatique *in vitro* de l'extrait aqueux des feuilles de *Marrubium vulgare* L. *Algerian Journal of Natural Products*, vol. (2):2, 64-74p.

GY S., BARBOSA F-S., WELE A., GUEYE P-M., GUEYE C-D., Cisse A., DIEYE A-M., BASSENE E., FAYE B., 2008 -activité anti-hyperglycémique de la fraction f2 de l'extrait total acétonique de feuilles de *vernonia colorata* (composeae), Pharmacopée et médecine traditionnelle africaines, article original, vol. 15 : 6 - 10

HAMZA A, ZOUARI N, ZOUARI S, JDIR H, ZAIDI S, GTARI M, NEFFATI M., 2013- Nutraceutical potential, antioxidant and antibacterial activities of *Terfeziaboudieri* Chatin, a wild edible desert truffle from Tunisia arid zone. *Arabian Journal of Chemistry*, vol. 1878-5352.

HAMZA A., JDIR H., ZOUARI N., 2016- Nutritional, antioxidant and antibacterial properties of *Tirmania nivea*, a wild edible desert truffle from Tunisia arid zone, *Research article, Medicinal and aromatic plants*, vol. 5-4.

HANIQUE B., BANDIN B., LEFEBORE P., 2008- Appareils et méthodes en biochimie et biologie moléculaire. *Chromatographie planaire*, Flammarion. Chapitre 15.

HARKI E., BOUYA D., DARGENT R., 2006- Maturation-associated alterations of the biochemical characteristics of the black truffle *Tuber melanosporum* Vitt. *Food Chemistry*, vol. 99: 394-400.

HARKI E., GHANMI M., 2014- Chromatographic investigation of sugars and lipids from *Tuber oligospermum* and *Terfezia arenaria*, *Moroccan J. Biol.* vol. 11: 10-16.

HIFNAWY M-S., AZZAM S.M., SOLIMAN S-N., SHAHEED I-B., ABDEL LATIF S-M., 2001-Egyptian desert truffles, androgenic natural product, possibility of abusing in sport. In: *Recent advances in doping analysis*, Eds., W Schänzer, H Geyer, A Gotzmann, U Mareck-Engelke, Sport und buchstraub, koln, 299-303 pp.

HSU W-K., HSU T-H., LIN F-Y., CHENG Y-K YANG J-P., 2013-Separation, purification, and α -glucosidase inhibition of polysaccharides from *Coriolus versicolor* LH1 mycelia, *Carbohydrate Polymers*, vol. 92: 297–306.

HUANG S-Q., LI J-W., WANG Z., PAN H-X., CHEN J-X., NING Z-X., 2010-optimization of alkaline extraction of polysaccharides from *Ganoderma lucidum* and their effect on immune function in mice, *journal of molecules*, vol. 15: 3694-3708.

HUSSAIN G., AL- RUQAIE I. M., 1999- Occurrence, chemical composition and nutritional value of truffles, an overview. *Pak. Journal of Biology Science*, vol. 2 (2): 510-514.

HWANG H., KIM S., LIM J., JOO J., KIM H.M., KIM H.O., YUN J., 2005-Hypoglycemic effect of crude exopolysaccharides produced by a medicinal mushroom *Phellinus baumii* in streptozotocin-induced diabetic rats, *Life sciences*, vol. 76, 3069-3080.

IBANEZ M-C., FERRERO C., 2003- Extraction and characterization of the hydrocolloid from *Prosopis flexuosa* DC seeds. *Food Research International*, vol. 36: 455– 460.

- JAMALI S., 2014- Taxonomy of the truffles, Plant science today, mini review, vol. 1(4): 219- 222.
- JANAKAT S. M., AL-FAKHIRI S. M., SALLAL A. K., 2005-Evaluation of antibacterial activity of aqueous and methanolic extracts of the truffle *Terfezia claveryi* against *Pseudomonas aeruginosa*, journal of Saudi Med, vol. 26(6):952–955.
- JANEX-FAVRE, M-C., PARGUEY-LEDUC, A., RIOUSSET, L., 1988- L'ascocarpe hypoge d'une terfezFrancaise (*TerfezialesptodermaTul.*, Tuberales, Discomycetes). Bulletin trimestriel de la Sociétymycologique de France, 104(3), 145-178.
- KAGAN-ZUR V., 1998-Terfezias a family of mycorrhizal edible mushrooms for arid zones. 2nd International Conf. on Mycorrhiza (ICOM 2), Uppsala (Sweden).
- KAGAN-ZUR V., ROTH-BEJERANO N., 2008b- Desert truffles. *Fungi*, vol. 1(3): 32-37.
- KAGAN-ZUR V., ROTH-BEJERANO N., SITRIT Y., MORTE A., 2014- Desert Truffles (Phylogeny, Physiology, Distribution and Domestication), Springer-Verlag Berlin Heidelberg, India, Article original, 38p.
- KAGAN-ZUR V., ZARETSKY M., SITRIT Y., ROTH-BEJERANO N., 2008-Hypogeous pezizaceae: physiology and molecular genetics. Ed. A. Varma, *Mycorrhiza*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 161-183 pp.
- KAUR A., DHINGRA S.G., SHRI R., 2015- antidiabetic potential of mushrooms, *Asian Journal of pharmaceutical research*, Vol. 5:111-125
- KAZEEM M- I., OGUNBIYI J- V., ASHAF A- O., 2013- *In vitro* Studies on the Inhibition of α -Amylase and α - Glucosidase by Leaf Extracts of *Picalima nitida* (Stapf), *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* October , vol. 12 (5): 719-725.
- KERMANI I., 2013- Mycorrhizationcontrolée d'une Cistacée pérenne par les terfezen conditions gnotoxéniques et essai de transplantation sur le terrain. Thèse de Magister, université d'Oran, 115p.
- KHABAR L., 2002-Etudes pluridisciplinaires des truffes du Maroc et perspectives pour l'amélioration de production des « Terfess » de la forêt de la Mamora, Thèse Doctorat d'Etat, Université de Mohamed V– Agdal, Rabat (Maroc), 167p.
- KHABAR L., NAJIM L., JANEX-FAVRE M. C., PARGUEY-LEDUC A., 2001- Contribution à l'étude de la flore mycologique du Maroc : Les truffes marocaines, (Discomyètes). *Bull.Soc. Mycol. Fr.*, vol. 117 (3): 213-229.

KHABAR L., NAJIM, L., JANEX-FAVRE, M. C., PARGUEY-LEDUC, A., 1994- L'ascocarpe de *Terfezia leonis* Tul. (Discomycètes, Tubérales). *Cryptogamie. Mycologie*, 15(3), 187-206.

KHAJASTCH S.M.B., AMIRI L., SHCIKHZADEH F., 2013- Effect of the alcoholic extract of *Terfaziaboudieri* on reproductive hormones in male rats, *International Journal of pharmacy and Biological Science*, vol. 3(2):517-522.

KHANAQA A., 2005- Truffle production in the Kingdom of Saudi Arabia – potential and limitation. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, vol. 80: 14 – 18.

KOVACS G-M., TRAPPE J-M., 2014- Nomenclatural History and Genealogies of Desert Truffles, in *Desert Truffles* Springer Berlin Heidelberg, 21-37 pp.

LAESOE T., HANSEN K., 2007- Truffle trouble: what happened to the tuberales ?, *Mycological research*, vol. 111, 1075- 1099.

LALEYE O-A-F., AHISSOU H., A- P., OLOUNLADE , E- V- B., LALEYE A., 2015- Etude bibliographique de trois plantes antidiabétiques de la flore béninoise: *Khayasenegalensis* (Desr) A. Juss (Meliaceae), *Momordicacharantia* Linn, *Int. Journal of. Biology and Chemistry Science* vol. 9(5): 2682-2700.

LE HOUEROU H-N., 1990-Définition et limites bioclimatiques du Sahara. *Sécheresse*, vol. (1) : 246-259.

LEATITIA A-R- N., KOUAKOU J- C- A., SERGE A., MOUSSA G., ANGOUE P-Y., ETIENNE E- E., 2015- Effets hypoglycémique et anti-hyperglycémique de l'extrait ethanolique 70 % de racines de *rauvolfia vomitoria* afzel (apocynaceae), *European Scientific Journal*, vol. 11, No.6 ISSN: 1857 – 7881 (Print) e - ISSN 1857- 7431

LIU M., ZHANG W., JIANTENG W., XIUKUN L., 2011-Synthesis and α -Glucosidase Inhibitory Mechanisms of Bis(2,3-dibromo-4,5-dihydroxybenzyl) Ether, a Potential Marine Bromophenol α -Glucosidase Inhibitor, *Mar. Drugs*, vol. 9, 1554-1565.

LIU R., LI D., LI H., TANG Y., 2008-Response surface modeling the significance of nitrogen source on the cell growth and Tuber polysaccharides production by submerged cultivation of chinese truffle *Tuber sinense*, *Process biochemistry*, 868-876 p.

LOUCIF K., 2011- Recherche des substances antimicrobiennes a partir d'une collections des souches d'actinomycètes, caractérisation préliminaire de molécules bioactives, mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Magister en microbiologie, université Mentouri-Constantine : 21p.

LU X-J., 2004- The extraction technology and equipment of Traditional Chinese medicine, Chemical Industry Press, Beijing. 1st edition.

LUO Q., ZHANG J., YAN L., TANG Y., DING X., YANG Z., SUN Q., 2011- Composition and antioxidant activity of water-soluble polysaccharides from *Tuber indicum*. Journal of medicinal food, vol. 12: 1609–1616.

MANDAVILLE J.P., 2011- Bedouin ethnobotany: plant concepts and uses in a desert pastoral world. University of Arizona, Press, 325 p.

MANGAMBU M., Jean d-D., MUSHAGALUSA K-F., KADIMA N- J., 2014- Contribution à l'étude photochimique de quelques plantes médicinales antidiabétiques de la ville de Bukavu et ses environs (Sud-Kivu, R.D.Congo). Journal of Applied Biosciences, vol. 75:6211– 6220.

MEKAWAY A.A.I., 2015- *Terfaziaboudieri* as sources of anti-tumor and antiviral agent, World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences, vol. 4(5): 294-315.

MIAO Y. Z., LIN Q., CAO Y., HE G. H., QIAO D. R., CAO Y., 2011- Extraction of water-soluble polysaccharides (WSPS) from Chinese truffle and its application in frozen yogurt, Carbohydrate Polymers, vol. 86: 566– 573.

MOURADI A., CHIKHAOUI M., FEKHAOU M., AKALLAL R., GUESSOUS A., et GIVERNAUD T., 2006-Variabilité interspécifique de trois algues rouges : *Hypnea usciformis*, *Gracilaria multipartita* et *Gelidium sesquipedale* (Rhodophycées) de la côte atlantique marocaine. Afrique Science : Revue Internationale des Sciences et Technologie, vol. 2(3).

MURCIA M-A., MARTINEZ M., VERA A., Morte A., GUTIERREZ A., HONRUBIA M., JIMENEZ A. M., 2003-Effect of industrial processing on desert truffles (*Terfezia clavaryi* Chatin and *Picoa juniperi* Vittadini), Proximate composition and fatty acids. Journal of Science Food Agric., vol. 83 (6): 535-541.

NAIR S-S., KAVREKAR V., MISHRA A., 2013- In vitro studies on alpha amylase and alpha glucosidase inhibitory activities of selected plant extracts, European journal of experimental biologie, vol. 3(1): 128-132.

PATEL S., 2012-Food, health and agriculture importance of truffles: a review of current scientific literature, Curr Trends Biotech Pharm, vol. 6(1):15–27.

PAULSEN B-S., OLAFSDOTTIR E-S., INGOLFSDDOTTIR K., 2002- Chromatography and electrophoresis in separation and characterization of polysaccharides from lichens. Journal of chromatography, vol. 967: 163-171.

PEGLER D- N., 2002- Useful Fungi of the World: the 'Poor man's tuffles of Arabia' and 'Manna of the Israelites'. Mycologist, 16(1), 8-9.

PIERRE G., 2010- Caractérisation biochimique d'exopolymères d'origine algale du bassin de Marennes-oléron et étude des propriétés physico-chimiques de surface de microorganismes impliqués dans leur adhésion, thèse de doctorat, université de La Rochelle.

POONGUNRAN J., PERERA H-K- I. FERNANDO W- I-T., JAYASINGHE L., SIVAKANESAN R., 2015- α -Glucosidase and α -Amylase Inhibitory Activities of Nine Sri Lankan Antidiabetic Plants, British Journal of Pharmaceutical Research, vol. 7(5): 365-374, Article, BJPR. 118 ISSN: 2231-2919.

QIAN J-Y., BAI Y-Y., TANG J., CHEN W., 2015.- Antioxidation and α -glucosidase inhibitory activities of barley polysaccharides modified with sulfation. LWT- Food Science and Technology. Vol. 64:104-111.

RAJESWARI P., KRISHNAKUMARI S., 2013- potent antihyperglycaemic activity of *calocybeindica* streptozotocin induced diabetic rats antihyperglycemic activity of *calocybeindica*, International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Vol. 5, Issue 2, 512-515.

ROY N.D., AZAD A.K.,SHARMIN R.,ANISUZZAMAN A.S.M.,KHONDKAR P.,2015- comparison on hypoglycemic effect of oyster (*pleurotusosteratus*) and reishi(*ganodermaalucidum*) mushroom in alloxan induced diabetic mice, International Journal of Phytopharmacy, Vol 5 :42-46

RUIZ G., 2005- Extraction, détermination structurale et valorisation chimique de phycocolloïdes d'Algues Rouges. Thèse de Doctorat d'Université De Limoges, France: 38-189p.

SALEHI P., ASGHARI B., ESMAEILI M- A., DEGHAN H., GHAZI I., 2013- α -Glucosidase and α -amylase inhibitory effect and antioxidant activity of ten plant extracts traditionally used in Iran for diabetes, Journal of Medicinal Plants Research, Vol. 7(6), 257-266 pp.

SALMA A., GORAI M., FORTAS Z., BOUDABOUS A., 2012- Growth, root colonization and nutrientstatus of *Helanthenum sessiliflorum* Desf, Inoculated with a desrt truffle *Terfezia boudier* chatin, Saudi journal of biologie science, vol. 19, 25-29.

SALTARELLI R, CECCAROLI P, CESARI P, BARBIERI E, et STOCCHI V, 2008- Effect of storage on biochemical and microbiological parameters of edible truffle species, Food Chemistry, Article original, vol. 109, 8-16.

SANCHEZ M-P., 2006- Polysaccharides ayant une activite immunomodulatrice chez les champignons indigènes du Québec. Thèse en vue d'obtention de grade doctorat, Université Laval de Québec, 119p.

SARITHA KV., PRAKASH B., KHILARE VC., KHEDKAR GD., MOHAN REDDY Y., KHEDKAR CD., 2016- Mushrooms and Truffles: Role in the Diet, Encyclopedia of Food and Health, Article original, Vol.07.

SAWAYA W. N., AL-SHALHAT A., AL-SOGAIR A., AL-MOHAMMAD, M., 1985- Chemical composition and nutritive value of truffles of Saudi Arabia. Journal of Food Science, Article original, vol. 50(2), 450-453.

SHAVIT E., 2008-Truffles Roasting in the Evening Fires: Pages from the History of Desert Truffles. Medicinal mushrooms, vol. 3 (1): 18-23.

SHAVIT E., SHAVIT E., 2014- The Medicinal Value of Desert Truffles. Springer Berlin Heidelberg, 323-340 p.

SINE J.P., 2003- Biochimie-biologie: séparation des molécules, Ellipses, Paris, vol.108-115.

SINGDEVSACHAN S-K., AUROSHREE P., MISHRA J., BALIYARSINGH B., TAYUNG K., THATOI H., 2016- Mushroom polysaccharides as potential prebiotics with their antitumor and immunomodulating properties, A review. Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre, vol.7:1-14.

SLAMA A., FORTAS Z., BOUDABOUS A., NEFFATI M., 2014- Study on ascospores germination of a Tunisian desert truffle, *Terfeziaboudieri* Chatin, J. Mater. Environ. Sci., Tunisie, Article original, Vol. 1902-1905.

SLAMA A., GORAI M., FORTAS Z., BOUDABOUS A., NEFFATI M., 2012- Growth, root colonization and nutrient status of *Helianthemum sessiliflorum* Desf. inoculated with a desert truffle *Terfeziaboudieri* Chatin. Saudi Journal of Biological Sciences, vol. 19: 25-29.

SLAMA A., NEFFATI M., 2004- Les truffes de la Tunisie méridionale: Etude écologique et mycologique. Revue des régions arides, vol. 15: 3-52.

SOUZA S-P., LUCIANA L., PEREIRA S., ALLINE A., SOUZA C-D., SANTOS D., 2011-Inhibition of pancreatic lipase by extracts of *Baccharis trimera*: evaluation of antinutrients and effect on glycosidases, *Revista Brasileira de Farmacognosia*

STOJKOVIĆ D., REIS F-S., BARROS L., GLAMOČLIJA J., ĆIRIĆ A., NIKOLIĆ M., STEVIĆ T., GIVELI A., SOKOVIĆ M., 2013-Tirmania pinoyi: Chemical composition, in vitro antioxidant and antibacterial activities and in situ control of *Staphylococcus aureus* in chicken soup, Food Research International, Vol. 53, Issue 1, 56–62 P.

SULISTIYANI, MEGA S., YOANA P., 2016-Inhibition of α -glucosidase activity by ethanolic extract of *Melia azedarach* L. leaves, IOP Publishing, Series: Earth and Environmental Science, vol. 31,012025.

SY Y., BARBOSA F-S., WELE A., GUEYE P-M., GUEYE CD., Cisse3 A., DIEYE AM., BASSENE E., FAYE B., 2008- activite anti-hyperglycemiante de la fraction f2 de l'extrait total acetonique de feuilles de *vernonia colorata* (composeae), Article original, *Pharmacopée et Médecine Traditionnelle Africaines*, vol.15 : 6 – 10.

TANG Y., ZHU L., LIU R., LI H., LI D., MI Z., 2008- Quantitative response of cell growth and Tuber polysaccharides biosynthesis by medicinal mushroom Chinese truffle *Tuber sinense* to metal ion in culture medium, *Bioresource technology*, vol. 99, 7606-7615.

TELAGRI M., HULLATTI K., 2015- in vitro alpha amylase and alpha glucosidase inhibitory activity of *Adiantum caudatum* Linn. And *Celosia argentea* Linn. Extracts and fractions, *Journal List, Indian J. pharmacol*, Vol. 47(4): 425-429.

TOGOLA A., INNGJERDINGEN M., DIALLO D., BARSETT H., ROLSTAD B., MICHAELSEN T. E., PAULSEN B. S., 2008a- Polysaccharides with complement fixing and macrophage stimulation activity from *Opiliaceltidifolia*, isolation and partial characterization. *Journal of ethno-pharmacology*, vol.115: 423–431.

TOGOLA A., NAESS K-H., DIALLO D., BARSETT H., MICHAELSEN T-E., PAULSEN B-S., 2008b- A polysaccharide with 40% mono-O-methylated monosaccharides from the bark of *Cola cordifolia* (Sterculiaceae), a medicinal tree from Mali (West Africa). *Carbohydrate Polymers*, vol.73: 280–288.

TRAPPE J. M., 1971- A synopsis of the Carbomycetaceae and Terfeziaceae (Tuberales). *Trans. Br, Mycol, Soc*, vol. 57: 85-92.

TRAPPE J-M., 1979-The orders, families and genera of hypogeousAscomycotina (Truffles and their relatives). *Mycotaxonmy*, vol. 9: 297-340.

VAMANU E., 2012- Biological activities of the polysaccharides produced in submerged culture of two edible *Pleurotostreatus* mushrooms. Bio Med Research International, Article original.

VAMANU E., 2012- *In Vitro* Antimicrobial and Antioxidant Activities of Ethanolic Extract of Lyophilized Mycelium of *Pleurotus ostreatus* PQMZ91109, *Molecules*, vol. 17, 3653-3671.

WANG P. C., ZHAO S., YANG B. Y., WANG Q. H. et KUANG, H. X., 2016- Anti-diabetic polysaccharides from natural source: A review, *Carbohydrate Polymers*, vol. 148 : 86-97.

WANG S., MARCONE M. F., 2011.- The biochemistry and biological properties of the world's most expensive underground edible mushroom: Truffles. *Food Research International*, vol. 44: 2567–2581.

WE G-H., HU T., HUANG Z-L., JIANG J., 2013- Characterization of water and alkali soluble polysaccharides from *Pleurotus tuber-regium sclerotia*, *carbohydrate polymers*, vol. 96: 284-290.

WU C., SHEN J., HE P., CHEN Y., LI L., ZHANG L., LI Y., FU Y., DAI R., MENG W., DENG Y., 2012-The alpha-Glucosidase Inhibiting Isoflavones Isolated from *Belamcanda chinensis* Leaf Extract, *Rec. Nat. Prod.* article original, Vol. 6: 2 110-120.

WU G. H., HU T., HUANG Z. L., et JIANG J. G., 2013- Characterization of water and alkali-soluble polysaccharides from *Pleurotus tuber-regiumsclerotia*. *Carbohydrate polymers*, vol. 96: 284-290.

WU T., 2015- antidiabetic and antioxidant activities of eight medicinal mushroom species from china, *international journal of medicinal mushrooms*, Vol 17, Issue 2

XIE G., QIN F., ZHU S., LOUZGUINE-LUGZIN D-V., 2014- Corrosion behaviour of porous Ni-free Ti-based bulk metallic glass produced by spark plasma sintering in Hanks' solution. *Intermetallics*, vol. 44: 55-59.

YANG C., GUAN J., ZHANG J. S., LI S. P., 2010- Use of HPTLC to differentiate among the Crude polysaccharides in six traditional chinese medicines. Institute of chinese medical Sciences, University of Macau, Macau SAR, China. *Journal of Planar Chromatography*, vol. 23: 1-46.

ZHANG A., LI X., XING C., YANG J., SUN P., 2014.- Antioxidant activity of polysaccharide extracted from *Pleurotuseryngiusing* response surface methodology, International Journal of Biological Macromolecules, vol.65: 28–32.

ZHANG J. G., LIU Q., LIU Z. L., LI L., YI L. T., 2015.- Anti hyperglycemic activity of *Anoectochilusroxburghi* polysaccharose in diabetic mice induced by high-fat diet and streptozotocin. Journal of Ethnopharmacology, vol. 164: 180-185.

ZHANG S., LI X., 2015- Inhibition of α -glucosidase by polysaccharides from the fruit hull of *Camellia oleifera* Abel, Article original, Carbohydrate Polymers, Vol. 38–43.

ZHANG S., LIU X., YAN L., ZHANG Q., ZHU J., HUANG N., et Z. WANG, 2015- Chemical Compositions and Antioxidant Activities of Polysaccharides from the Sporophores and Cultured Products of *Armillariamellea*,Molecules, Article original, vol.20:5680-5697.

ZHAO C. H., ZHAO L., LI C.H., YANG L., YAO L., FU Y., HE X., SHI K., LU Z., 2015 - Optimized extraction of polysaccharides from *Taxuschinensis* var. Mairei fruits and its antitumor activity. International Journal of Biological Macromolecules, vol. 74: 192–198.

ZHAO W., CHAI D., LI H., CHEN T., TANG., 2014- Significance of metal ion supplementation in the fermentation medium on the structure and anti-tumor activity of *Tuber* polysaccharides produced by submerged culture of *Tuber melanosporum*, Process Biochemistry, vol. 49, 2030-2038.

ZHU Z-Y., LUO Y., DONG G-L., REN Y.Y ., CHEN L-J ., GUO M-Z ., WANG X .T ., YANG X.Y ., ZHANG Y ., 2016 - Effects of the ultra-high pressure on structure and α -glucosidase inhibition of polysaccharide from *Astragalus*. International Journal of Biological Macromolecule, vol. 87: 570–576.

ZHU Y., LI Q., MAO G., ZOU Y., FENG W., ZHENG D., WANG W., ZHOU L., ZHANG T., YANG J., YANG L., et WU X., 2014.- Optimization of enzyme assisted extraction and characterization of polysaccharides from *Hericiumerinaceus*. Carbohydrate Polymers, vol. 101: 606-613.

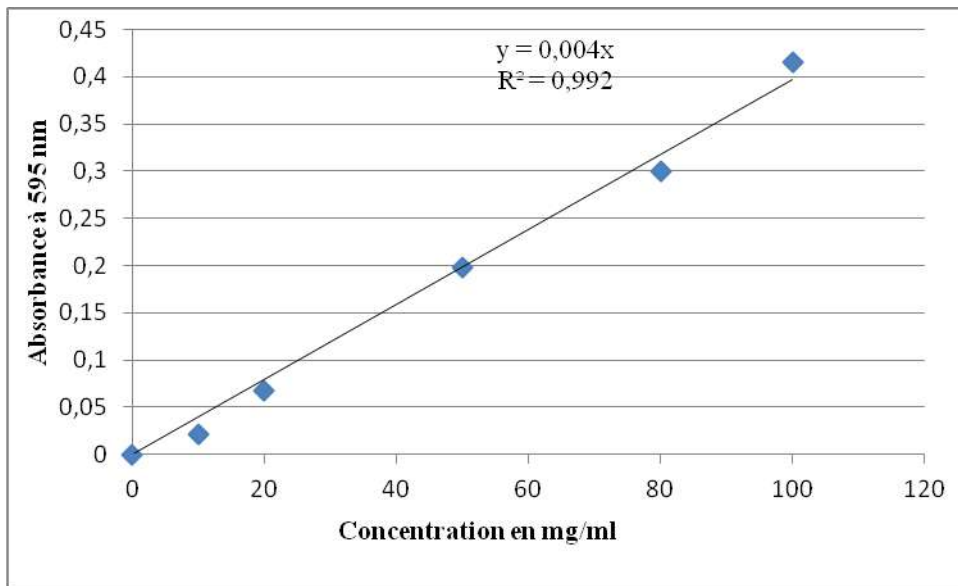
ZITOUNI F-E., 2010- Etude des associations mycorhiziennes entre quatre espèces de terfez et diverses plantes Cistacées et ligneuses en conditions contrôlées. Mémoire de Magister, Université d’Oran, 262p.

Zy Z., LI C., XC l., WX W., YM Z., 2014- Comparative evaluation of polysaccharides isolated from *Astragalus*, oyster mushroom, and yacon as inhibitors of alpha glucosidase, chin journal Nat Med, vol. 12(4): 290-3.

Annexes

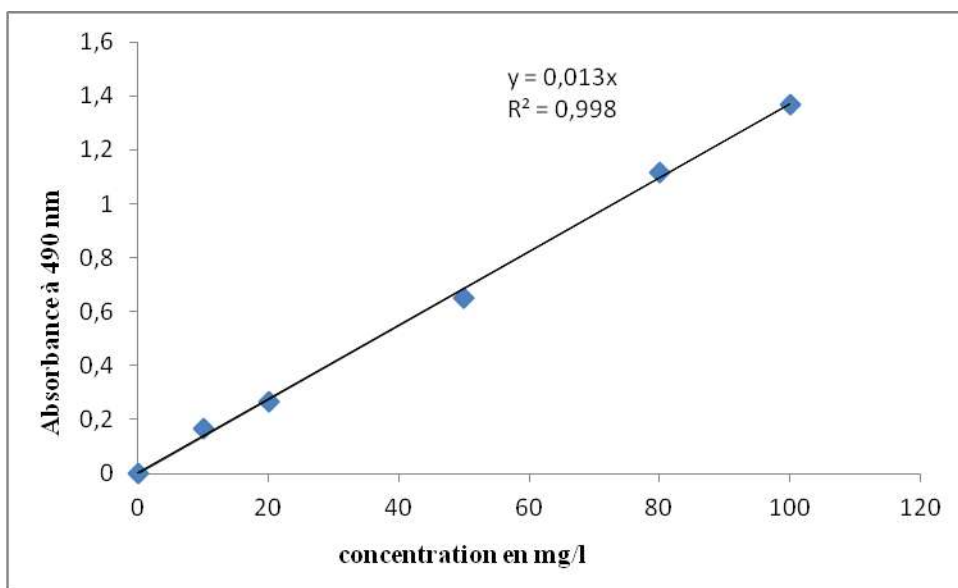
Annexe 01

Courbe étalons des protéines selon la méthode de BRADFORD



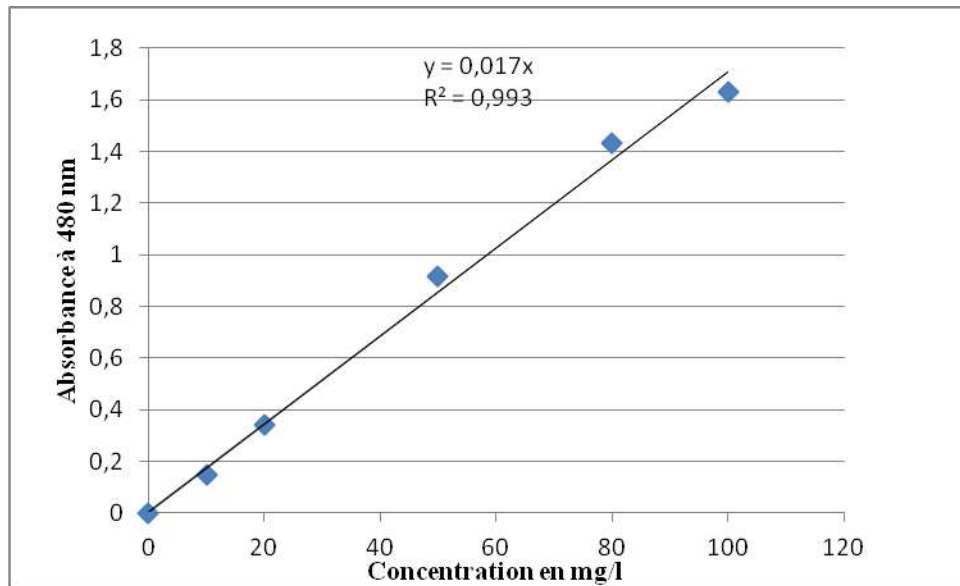
Annexe 02

Courbe étalons des oses totaux



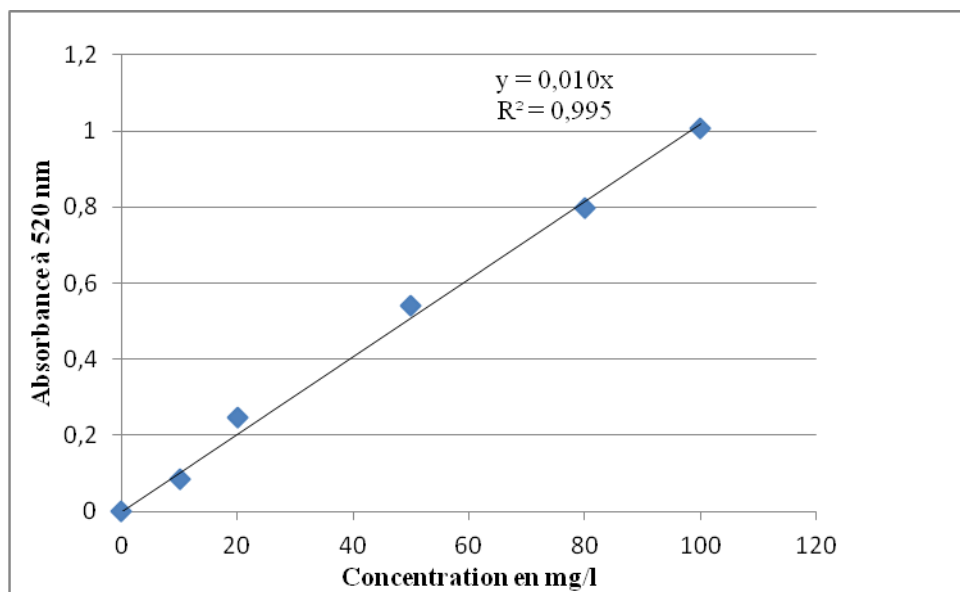
Annexe 03

Courbe étalons des oses neutres



Annexe 04

Courbe étalons des oses acides



Annexe 05

Position systématique de *Tirmania nivea*

Règne:	Fungi.
Embranchement:	Septomycota.
Sous embranchement:	Ascomycotina.
Classe:	Euascomycetes (Eutuniquées).
Sous classe :	Discomycetidae.
Ordre:	Tubérales.
Famille:	<i>Terfeziaceae</i> .
Genre:	<i>Tirmania</i>
Espèce:	<i>Tirmania nivea</i>

Annexe 06

Position systématique de *Terfezia arenaria*

Règne:	Fungi.
Embranchement:	Septomycota.
Sous embranchement:	Ascomycotina.
Classe:	Euascomycetes (Eutuniquées).
Sous classe:	Discomycetidae.
Ordre:	Tubérales.
Famille:	Terfeziaceae.
Genre:	<i>Terfezia</i> .
Espèce:	<i>Terfezia arenaria</i> .

Résumé : Contribution à l'étude de l'activité antidiabétique des extraits de truffes du désert.

Cette étude a pour objectif de déterminer la composition chimique et d'évaluer l'activité antidiabétique de l'extrait polysaccharidique des ascocarpes de la truffe du désert.

Nous avons effectué une extraction hydrosoluble pour deux carpophores de deux espèces : *Tirmania nivea* et *Terfazia arenaria* à un rendement de 22%, 55% respectivement, et un aperçu sur la composition des polysaccharides parmi eux les oses totaux à un teneur de $37,15 \pm 0,018$ pour *Tirmania nivea* et de $25,76 \pm 0,14$ pour *Terfazia arenaria*.

L'activité antidiabétique de l'extrait polysaccharidiques hydrosoluble des ascocarpes de truffes du désert a été évaluée en utilisant la méthode d'inhibition de l'enzyme alpha glucosidase *in vitro* avec l'acarbose comme control (+). L'extrait polysaccharidique de *Tirmania nivea* et *Terfazia arenaria* donne un effet inhibiteur sur l'enzyme alpha glucosidase atteint 85% et 75% à 100mg/ml de polysaccharides pour chaque espèce respectivement.

Mot clés : Composition chimiques, antidiabétique, polysaccharides, *Tirmania nivea*, *Terfazia arenaria*.

Summary: Contribution to the study of the antidiabetic activity of desert truffle extracts.

The aim of this study is to determine the chemical composition and to evaluate the antidiabetic activity of the polysaccharide extract of the ascocarps of the desert truffle. We carried out a water soluble extraction for two carpophores of two species: *Tirmania nivea* and *Terfazia arenaria* has a yield of 22%, 55% respectively, and an overview on the composition of the polysaccharides among them the total bones has a content of $37,15 \pm 0.018$ for *Tirmania nivea* and 25.76 ± 0.14 for *Terfazia arenaria*. The antidiabetic activity of the water-soluble polysaccharide extract of desert truffle ascocarps was evaluated using the alpha glucosidase enzyme inhibition method *in vitro* with acarbose as control (+). The polysaccharide extract of *Tirmania nivea* and *Terfazia arenaria* gives an inhibitory effect on the enzyme alpha glucosidase reaches 85% and 75% at 100mg / ml polysaccharides for each species respectively.

Key words: Chemical composition, antidiabetic, polysaccharides, *Tirmania nivea*, *Terfazia arenaria*.

ملخص: مساهمة في دراسة كمأة الصحراء وتقييم نشاطها المضادة للسكري.

تهدف هذه الدراسة إلى تحديد التركيب الكيميائي للمستخلص وتقييم نشاطه المضاد للسكري لكمأة الصحراء.

أجرينا استخلاص للمركب القابل للذوبان في الماء لكل من الصنفين: *Tirmania nivea* و *Terfazia arenaria* حيث يمثل المردود الكتلي 22%، 55% لكل منهما على التوالي، ونظرة عامة حول محتوى متعددالسكر من بينها السكريات الكلية بنسبة 37.15 ± 0.018 لـ *Tirmania nivea* و 25.76 ± 0.14 لـ *Terfazia arenaria*. حيث تم تقييم النشاط المضاد للسكري لمستخلص متعدد السكر من الكمأة الصحراوي باستخدام أسلوب تثبيط الإنزيم ألفا غلوكوزيداز e في المختبر حيث يمثل acarbose مراقب ايجابي(+). حيث تحصنا على تأثير كايح بشكل خاص على الإنزيم قدرت ب 85% و 75% من 100mg / مل من السكريات لكل من الصنفين *Tirmania nivea* و *Terfazia arenaria* على التوالي.

الكلمات الرئيسية: التركيب الكيميائي، مضاد السكري، السكريات، *Tirmania nivea*، *Terfazia arenaria*.