

N° d'ordre :

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

-----  
UNIVERSITE MOULOUD MAMMERI DE TIZI-OUZOU

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE CHIMIE



DOMAINE : SCIENCES DE LA MATIERE  
FILIERE : CHIMIE

## MEMOIRE DE MASTER

SPECIALITE : CHIMIE DE L'ENVIRONNEMENT

### *THEME*

**Valorisation de la biomasse mycélienne dans l'isolation des polysaccharides**

*Présenté par : DAHOUN SAMIA*

*Soutenu publiquement, le 12 / 10 2017/, devant le Jury composé de :*

Kadouche	Slimane	MCA	UMMTO	President
Adour	Lydia	PROF	Université d'Alger 1	Encadreur
Mansour Benamar	Malika	MCB	UMMTO	Co-encadreur
Ferrag	Fatiha	MCB	UMMTO	Examinatrice
Arbia	Wassila	MCB	Université de Média	Examinatrice
Laribi Habchi	Hassiba	MCA	Université de Blida	Invitée



## REMERCIEMENTS

Je remercie ALLAH le tout puissant qui a guidé mes Pas vers le savoir et qui m'a donné la force de bien mener ce travail.

J'adresse mes remerciements les plus Profonds et sincères à ma promotrice le Professeur ADOUR Lydia pour m'avoir fait confiance, suivi, encadré et conseillé tout au long de l'élaboration de ce travail.

Mes vifs remerciements vont à Monsieur KADOUCHE Slimane, docteur à l'Université UMMTO, qui m'a fait l'honneur d'assurer la présidence de ce jury.

Je tiens à remercier madame FERRAG Fatiha, docteur à l'université UMMTO, pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Je tiens à remercier également madame ARBIA Wassila docteur à l'Université de Médéa de m'avoir fait l'honneur de participer au jury.

Je remercie, Laribi Habchi Hassiba d'avoir accepté d'évaluer ce travail

Je tiens à exprimer mes remerciements à ma co-promotrice, le docteur MANSOUR BENAMAR Malika pour son aide très précieuse. Ses encouragements, ses précieux conseils.

Un grand merci pour madame BENBELKACEM BELABBAS Nora pour sa contribution concrète son aide, son soutien matériel et moral afin de terminer ce travail.

Mes remerciement vont également à madame AMMAR KHODJA Nadia de m'avoir reçu au sein du laboratoire et m'avoir permis d'accomplir ce travail dans les meilleures conditions.

Enfin je remercie ma famille pour le soutien qu'elle m'a apporté tout au long de mes études.

## Dédicaces

*Je dédie ce travail*

*A ma mère et à mon père,*

*A mes frères et sœurs,*

*A la mémoire de ma grand-mère qui me manque,*

*A mon mari,*

*Et à tous ceux qui me sont chers.*

# SOMMAIRE

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction générale.....	1
PARTIE THEORIQUE	
Chapitre I : <i>PLEUROTUS OSTREATUS</i> (JACQ. : FR.) KUMMER LOCAL	
I.1. Définition .....	3
I.2. Systématique .....	4
I.3. Cycle de culture de <i>Pleurotus ostreatus</i> .....	4
I.4. Valeurs alimentaire .....	5
I.5. Intérêt écologique et économique du Pleurote .....	6
I.6. Substrats utilisés pour la culture de <i>Pleurotus ostreatus</i> local.....	6
I.6.1. Grignon d'olive .....	6
I.6.2. Marc de café.....	7
I.6.3. La paille de blé .....	7
CHAPITRE II : GENERALITES SUR LA CHITINE ET LE CHITOSANE	
II.1. La chitine .....	8
II.1.1. Historique .....	8
II.1.2. Structure de la chitine .....	8
II.2. Le chitosane .....	9
II.2.1. Historique .....	9
II.2.2. Structure du chitosane .....	9
II.2.3. Propriétés physico-chimiques et biologiques du chitosane .....	10
II.2.3.1. Solubilité.....	10
II.2.3.2. Polyélectrolyte en milieu acide.....	10
II.2.3.3. Autres propriétés physiques et chimiques .....	10
II.2.3.4. Degré de désacétylation.....	11
II.2.3.5. Le poids moléculaire .....	11
II.2.3.6. La Viscosité .....	11

II.2.3.7. Cristallinité .....	12
II.2.3.8. Propriétés biologiques .....	12
II.2.5. Gels de chitosane .....	12
II.2.6. Principales applications de la chitine et du chitosane.....	12
II.3. Autres polysaccharides fongique.....	13
II.3.1. les Glucanes .....	13
II.3.2. La cellulose.....	14

## PARTIE EXPERIMENTAL

### CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODES

III.1 Matériel utilisé.....	15
III.1.1. Produits chimiques .....	15
III.1.2. Verrerie de laboratoire .....	15
III.1.3. Appareillage .....	15
III.1.4. Matériel mycologique .....	15
III.1.4. 1. Mycélium sous forme de filament.....	15
III.1.4. 2. Mycélium sous forme de stroma .....	16
III.1.4. 3. Mycélium condensé en primordia et carpophores.....	16
III.2. Méthodes .....	16
III.2.1. Production des biomasses mycéliennes.....	16
III.2.2. Préparation des biomasses mycéliennes .....	16
III.2.2.1. Préparation des filaments mycéliens .....	16
III.2.2.2. Préparation du stroma.....	17
III.2.2.3. Préparation du mycélium condensé.....	17
III.2.3. Isolation et production des polysaccharides.....	18
III.2.3.1. Isolation de la chitine et du chitosane libre (CTS libre).....	18
III.2.3.1.1. Traitement basique ou déprotéinisation .....	20
III.2.3.1.2. Traitement acide de la fraction AIM .....	20
III.2.3.1.3. Précipitation du chitosane libre à pH 11 .....	20
III.2.3.2. Désacétylation de la chitine.....	20

III.2.4. préparation des billes du chitosane.....	21
III.2.5. Caractérisation.....	22
III.2.5.1. Caractérisation par la Microscopie électronique à Balayage .....	22
III.2.5.2. Caractérisation par la spectroscopie Infra-Rouge FTIR.....	22
III.2.5.3. Détermination de taux de cendres .....	22
III.2.5.4. Test de solubilité .....	22
III.2.5.5. Degré de désacétylation .....	22
III.2.5.6. Taux d'humidité .....	23
<b>CHAPITRE VI : RESULTATS ET DISCUSSION</b>	
VI.1. Production de la biomasse mycélienne .....	24
VI.2. Caractérisation de la biomasse mycélienne .....	25
VI.2.1- Taux de cendre .....	25
VI.2.2- Caractérisation par FTIR .....	25
VI.2.3. Taux d'humidité .....	26
VI.3. Isolation du chitosane libre et de la chitine brute.....	26
VI.3.1. cas du mycélium condensé (primordia) .....	26
VI.3.1.1. Effet de la granulométrie.....	26
VI.3.1.1. 1. Fraction AIM.....	26
VI.3.1.1. 2. Fraction AAIM.....	27
VI.3.1.1. 3. Le chitosane libre .....	27
VI.3.2. cas des trois mycéliums utilisés .....	28
VI.3.2.1. Effet de la nature du mycélium .....	28
VI.3.2.1.1. La fraction AIM .....	28
VI.3.2.1.2. La fraction AAIM .....	28
VI.3.2.1.3. Le chitosane libre .....	29
VI.4. Production du chitosane à partir de la désacétylation de la chitine .....	30
VI.5. Caractérisation des chitosanes. Cas du mycélium condensé.....	32
VI.5.1. Test de solubilité .....	32
VI.5.2. Caractérisation par FTIR .....	32

VI.5.3. Détermination de Degré de désacétylation .....	34
VI.5.4. Détermination de la morphologie par Microscope Electronique à Balayage MEB .....	35
VI.6. Production des billes de chitosanes .....	37
V CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES .....	38

Références bibliographiques

RESUME

## LISTE DES FIGURES

Figure 1: carpophore de <i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq. ex. Fries) Kummer (1871) souche locale (Mansour-Benamar & Ammar-Khodja, 2017) .....	3
Figure 2: Touffes de carpophores de <i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq. ex. Fries) Kummer (1871) souche locale (Mansour-Benamar & Ammar-Khodja, 2017) .....	4
Figure 3: Cycle de culture de <i>Pleurotus ostreatus</i> local (Mansour-Benamar & Ammar-Khodja, 2017).....	5
Figure 4: Chaîne linéaire de chitine .....	8
Figure 5 : Structure chimique du chitosane.....	9
Figure 6: Ionisation du chitosane .....	10
Figure 7: structure de $\beta$ -(1,3)-glucanes et $\beta$ -(1,6)-glucanes (Badredin, 2008).....	14
Figure 8: Molécules de la cellulose (Payet, 2005) .....	14
Figure 9: Mycélium de POL développé sur milieu YMEA .....	16
Figure 10: Broyage de la biomasse à l'aide d'un mortier .....	17
Figure 11: Organigramme de préparation de différentes biomasses.....	18
Figure 12: Organigramme d'isolation de la chitine et du chitosane libre (Rane et Hoover, 1993), (Crestini et al, 1996) .....	19
Figure 13: Montage de la réaction de solubilisation du chitosane dans l'acide acétique .....	20
Figure 14: Organigramme de désacétylation de la chitine brute (BIO1) (Kadouche S., 2013)	21
Figure 15: Organigramme de la désacétylation de la chitine BIO2 (Di Mario et al, 2007).....	21
Figure 16: photo de mycélium condensé.....	24
Figure 17: photo de mycélium des blocs.....	24
Figure 18: photo de mycélium poussé sur boîte de pétri.....	24
Figure 19: Photo des biomasses à différents granulométries : BIO2, BIO1, BIO3.....	24
Figure 20: spectre FTIR de la biomasse BIO1.....	25

Figure 21: effet de la granulométrie sur la production de la AIM, AAIM et Chitos .....	27
Figure 22: précipité obtenue après l'ajout de NaOH 1M.....	29.
Figure 23: effet de la nature du mycélium dans la production de la AIM, AAIM et Chitos .....	30
Figure 24: composition de la biomasse mycélienne(POL) .....	31
Figure 25: spectre FTIR du chitosane libre BIO2. ....	32
Figure 26 : spectre FTIR de la chitine désacétylé BIO2 .....	33
Figure 27:spectre FTIR du chitosane commerciale FLUKA .....	33
Figure 28: micrographie de la fraction AIM .....	35
Figure 29: micrographie de la fraction AAIM .....	36
Figure 30: micrographie du chitosane libre (BIO1). ....	36
Figure 31 : billes du chitosane fongique. ....	37

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Composition chimique de grignon d'olive (Nefzaoui, 1991). .....	7
Tableau 2: Composition chimique du marc de café (Carassou, 2015).....	7
Tableau 3 : Composition chimique de la paille de blé (Février & Willequet, 2009). .....	7
Tableau 4: Différentes applications de la chitine et du chitosane (Bensaha, 2010).....	13
Tableau 5: Isolation du chitosane libre et de la chitine à partir du mycélium condensé.....	26
Tableau 6: Isolation du chitosane libre à partir de BIO2, BIO B et BIO P.....	28
Tableau.7:Désacétylation de la chitine.....	30.
Tableau 8: Rendement du chitosane préparé à partir de la chitine (Di Mario F, et al.2007) .....	31
Tableau 9: Principales bandes des spectres Infra-Rouge du chitosane préparé, de la chitine désacétylée préparée et du chitosane commercial.....	34
Tableau 10: Le DDA % des chitosanes .....	35

## Liste Des Abréviations

A: Absorbance

AAIM: Alcalin Acid Insoluble Material

AIM: Alcalin Insoluble Material

BIOB: Biomasse issue des Blocs

BIOP: Biomasse récupéré a partir des boite de Pétri

BIO1: Biomasse issue du mycélium condense de granulométrie =1mm

BIO2: Biomasse issue du mycélium condense de granulométrie < 1mm

BIO3: Biomasse issue du mycélium condense de granulométrie >1mm

CTN Désa: Chitine Désacétylé

Chitos: Chitosane

DDA: Degrée de Désacétylation

FTIR: Fourier Transformed Infrared Spectroscopy

GO: Grignon d'Olive

G: Gramme

H %: Taux D'humidité %

H: Heure

J: Jour

L : Litre

Ml: Millilitre

Min: Minute

M: Masse Molaire

Mm: Millimètre

MEB: Microscopie Electronique a Balayage

MC: Marc de Café

POL: *Pleurotus Ostreatus* Local

P: Paille de blé

YMEA : Yast-Extract-Malt-Agar

# ***INTRODUCTION GENERALE***

# Introduction générale

---

## Introduction

La protection de l'environnement est devenue l'objectif principal de tous les pays du monde. Cette protection consiste à prendre des mesures pour sauvegarder les ressources de la planète. Parmi ces ressources, on cite l'eau qui est un élément indispensable à la vie.

L'augmentation des activités agro-industrielles génèrent une grande diversité de produits chimiques qui se déversent dans le cycle de l'eau. Souvent, les substances chimiques contenues dans les eaux usées sont difficilement biodégradables et le manque ou l'insuffisance de systèmes de traitement mène ainsi à leurs accumulations dans le cycle de l'eau (Hammami S, 2008).

Plusieurs techniques ont été employées pour l'élimination des substances chimiques. Les procédés physico chimiques de traitement et épuration des eaux usées contenant des ions métallifères sont efficaces mais leurs coûts énergétiques sont souvent très élevés. De plus l'utilisation des produits chimiques comme les ions trivalents de sels de fer et d'aluminium peuvent conduire à des maladies.

En 1996 des recherches sont orientées vers l'utilisation des biopolymères comme la chitine et le chitosane isolés à partir des déchets marins; les crevettes et les crabes dans la dépollution des eaux (Muzzarelli R.A.A, 1996).

La chitine et le chitosane sont les biopolymères les plus attractifs économiquement dans le traitement des eaux usées, grâce à leurs propriétés intrinsèques, leurs abondances et leurs faibles coûts. En plus, ils sont biodégradables et biorésorbables (Benguella B, 2009).

Malheureusement la disponibilité des sous-produits des crustacés est limitée à cause des problèmes saisonniers et ou de la pollution de l'eau de mer d'où la diminution de la production (Tao Wu, 2004).

Les travaux de Nitar et autres sont orientés vers une nouvelle source de production de la chitine et du chitosane, à savoir les champignons (Nitar New, et al, 2002-2008)

Les champignons sont des sources de la chitine et du chitosane (Nitschke J, 2011). Et les basidiomycètes peuvent être considérés comme une bonne source de la chitine qui peut être facilement isolée puis transformée par désacétylation pour la production du chitosane utile pour différentes applications pratiques (F. Di Mario et al, 2008).

Les champignons sont des sources très économiques de chitosane car la fermentation sur quelques substrats comme les résidus agricoles n'est pas cher (Benamar M, 2016). Les champignons sont cultivés dans des milieux différents de telle façon à produire plus de la chitine et du chitosane de haute qualité (Niederhofer, 2004).

# Introduction générale

---

Notre objectif est de cultiver un champignon au laboratoire de façon à produire de la chitine et du chitosane. *Pleurotus ostreatus*, un des champignons comestibles (Basidiomycète) le plus commercialisé dans le monde après *Agaricus bisporus*. Il se développe sur des milieux liquides ou solides, et il se reproduit sexuellement par la fusion des hyphes (périttosamine ou plasmosamine). (Benamar M, 2016)

La souche locale de *Pleurotus Ostreatus* (Jacq : Fries) Kummer (POL) a été isolée à Oued-Aissi dans la région de Tizi-Ouzou (Algérie) par Mansour M. en 1993, et a été utilisée pour la valorisation des résidus agricoles et la production des champignons comestibles, nous l'avons utilisé dans notre travail pour valoriser son mycélium dans l'isolation des polysaccharides.

Notre travail a été divisé en quatre parties:

-La première partie est une synthèse bibliographique basée sur le *Pleurotus Ostreatus* (Jacq: Fries) Kummer (POL), ainsi que sur les différents biopolymères fongiques, principalement la chitine, le chitosane et le glucane, leurs domaines d'application et leurs propriétés physiques, chimiques et biologiques.

-La deuxième partie est consacrée à la préparation de la biomasse mycélienne du basidiomycète *Pleurotus ostreatus* local.

-la troisième partie est basée sur l'isolation chimique des biopolymères par des traitements alcalins et acides.

-la quatrième partie consacrée à la caractérisation des biopolymères.

# ***PARTIE THEORIQUE***

*I. Généralités Sur Pleurotus ostreatus*

*II. Généralités Sur La Chitine Et Le Chitosane*

## ***Pleurotus ostreatus* (JACQ. : FR.) KUMMER LOCAL**

### **I.1. Définition**

Les Pleurotes sont des organismes eucaryotes, thallophytes, non chlorophylliens, à mode de vie saprophyte, à corps généralement filamenteux appelé mycélium.

Le mycélium est un réseau de filaments ramifiés appelé hyphes. Chaque hyphe mesure 5µm à 10µm de diamètre. Ces hyphes sont des véritables tubes résistants et protecteurs, cloisonnés (LeCalvez, 2009).

La forme mycélienne permet au champignon d'avoir une croissance radiale importante et de coloniser rapidement un milieu. Les hyphes du mycélium végétatif pénètrent dans le milieu de culture afin d'y puiser les éléments nutritifs nécessaires à son développement (LeCalvez, 2009).

Le mycelium du Pleurote est de couleur blanche. Il se condense en stroma (amas de mycelium), et, en période de fructification, il forme des sporophores ou carpophores (Durrieu, 1993).

Le mot *Pleurotus* désigne le nom générique d'un groupe de champignons caractérisés par un pied latéral, un chapeau charnu avec, à la face inférieure des lamelles, formant l'hyménium (tissu fertile), anastomosées vers le pied et des spores blanchâtres pouvant être parfois colorées (figure 1).

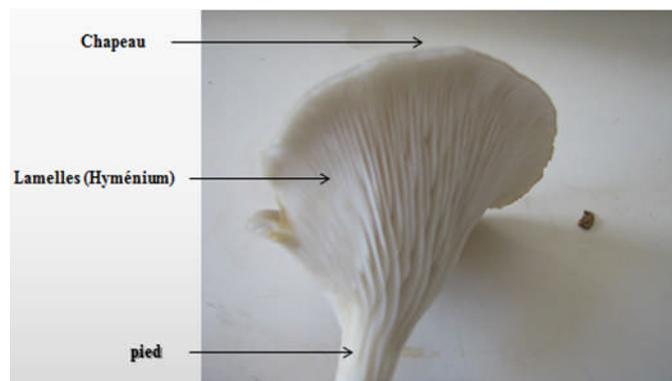


Figure 1: carpophore de *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex. Fries) Kummer (1871) souche locale (Mansour-Benamar & Ammar-Khodja, 2017)

Les Pleurotes sont des Basidiomycètes saprophytes cellulolytiques car ils sont aptes à s'alimenter et à se développer sur substrat riche en cellulose (Durrieu, 1993).

*Pleurotus ostreatus* appelé communément Pleurote en forme d'huître est un champignon comestible qui pousse en touffes (figue 2) aussi bien sur le bois que sur la paille

et offre ainsi la possibilité de valoriser divers déchets agro-industriels (paille de céréale, marc de café, grignon d'olive...etc.) (Mansour-Benamar et al, 2016).

Etant décomposeur primaire (dégrade les substances lignocellulosiques) (Rajarathnam & Bano, 1989), il s'attaque naturellement aux souches d'arbres morts ou parfois aux arbres en état de faiblesse, mais jamais aux arbres sains (Delmas, 1989).



Figure 2: Touffes de carpophores de *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex. Fries) Kummer (1871) souche locale (Mansour-Benamar & Ammar-Khodja, 2017)

## I.2. Systématique

La systématique du Pleurote en huître rapportée par Mansour-Benamar (2016) est la suivante :

Règne	: Fungi
Division	: Basidiomycota
Classe	: Agaricomycètes
Sous Classe	: Agaricomycetidae
Ordre	: Agaricales
Famille	: Pleurotaceae
Genre	: <i>Pleurotus</i>
Espèce	: <i>P. ostreatus</i> (Jacq.Ex. Fries) Kummer (1871)

## I.3. Cycle de culture de *Pleurotus ostreatus*

Dans la nature, le cycle de vie du Pleurote comporte deux phases successives :

- la phase végétative au cours de laquelle croit le mycelium primaire monocaryotique issu de la germination d'une basidiospore,
- et, la phase fructifère qui démarre avec la conjugaison de deux mycelia primaires compatibles pour donner naissance à un mycelium dicaryotique, qui, en se

condensant, donne les primordia (ébauches de champignons) qui évoluent en carpophores ou sporophores destinés à l'alimentation humaine.

Cette deuxième phase, représentée dans la figure 3, intéresse les producteurs de champignons.

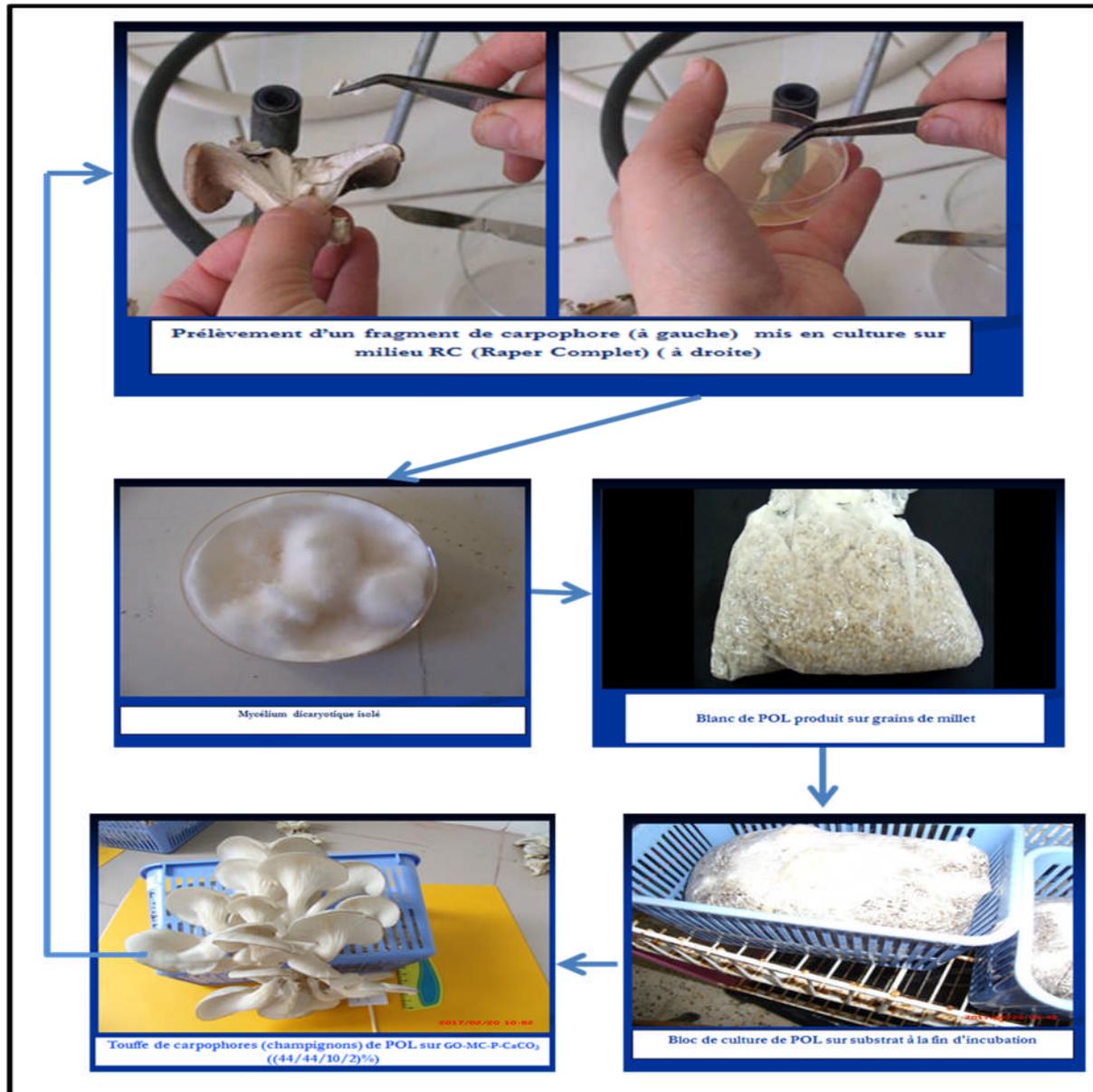


Figure 3: Cycle de culture de *Pleurotus ostreatus* local (Mansour-Benamar & Ammar-Khodja, 2017)

#### I.4. Valeurs alimentaire

Les champignons du genre *Pleurotus* ont une place importante en raison de leurs propriétés gastronomiques, nutritionnelles et médicinales. En effet, la production de *P. ostreatus* a été réalisée dans nombreux pays (Martinez-Carrera Det al 1955). Il présente une valeur nutritionnelle semblable à celle du lait et de la viande (Ghosh et al, 1990). *P. ostreatus* est utilisé comme complément alimentaire en raison de son activité immuno-modulatrice. Il

figure parmi les champignons les plus commercialisés dans le monde. Il est considéré comme délicieux en raison de sa saveur et de son goût (Manu-Tawiah & Martin, 1986). Il est riche en protéines et en éléments minéraux (calcium, phosphore, fer) et vitamines (thiamine, riboflavine et niacine) ; il possède la majorité des acides aminés essentiels pour l'homme ainsi que de faibles teneurs en matières grasses (Wolf et al 2008).

### **I.5. Intérêt écologique et économique du Pleurote**

Le Pleurote renferme dans sa paroi cellulaire des biopolymères à hautes valeurs ajoutées. En effet, la chitine et le chitosane, des polysaccharides similaires à la cellulose, ont prouvé leurs intérêts dans de nombreux domaines, agroalimentaire, biologie, médecine, pharmacie et en particulier dans l'environnement et traitement de la pollution (Manu-Tawiah & Martin, 1986).

Les recherches sur les polysaccharides des carpophores et du mycélium ont montré que *P. ostreatus*, *P. sajor-caju*, et *P. citrinopileatus* ont un rôle sur les activités antinéoplasiques, qui peuvent être attribuées aux polysaccharides des composants de la paroi cellulaire (Wolf et al 2008).

Différentes études ont également été menées avec le genre *Pleurotus* afin d'évaluer son activité antimicrobienne et antioxydantes (Wolf et al. 2008).

### **I.6. Substrats utilisés pour la culture de *Pleurotus ostreatus* local**

Selon Oei (1993), le substrat est le matériau sur lequel pousse le mycélium. Trois substrats à savoir le grignon d'olive, le marc de café et la paille de blé et un quatrième substrat formé par le mélange des trois, ont été utilisés pour la culture du Pleurote local dans le laboratoire de Production, Amélioration et Protection des Végétaux de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

#### **I.6.1. Grignon d'olive**

Le résidu solide généré lors de l'extraction de l'huile d'olive est appelé grignon ou tourteau d'olives (Sansoucy, 1984). La composition chimique du grignon d'olive (tableau 1) dépend étroitement de la variété d'olive, du degré de maturation des olives et du système employé lors de l'extraction de l'huile d'olive (Nefzaoui, 1991).

Tableau 1 : Composition chimique de grignon d'olive (Nefzaoui, 1991).

Substrat	Matière sèche (MS) en (%) de matière fraîche	Matière Minérale en (%MS)	Matière azotée totale (% MS) MS	Cellulose Brute en (%MS)	Matière grasse en (%MS)
Grignon d'olive	75 - 80	3 – 5	5-10	35-50	8-15

### 1.6.2. Marc de café

Le marc de café est le résidu de la consommation du café soluble obtenu après torréfaction des grains de café marchands, après mouture et extraction à l'eau bouillante ou à la vapeur d'eau (Mansour-Benamar et al, 2016).

Les glucides sont des éléments les plus abondants dans le marc de café (tableau 2) (Carassou, 2015).

Tableau 2: Composition chimique du marc de café (Carassou, 2015).

Composés	Quantités	Minéraux	Quantités (mg/kg)
Glucides	45,3%	Potassium	8824 ± 4662
Lipides	9,3-16,2 %	Phosphore	1534 ± 503
Protéines	14%	Magnésium	2201 ± 1341
Minéraux	6800 mg/kg de matière sèche	Calcium	349 ± 122
Polyphénols	13-18 mg acide gallique équivalent.	Fer	46 ± 21
		Manganèse	27 ± 10
		Cuivre	25 ± 12

### 1.6.3. La paille

La paille de blé est constituée par la tige avec les feuilles et l'épi ou rachis à son sommet secs (Zeitoun, 2011).

D'une manière générale, les pailles de céréales sont riches en constituants pariétaux, fort incrustés de lignine, riche également en minéraux dont une partie de silice, mais pauvres en matières azotées et en matières grasses (tableau 4) (Février & Willequet, 2009).

Tableau 3 : Composition chimique de la paille de blé (Février & Willequet, 2009).

Matière sèche	Protéines brutes	Celluloses brutes	Calcium	Phosphore
g/kg	g/kg matière sèche			
850-900	30	43-45	2,5-3.1	0,7-0,8

## II. GENERALITES SUR LA CHITINE ET LE CHITOSANE

### II.1. La chitine

#### II.1.1. Historique

La chitine a été identifiée pour la première fois en 1811 par Braconnot ;il nomma la substance fugine, à cause de son origine fongique ;en 1823, Odier isole la même substance à partir d'exosquelettes d'insectes; il la nomme chitine ;ce n'est qu'en 1859, que Rouget montre que la saponification de la chitine produit le chitosane ;en 1878, Ledder hydrolyse la chitine pour produire de l'acide acétique et du glucosamine (Peter, 2002).Finalement, ce n'est qu'à partir de 1970 que ces deux produits ont suscité un réel intérêt (Robert, 1992).

La chitine se trouve, principalement, chez certains invertébrés (insectes, crustacés, mollusques, nématodes) où elle se retrouve en particulier dans la composition de leur cuticule ; chez les champignons, elle se trouve dans leurs parois cellulaires. Elle peut atteindre jusqu'à 60% du contenu pariétal des champignons filamenteux (Ruiz-Herrera, 1992). Chez les champignons Oomycètes, elle représente entre 0,7 et 3,4% des parois sèches (Siestma et al, 1992). Ce polysaccharide est également présent chez certaines éponges et algues marines (Ehrlich, 2007).

#### II.1.2. Structure de la chitine

La chitine est un polysaccharide naturel formé d'unités N-acétyl- $\beta$ -D-glucosamine liées par des liaisons  $\beta$  (1,4) (figure 4).

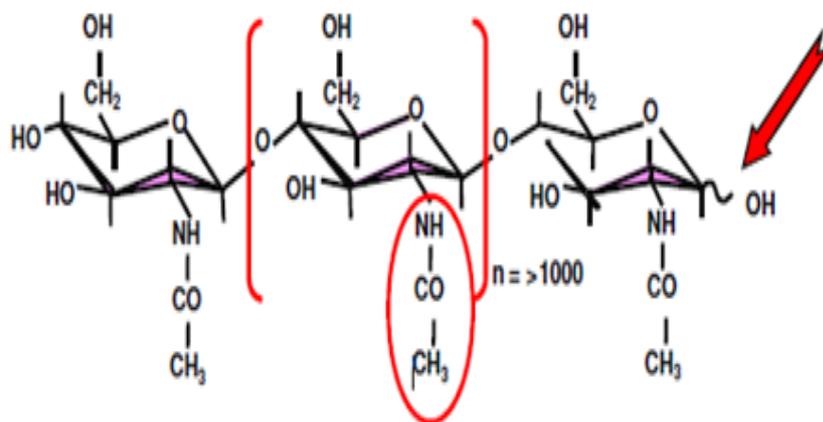


Figure 4: Chaîne linéaire de chitine (Badredin, 2008).

Elle présente trois différentes formes cristallines  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$ . (Merzendorfer, 2006).

La chitine n'est soluble que dans des solvants peu communs, ce qui limite son utilisation et sa valorisation. En effet, elle n'est soluble que dans le 2-hexafluoropropanol et dans des mélanges tels que le diméthylacétamide/chlorure de lithium, le diméthylformamide/chlorure de lithium ou l'acide trichloroacétique / dichloroéthane (Gamage & Shahidi, 2007). De nombreux dérivés de la chitine ont été préparés dans le but d'améliorer leur solubilité.

## II.2. Le chitosane

### II.2.1. Historique :

Le chitosane a été découvert en 1859 par Rouget en traitant la chitine avec du KOH concentré à température élevée, Ce n'est qu'en 1894 que Hoppe-Seyler a donné à la « chitine modifiée » le nom de « chitosane » (Crini et al, 2009)

### II.2.2. Structure

Le chitosane est un polyoside composé de la distribution aléatoire de D-glucosamine lié en  $\beta$ -(1-4) et de N-acétyl-D-glucosamine (figure 5) (Crini et al, 2007). Il est produit par une désacétylation chimique ou enzymatique de la chitine (Shahidi et al, 1999). Le chitosane ne diffère de la chitine que par les groupements amine ( $-\text{NH}_2$ ), il est chargé positivement. Ces derniers lui confèrent une nature cationique intéressante dans un milieu acide. Ils sont également responsables de son activité floculante. Le chitosane comporte plus d'un centre réactif, grâce à ses fonctions alcool et amine (Shahidi et al, 2005).

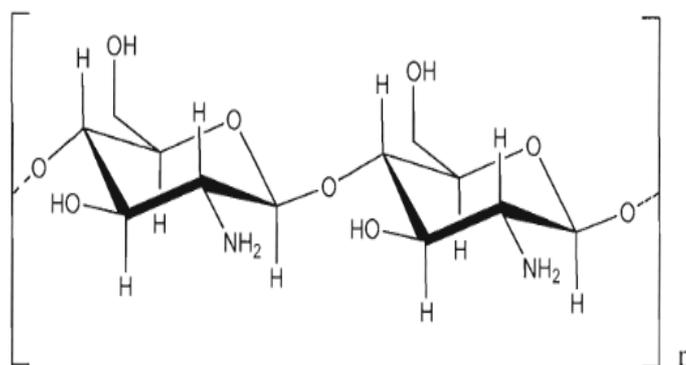


Figure5 : Structure chimique du chitosane (Ararem, 2010).

## II.2.3. Propriétés physico-chimiques et biologiques du chitosane

### II.2.3.1. Solubilité

Le chitosane est insoluble dans l'eau et dans les solutions alcalines concentrées ou diluées, par contre il est soluble dans la plupart des solutions organiques acides (Ararem, 2010). Le solvant le plus couramment utilisé pour préparer une solution de chitosane est l'acide acétique dilué. En général, le chitosane est parfaitement soluble à pH 3-4, les groupements aminés du chitosane sont protonés et le polymère chargé positivement devient soluble. En revanche, il est relativement stable en milieu acide concentré, même s'il se dégrade après une longue exposition (Crini et al, 2009)

### II.2.3.2. Polyélectrolyte en milieu acide

Le chitosane est l'un des rares polyélectrolytes naturels cationiques. En milieu acide, il se comporte comme un polycation possédant une forte densité de charge et dont l'état d'ionisation est décrit par l'équilibre représenté dans la figure 6.

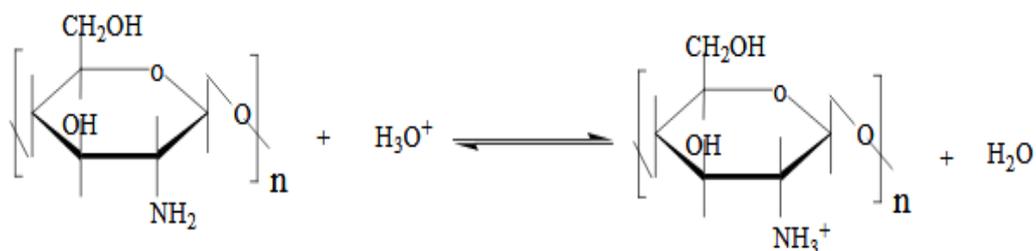


Figure 6: Ionisation du chitosane (Ararem, 2010).

Le chitosane est une base faible de pKa compris entre de 6,3-6,7. En général, la valeur du pKa augmente quand le DD diminue (Crini et al 2009).

### II.2.3.3. Autres propriétés physiques et chimiques

Le chitosane est un matériau versatile qui prend des formes physiques modifiables, stable en phase solide (sèche) et a une conservation quasi-infinie en solution. Il possède un degré élevé de réactivité chimique dû à ses groupements amine primaires libres. Il possède des propriétés de rétention d'eau, de chélation d'ions, de complexation et d'adsorption de molécules ou des polymères. Le chitosane est un agent de floculation dans le traitement des eaux polluées grâce à son association sélective avec les espèces anioniques. Il peut aussi

former des complexes polyanion- polycation menant à la préparation des membranes. (Ararem, 2010)

#### II.2.3.4. Degré de désacétylation

Le degré de désacétylation est une propriété qui influence les caractéristiques physiques et chimiques de la chitine et du chitosane, y compris la solubilité, la réactivité chimique et l'activité biologique. De nombreuses techniques ont été proposées pour déterminer le degré de désacétylation de la chitine et du chitosane. Les méthodes comprennent la spectroscopie infrarouge (IR), la RMN solide  $^{13}\text{C}$ , la spectrométrie ultraviolette, le titrage potentiométrie et chromatographie liquide à haute pression (HPLC). Parmi ces techniques IR est le plus utilisé (Akila, 2014)

#### II.2.3.5. Le poids moléculaire

Le poids moléculaire d'un polymère dépend essentiellement de la masse de son monomère et du nombre de monomère que constitue le polymère. La détermination du PM d'un chitosane se fait par la relation de *Mark-Houwink* (Kadouche, 2013).

$$[\eta] = k. (\text{PM})^a$$

Où  $[\eta]$ : viscosité intrinsèque PM: Poids moléculaire moyen

a et k : Constantes dépendantes du système solvant/ soluté et de sa température.

#### II.2.3.6. La Viscosité :

La viscosité du chitosane dépend du degré de désacétylation de ce polymère. Plus il est désacétylé, plus il y a de groupements amines libres, le chitosane est donc plus soluble et par voie de conséquence sa viscosité est plus importante. La viscosité dépend, également, de la concentration du polymère, de la température, du poids moléculaire et du pH (Wang et al, 1994).

Le chitosane peut être caractérisé de façon simple par viscosimétrie. Pour connaître la viscosité, il est nécessaire de connaître les paramètres  $K$  et  $a$  de la relation de *Mark-Houwink et Sakurada*:

$$\text{Où : } [\eta] = K. M_v^a$$

$[\eta]$  : viscosité intrinsèque

$M_v$  : Poids moléculaire moyen

a et K : constantes pour un système solvant/soluté donné

### **II.2.3.7. Cristallinité**

Le chitosane est une substance semi-cristalline. Il cristallise dans le système orthorhombique. Deux types de structures sont connus, le chitosane I (sous forme de sel) correspondant à un faible degré de désacétylation (DDA = 60 %). Il est plus désordonné que le chitosane II (forme amine libre) qui possède un fort DDA (DDA = 90 %) (Hudson, 2003).

### **II.2.3.8. Propriétés biologiques**

Le chitosane est biodégradable et biocompatible. Il ne présente aucun comportement antigénique mais possède un caractère antithrombogène et hémostatique. Il montre des propriétés cicatrisantes remarquables. Le chitosane a, également, des propriétés inhibitrices sur la croissance de nombreux parasites et microorganismes infectieux. Il présente, également, des propriétés immunologiques, antitumorales, antibactériennes et antifongiques (Ararem, 2010).

### **II.2.5. Gels de chitosane**

Depuis plusieurs années, les gels de chitosane ont suscité beaucoup d'intérêt suite à leur excellent potentiel d'utilisation dans les domaines alimentaires, pharmaceutiques, biomédicales et cosmétiques. Un gel est défini comme étant un réseau tridimensionnel semi-solide incluant une phase liquide. La plupart des gels de chitosane sont non thermoréversibles. Ils sont formés soit de liens covalents, on parle de gels « chimiques », soit d'interaction de type hydrophobe et on les qualifie de gels « physiques » (Djelad, 2011).

### **II.2.6. Principales applications de la chitine et du chitosane**

La chitine et le chitosane possèdent de nombreuses propriétés physico-chimiques et biologiques intéressantes (biocompatibilité, bioactivité et biodégradabilité) qui ont permis d'entrevoir de nombreuses applications potentielles. Le chitosane a suscité un intérêt plus vif que la chitine. Dans le tableau 4 sont résumées les différentes applications de la chitine et du chitosane dans divers domaines (Bensaha, 2010).

Tableau 4 : différentes applications de la chitine et du chitosane (Bensaha, 2010).

Domaine médical	Sutures chirurgicales, implants dentaires, peaux artificielles, reconstructions osseuses
Agriculture	Mécanisme défensive, stimule la croissance des plantes, enrobage (protection), libération de fertilisants et nutriments
Traitement des eaux	Polymère écologique, pouvoir séquestrant (métaux lourds, colorants, etc.), diminution de la turbidité, diminution des odeurs, bactéricides
Alimentaire	Non digestible (diète aux fibres), hypocholestérolémiant, agent de conservation, stabilisateur antimicrobien, enrobage protecteur (fruits)
Cosmétiques	Crèmes de traitement de l'acné, produits hydratants, formulation de dentifrices, formulation de shampoings
Biopharmaceutique	Immunostimulants, antitumoraux, anticoagulants, libérations contrôlées (matrices)

### II.3. Autres polysaccharides fongique

En plus de la chitine et du chitosane, d'autres polysaccharides sont présents dans les parois cellulaires des champignons incluant les glucanes et la cellulose

#### II.3.1. les Glucanes

Les glucanes sont composés de monosaccharides D-glucose, reliés entre eux par des liaisons glycosidiques. Les glucanes peuvent être divisé en deux types : alpha et bêta glucanes en fonction de la géométrie de la liaison glycosidiques.

#### II.3.1. Les Bêta glucanes

Les  $\beta$ -(1,3)-glucanes sont composés de long polymères linéaires de  $\beta$ -(1,3)-glucose avec quelques branchements en  $\beta$ -(1,6) (figure7). Les  $\beta$ -(1,3)-glucanes peuvent être liés par covalence à d'autres composés des parois, ses régions non réductrices se lient aux extrémités réductrices de chaînes de chitine via des liaisons  $\beta$ -(1,4)-,  $\beta$ -(1,6)- et  $\beta$ -(1,3)-glucanes (Badredin, 2008).

Les  $\beta$ -(1,6)-glucanes sont composés de chaînes de  $\beta$ -(1,6)-glucose qui sont de nature amorphe et pourraient agir comme une «colle» en formant des liaisons covalentes avec des  $\beta$ -(1,3)-glucanes, de la chitine et des mannoprotéines des parois cellulaires (Badredin, 2008).

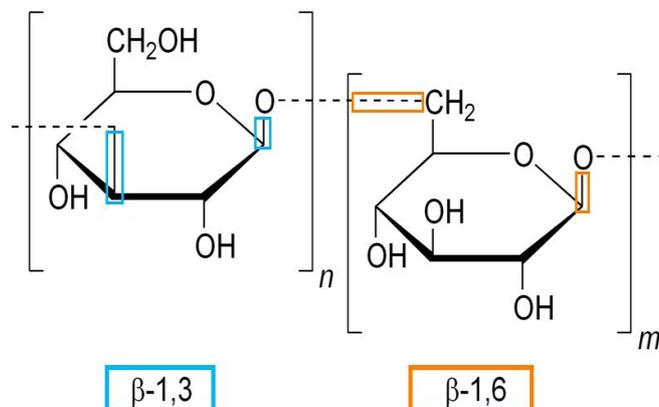


Figure7: structure de  $\beta$ -(1,3)-glucanes et  $\beta$ -(1,6)-glucanes (Badredin, 2008)

### II.3.2. La cellulose

La cellulose est le polysaccharide le plus abondant dans la nature. Bien que les champignons soient considérés comme des organismes chitineux, des traces de cellulose ont parfois été détectées dans leurs parois cellulaires. Chez les Oomycètes cellulosiques la teneur en cellulose dans les parois cellulaires de différentes espèces de *Phytophthora* a été mesurée par Bartnicki-Garcia (1966) qui a trouvé que le mycélium de *P. cinnamomi* avait une teneur de 11%. (Badredin, 2008).

La cellulose est constituée par un enchaînement de molécules de  $\beta$ -glucose qui sont liées entre elles par des liaisons hydrogènes (El Hadji Babacar, 2008)

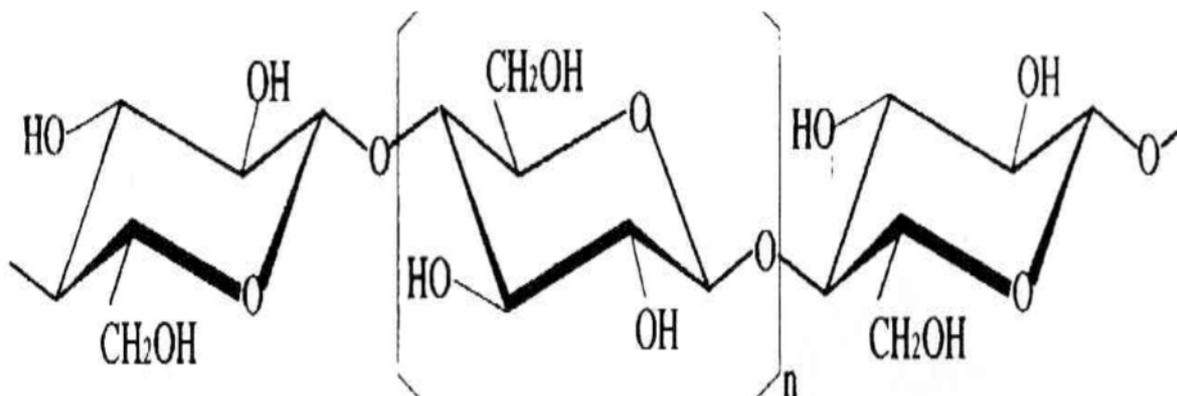


Figure 8 : Molécules de la cellulose (Payet, 2005).

# ***PARTIE EXPERIMENTALE***

### *III. Matériels Et Méthodes*

### III.1 Matériel utilisé

#### III.1.1. Produits chimiques

Les produits chimiques utilisés au cours de cette étude sont purs et les solutions ont été préparées avec de l'eau distillée de pH=7 obtenue à l'aide d'un distillateur GFL 2008.

- CH<sub>3</sub>COOH : acide acétique 99 – 100% pure (Sigma –aldrich)
- NaOH : hydroxyde de sodium sous forme de pastilles 99 – 100 % pure (Sigma – Aldrich)

#### III.1.2. Verrerie de laboratoire

Fioles jaugées, entonnoir, béchers, burette, pipettes, mortier en céramique, ballon, verres de montre et propipette.

#### III.1.3. Appareillage

- Balance de précision de marque Ohaus, modèle Pioneer TM,
- pH mètre de marque Ohaus instrument (type : pH 211),
- Montage à reflux,
- Four Kottermann
- Spectrophotomètre Infrarouge FTIR, L1600400 Spectrum two DTGS serial Number 88391.made in liantrised.4K.
- Microscope électronique à Balayage Philips, model: ESEMXM30

#### III.1.4. Matériel mycologique :

Le mycélium de *P.ostreatus* local (POL), un basidiomycète comestible, a été récupéré à différents stades de son développement pour le valoriser. Trois types de mycéliums de POL ont été utilisés.

##### III.1.4. 1. Mycélium sous forme de filament

Mycélium sous forme de filaments a été obtenu en grattant le mycélium développé sur le milieu YMEA (Yast-Extract-Malt-Agar, en français milieu extraits de levure et de Malt-Agar) coulé dans des boîtes de pétri de 9 cm de diamètre, après 3 semaines d'incubation (Figure 9). Ces cultures ont été réalisées par Benbelkacème Nora dans le cadre de la réalisation de sa thèse de doctorat.



Figure 9 : Mycélium de POL développé sur milieu YMEA

#### **III.1.4. 2. Mycélium sous forme de stroma**

Du stroma (mycelium abondant et dense) formé sur des blocs de culture de POL sur certains résidus agricoles à savoir le grignon d'olive, le marc de café, la paille de blé et le mélange de ces résidus, ont été prélevés. Ce stroma est obtenu après 3 à 4 semaines d'incubation.

#### **III.1.4. 3. Mycélium condensé en primordia et carpophores,**

Ce type de mycelium est formé les ébauches de carpophores dans la croissance s'est arrêtée et les tous petits champignons ainsi que les pieds des carpophores matures, non commercialisables, formés après la mise en fructification des blocs de culture.

### **III.2. Méthodes**

#### **III.2.1. Production des biomasses mycéliennes**

Ces 3 types de mycélium proviennent de cultures réalisées en 2017 au Laboratoire de Production, Amélioration, et Protection des Végétaux de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou sous la direction de Madame Mansour-Benamar.

#### **III.2.2. Préparation des biomasses mycéliennes**

##### **III.2.2.1. Préparation des filaments mycéliens**

Le mycélium a été récupéré à partir de culture sur milieu YMEA par grattage puis séché à 40°C jusqu'à poids constant. La biomasse récupérée a été broyée au mortier et est appelée dans la suite de notre travail BIOP.

### III.2.2.2. Préparation du stroma

Le stroma que nous avons appelé mycélium des blocs a été récupéré, lavé pour enlever les résidus de substrats puis séché à 40°C jusqu'à poids constant. La biomasse récupérée a été broyée à l'aide d'un mortier. Cette dernière est appelée pour la suite de notre travail BIOB.

### III.2.2.3. Préparation du mycélium condensé

Les petits champignons ainsi que les pieds de carpophores séparés de leurs chapeaux ont été séché à 40°C, puis broyés à l'aide d'un mortier; tamisés par des tamis à différents diamètres à savoir 1mm, < 1mm et > 1mm. Nous avons récupéré 3 fractions à différentes granulométries, appelé respectivement BIO1, BIO2 et BIO3.



Figure 10: Broyage de la biomasse à l'aide d'un mortier

Les étapes de préparation des biomasses utilisées pour l'isolation des polysaccharides (chitine et chitosane) sont rassemblées dans l'organigramme de la figure (11)

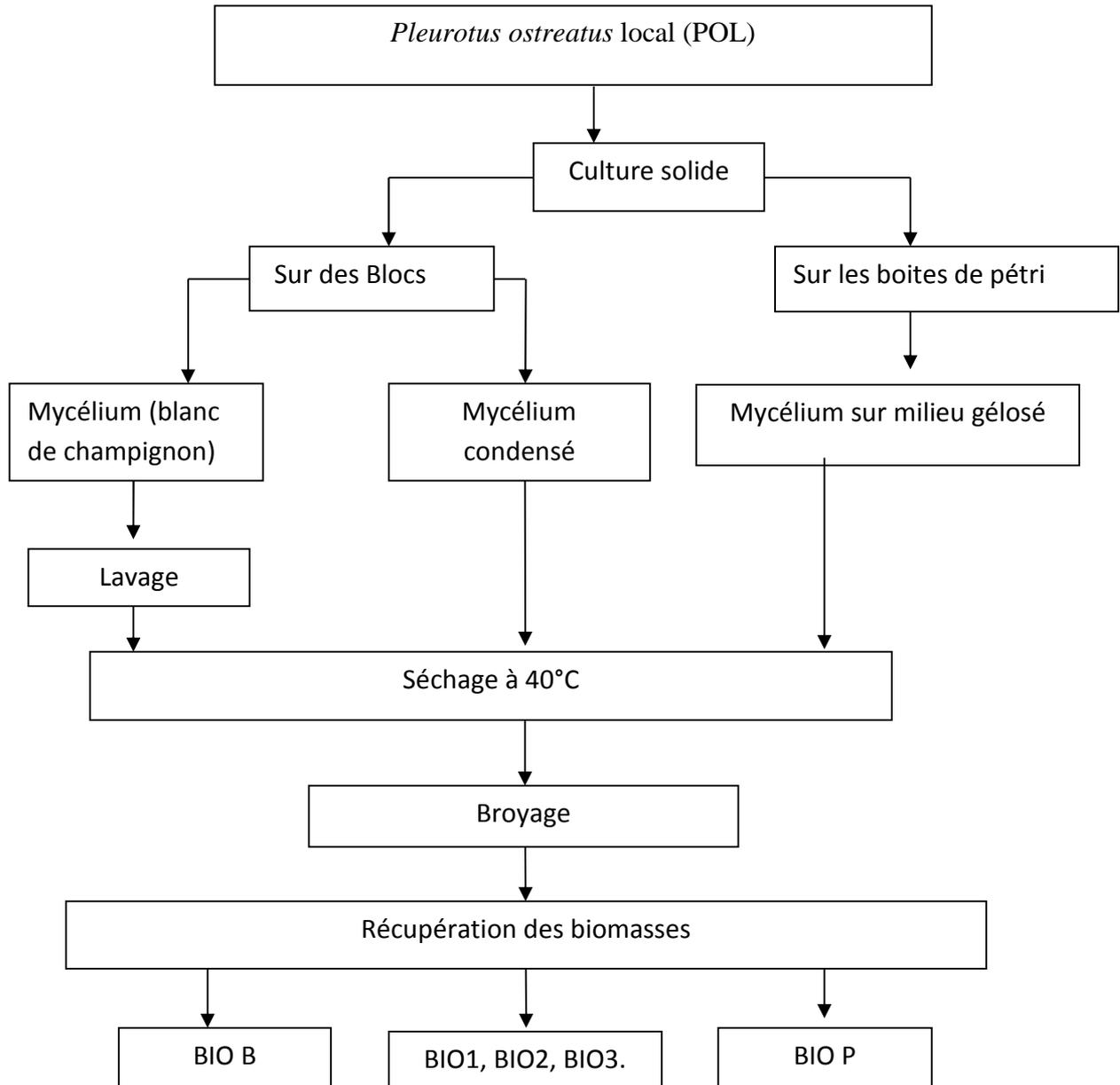


Figure 11 : Organigramme de préparation de différentes biomasses

### III.2.3. Isolation et production des polysaccharides

#### III.2.3.1. Isolation de la chitine et du chitosane libre

Le mode opératoire, adopté pour l'isolation de la chitine et du chitosane libre, a été tiré des travaux de Crestini et al (1996) et de ceux de Rane et Hoover (1993) et est résumé dans l'organigramme de la figure 12.

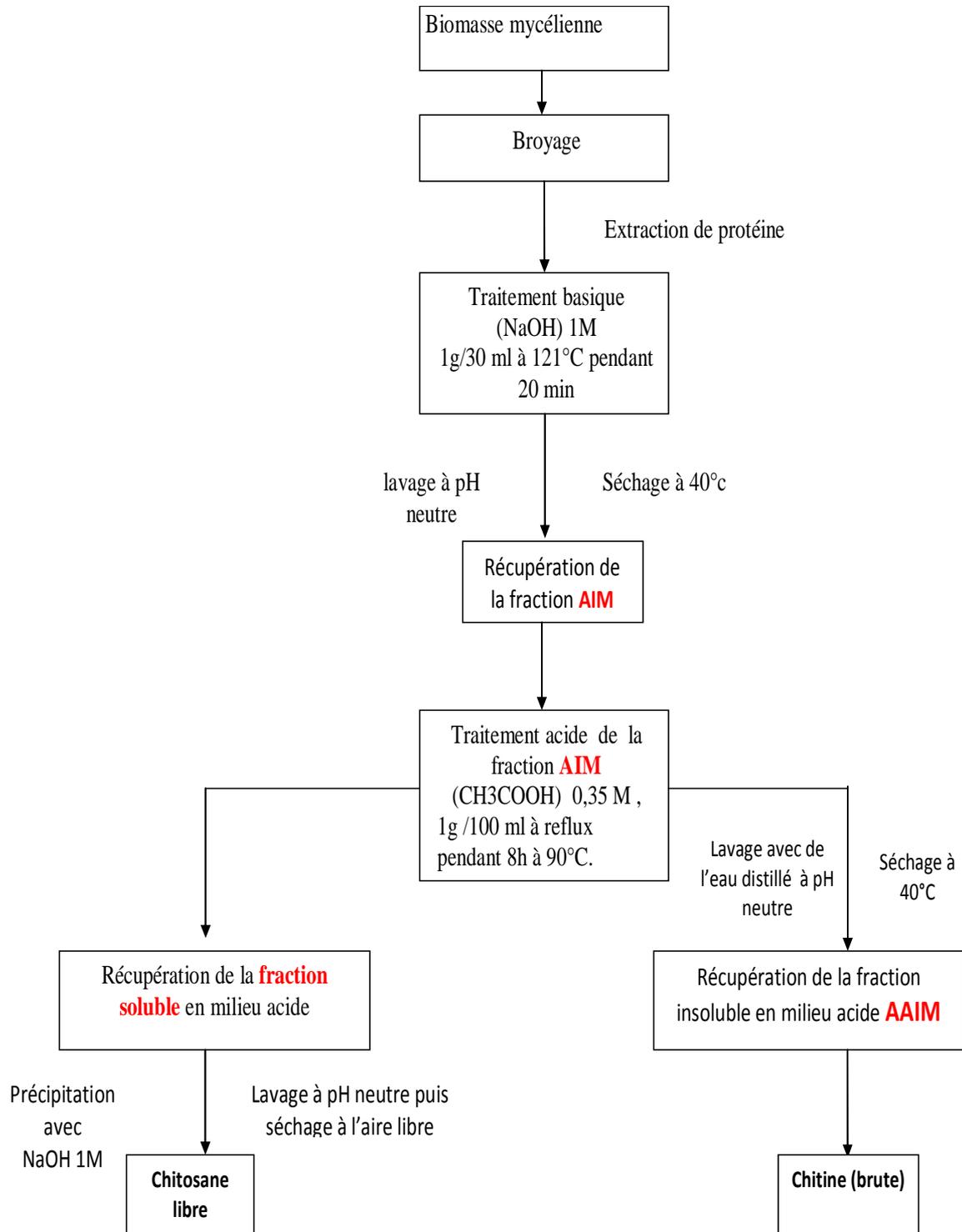


Figure12 : Organigramme d'isolation de la chitine et du chitosane libre (Rane et Hoover, 1993), (Crestini et al, 1996)

Après la récupération des biomasses (BIO1, BIO2, BIO3) et BIOP ainsi que BIOB nous avons effectué des traitements successifs basiques et acides. La même procédure est utilisée pour le mycélium condensé, le mycélium des blocs et le mycélium sur gélose nutritive.

#### **III.2.3.1.1. Traitement basique ou déprotéinisation:**

Une masse de mycélium sec a été mélangée avec un volume de NaOH 1M de rapport 1g/30ml à 121°C pendant 15 min. La fraction alcaline insoluble a été récupérée par filtration. Après lavage à l'eau distillée jusqu'à neutralité, séchage à 40°C puis pesée, la matière sèche obtenue va représenter, pour la suite de cette étude, la fraction insoluble en milieu alcalin nommée AIM.

#### **III.2.3.1.2. Traitement acide de la fraction AIM :**

Une masse de AIM a été traitée avec un volume de CH<sub>3</sub>COOH 0,35M dans un rapport de (1g/100ml) à 95°C pendant 8h à reflux. La suspension a été récupérée par filtration. Après lavage jusqu'à neutralité avec de l'eau distillée, séchage puis pesée, la matière sèche va représenter, pour la suite de cette étude, la fraction insoluble en milieu acide (nommée AAIM). Le filtrat va servir à isoler le chitosane libre dans le cas où il est présent.



Figure 13: Montage de la réaction de solubilisation du chitosane dans l'acide acétique

#### **III.2.3.1.3. Précipitation du chitosane libre à pH 11**

Après traitement acide de la fraction AIM, le surnageant va subir un ajustement du pH jusqu'à 11 par NaOH 1M. Il se produit des flocons engendrés par la précipitation du chitosane. Ce dernier a été lavé jusqu'à neutralité, séché à l'air libre et pesé.

#### **III.2.3.2. Désacétylation de la chitine**

Le mode opératoire adopté pour la désacétylation de la chitine brute a été tiré des travaux de Di Mario et al, (2008) et aussi des travaux de Kadouche, (2013) : 1gde AAIM sec a été mélangé avec 50 ml de NaOH 40% à différentes temps et températures, 35°C pendant 7 j, 90°C et 150°C pendant 4h. La désacétylation a été faite uniquement pour la BIO2 issue du mycélium condensé. La fraction insoluble a été récupérée par filtration puis lavée jusqu'à pH neutre et séchée à 40°C.

Les organigrammes présentés dans les figures 14 et 15 donnent les différentes étapes de la désacétylation

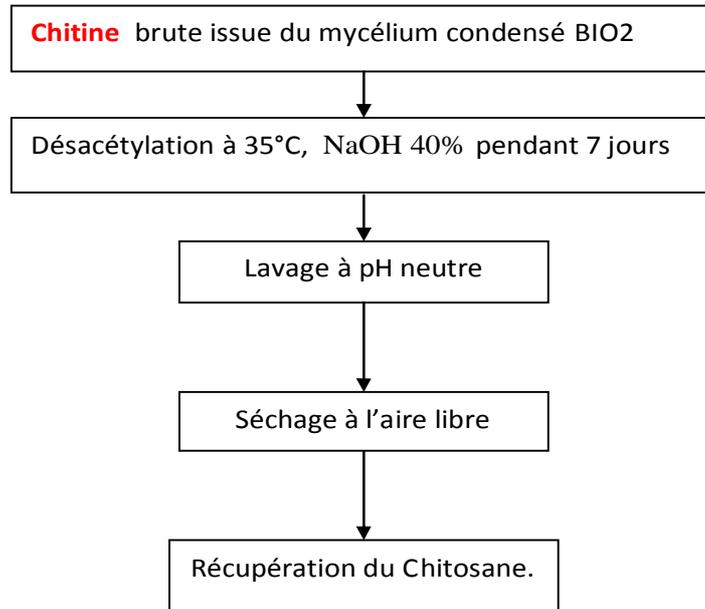


Figure14 : Organigramme de désacétylation de la chitine brute (BIO2) (Kadouche S., 2013)

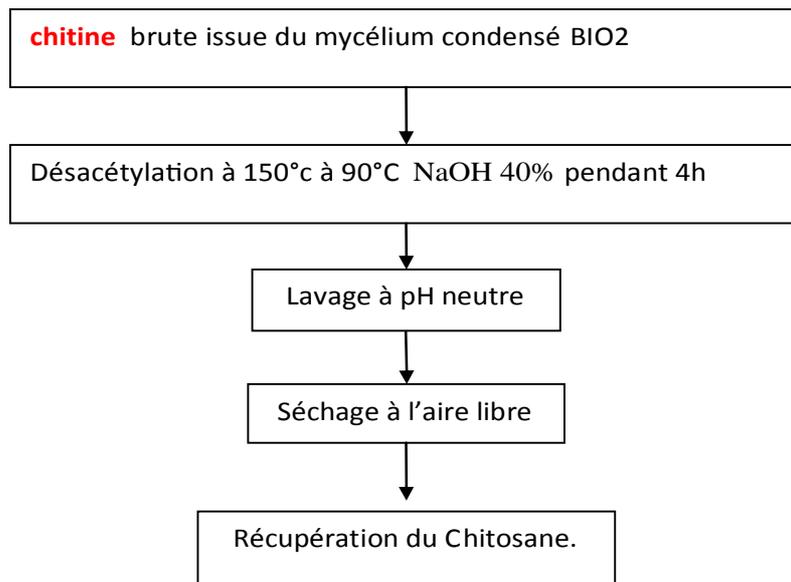


Figure 15 : Organigramme de la désacétylation de la chitine BIO2 (Di Mario et al. 2007)

#### III.2.4. préparation des billes du chitosane

Dans cette partie, nous nous sommes intéressées à la préparation d'un adsorbant naturel ou biosorbant, formé de billes de chitosane. Une masse de la chitine désacétylée a été solubilisée dans un certain volume d'acide acétique 2N, sous agitation pendant 24h. La

solution formée est laissée reposer pendant une nuit. Les billes ont été préparées à l'aide d'une seringue 20G.

### III.2.5. Caractérisation

#### III.2.5.1. Caractérisation par la Microscopie électronique à Balayage

La microscopie électronique à balayage (MEB ou SEM pour Scanning Electron Microscopy en anglais) est une technique de microscopie basée sur le principe des interactions électrons-matières

C'est la méthode la plus utilisée pour observer la morphologie des films minces et mesurer leur épaisseur (Bensaha, 2010). La fraction AIM et AAIM ainsi que le chitosane libre produit ont été analysés au laboratoire physico-chimique des matériaux (LPCM) à l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

#### III.2.5.2. Caractérisation par la spectroscopie Infra-Rouge FTIR

La caractérisation par la spectroscopie Infra-Rouge ou FTIR est utilisée pour la détermination des groupements fonctionnels permettant de figurer la structure. Les analyses ont été faites pour la biomasse, le chitosane libre, le chitosane commercial et la chitine désacétylé sur des pastilles de KBr au laboratoire de biomédicale d'U.M.M.TO. Les spectres obtenus ont été enregistrés entre 4000 et 400  $\text{cm}^{-1}$ .

#### III.2.5.3. Détermination de taux de cendres

Les cendres sont déterminées par incinération. La prise d'essai servie à la détermination de la matière sèche (à 105°C pendant 5h) est suivie par une calcination au four à moufle à 550°C pendant 5h, les cendres exprimées en pourcentage de masse sont données par la formule utilisée par Audigié et al(1984).

$$\text{Taux de cendre} = \frac{(M^2 - M^0)}{(M^1 - M^0)} \times (100)$$

#### III.2.5.4. Test de solubilité

Une masse de chitosane obtenue a été mélangée avec un volume d'acide acétique 1%

#### III.2.5.5. Degré de désacétylation

Le DDA est mesuré selon l'équation de Brugnerotto et al. 2001

$$\text{DDA} = 100 - \left[ \frac{\left( \frac{A_{1320}}{A_{1420}} \right) - 0,3822}{0,03133} \right]$$

### III.2.5.6. Taux d'humidité

Le taux d'humidité du mycélium de pleurote ostreatus POL est réalisé selon les techniques utilisées par Mathieu & Pieltain (2003).

$$H (\%) = \left( \frac{(PF - PS)}{PF} \right) * 100$$

Avec H% Taux d'humidité en pourcentage ;

PF: Poids frais de mycélium ; PS Poids Sec du mycélium

## *VI. Résultats Et Discussion*

### VI.1. Production de la biomasse mycélienne

La quantité de la biomasse sèche maximale a été récupérée à partir du mycélium condensé (100 g) (figure16) suivie du mycélium des blocs (30 g) (figure 17), pour ce qui concerne le mycélium qui a poussé sur milieu gélosé, sur l'ensemble des (75) boîtes de Pétri nous avons obtenu une faible quantité (13g) (figure18).



Figure 16: photo de mycélium condensé



Figure 17: photo de mycélium des blocs



Figure 18: photo de mycélium poussé sur boîte de pétri

La biomasse récupérée à partir du mycélium condensé a été séparée en 3 biomasses à différentes granulométries: BIO1:=1mm, BIO2:< 1mm, BIO3:>1mm (figure 19).

La masse de BIO1 et BIO3 est de 30g chacune et celle de BIO2 est de 40g (tableau 5).



Figure 19: Photo des biomasses de différents granulométries : BIO2, BIO1, BIO3

## VI.2. Caractérisation de la biomasse mycélienne

### VI .2.1- Taux de cendre

Nous avons mesuré le taux de cendre pour la biomasse obtenue à partir du mycélium condensé et représente 2,22 % de la matière sèche. Ce taux en éléments est faible donc l'étape de déminéralisation n'est pas nécessaire pour l'isolation de la chitine contrairement aux déchets de crustacés où cette étape est importante car ils présentent un taux élevé en éléments minéraux.

### VI2.2-Caractérisation par FTIR

Nous avons procédé à la caractérisation de la biomasse obtenue à partir du mycélium condensé (BIO1) de (POL.) Le spectre d'absorption FTIR est donné dans la figure 20. La bande d'absorption à  $3422\text{ cm}^{-1}$  correspond à la vibration OH et NH de la fonction amine. Deux bandes d'absorption à  $2924$  et à  $2800\text{ cm}^{-1}$  correspondent aux liaisons d'élongation des fonctions  $\text{CH}_2$  et  $\text{CH}_3$ . Le petit pic à  $1300\text{ cm}^{-1}$  est attribué à la vibration de déformation de la liaison C-N de l'amide III.

La bande à  $1640\text{ cm}^{-1}$  correspond au groupement C=O (bande amide I). Ceci peut supposer la présence de la chitine/chitosane dans la paroi du mycélium.

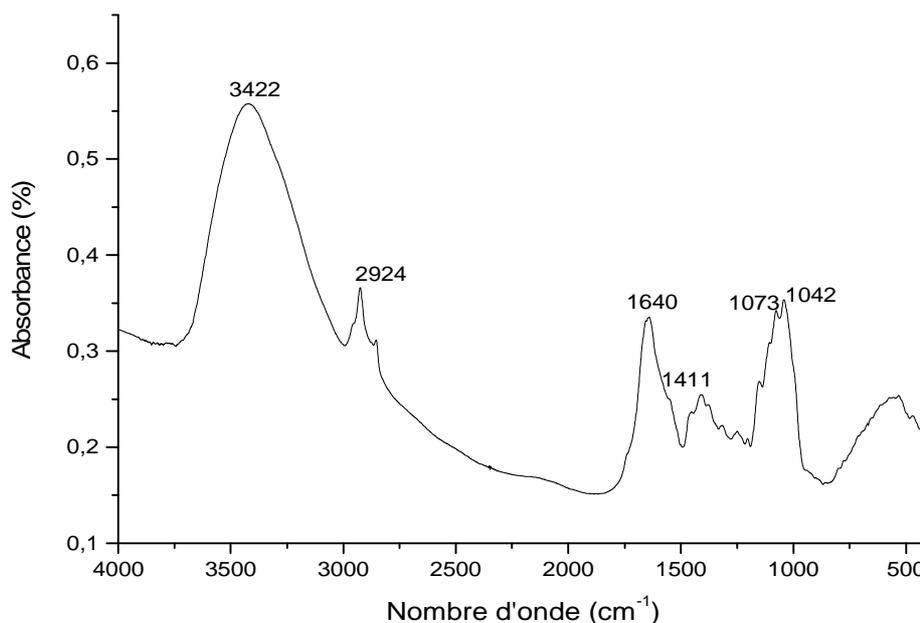


Figure 20: spectre FTIR de la biomasse BIO1

### VI.2.3. Taux d'humidité

Le taux d'humidité du mycélium condensé de *Pleurotus ostreatus* local est de 85 %, donc ce champignon est composé majoritairement d'eau.

### VI.3. Isolation du chitosane libre et de la chitine brute

#### VI.3.1. Cas du mycélium condensé

##### VI.3.1.1. Effet de la granulométrie

Les résultats de l'étude de l'influence de la granulométrie du mycélium de POL sur l'isolation de la chitine et du chitosane sont regroupés dans le tableau 5 qui résume les différentes valeurs des fractions basiques et acide et les valeurs du chitosane libre isolé à partir de chaque biomasse, BIO1, BIO2 et BIO3.

Tableau 5: isolation du chitosane libre et de la chitine à partir du mycélium condensé

Granulométrie	BIO1=1mm	BIO2<1mm	BIO3>1mm
Biomasse(g)	30	40	30
AIM (g)	6,56	8,67	9,25
AIM (g/g biomasse)	0,218	0,216	0,316
AAIM (g)	5,60	7,81	6,93
AAIM (g/g AIM)	0,853	0,900	0,794
AAIM (g/g biomasse)	0,186	0,195	0,231
Chitos (mg)	135,5	204,1	042,9
Chitos (mg/g AIM)	20,6	23,5	4,6
Chitos (mg/g biomasse)	4,5	5,1	1,4

##### VI.3.1.1. 1. La fraction AIM

Le traitement basique par NaOH 1M des biomasses indique que la teneur en AIM varie selon la granulométrie : 0,218 g/g de biomasse pour BIO1, 0,216 g/g de biomasse pour BIO2 et 0,316 g/g de biomasse pour BIO3. Cela veut dire que la paroi cellulaire de POL possède des fractions solubles en milieu alcalin 1 M avec un rendement de 70 à 80 %.

### VI.3.1.1. 2. La fraction AIM

Les fractions AIM ont été traitées par l'acide acétique. Selon les valeurs obtenues nous remarquons qu'il y a une solubilisation de 10 à 20 %. La filtration des fractions AIM conduit à 0,853 g/g de AIM (BIO1), 0,900 g/g de AIM (BIO2), 0,794 g/g de AIM (BIO3). Ces valeurs correspondent respectivement aussi à 0,186 g/g de BIO1, 0,195 g/g de BIO2, et 0,231 g/g de BIO3 donc la chitine brute représente 10 % à 20 % de la biomasse mycélienne.

### VI.3.1.1. 3. Le chitosane libre

Le chitosane libre des différentes biomasses a été isolé par ajustement du pH du surnageant avec NaOH 1M. Les valeurs obtenues sont: 20,6 mg/g de AIM (BIO1), 23,5 mg/g de AIM (BIO2), 4,6 mg/g de AIM (BIO3) ou 4,5 mg/g de BIO1, 5,1 mg/g de BIO2, et 1,4 mg/g de BIO3.

Le chitosane représente 0,5 % de la biomasse mycélienne de *Pleurotus ostreatus* local. et le meilleur rendement a été obtenu avec BIO2 de granulométrie < 1.

D'après ces résultats nous pouvons conclure que le mycélium du Basidiomycète comestible *Pleurotus ostreatus* local contient des polysaccharides insolubles en milieu basique AIM et acide AIM. Son mycélium contient aussi du chitosane libre. Les rendements de ces trois fractions sont influencés par la granulométrie de la biomasse mycélienne. En effet la quantité de chitosane est plus importante lorsque le mycélium de POL est réduit sous forme de poudre de granulométrie inférieure à 1mm. Donc l'étape de broyage est importante dans l'isolation du chitosane libre.

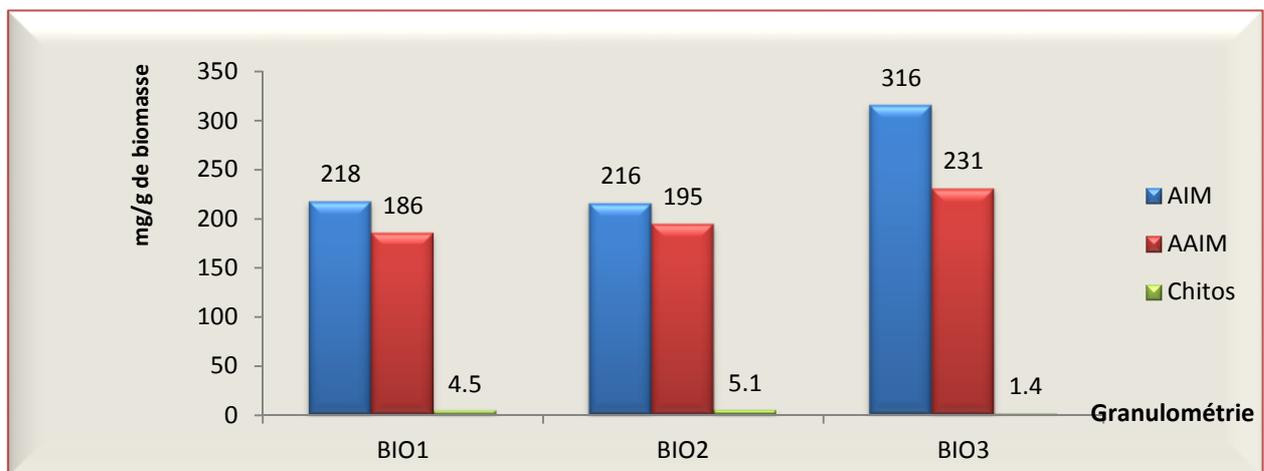


Figure 21: Effet de la granulométrie sur la production de AIM, AIM et Chitos

### VI.3.2. Cas des trois mycéliums utilisés

#### VI.3.2.1. Effet de la nature du mycélium

Pour rappel, le mycélium du champignon comestible *Pleurotus ostreatus* local a été, d'une part, développé sur des résidus agricoles, et récolté sous les formes « stroma » et « mycelium condensé » (primordia et les petits champignons mal développés et les pieds de carpophores bien développés) et d'autre part, sur milieu de culture gélosé (YMEA) en boîte de pétri. Le tableau 6 montre la variation des fractions AIM, AAIM et Chitos obtenues à partir de chaque biomasse mycélienne. En tenant compte des résultats obtenus sur l'étude de l'effet de la granulométrie, les biomasses BIOB et BIOP ont été utilisées sous forme de poudre de diamètre < 1 mm.

Tableau 6: Isolation du chitosane libre à partir de BIO2, BIOB et BIOP

Granulométrie	BIO2<1mm	BIOB < 1mm	BIOP<1mm
Biomasse (g)	40	30	13
AIM (g)	8,67	6,8	2,29
AIM (g/g biomasse)	0,216	0,226	0,176
AAIM (g)	7,81	5,01	1,71
AAIM (g/g AIM)	0,900	0,736	0,746
AAIM (g/g biomasse)	0,195	0,167	0,13
Chitos (mg)	204,1	147	40
Chitos (mg/g AIM)	23,5	21	17
Chitos (mg/g biomasse)	5,1	4,9	3

##### VI.3.2.1.1. La fraction AIM

Le traitement basique par NaOH 1M des biomasses BIOB (bloc) et BIOP (boîte de pétri), a permis l'obtention de valeurs variables de fractions insoluble : 0,226 g/g de BIOB et 0,176 g/g de BIOP. Ces valeurs sont proches de celle obtenue avec BIO2 (0,216g/g). Nous avons remarqué que le mycélium des blocs et celui récupéré à partir des boîte de pétri possèdent aussi des matières solubles en milieu alcalin avec un rendement de 70 % à 80 %.

##### VI.3.2.1.2. La fraction AAIM (chitine brute)

De la même manière que précédemment, ces fractions alcaline insoluble ont été subit un traitement acide par CH<sub>3</sub>COOH 0,35 M. Les fractions insoluble acide ont été récupérées par une

filtration, séchées et pesées. La valeur de AAIM obtenue à partir de BIO2 (0,195 g/g de BIO2) est supérieure que celles obtenues à partir de BIOB (0,167 g/g de BIOB) et BIOP (0,131 g/g de BIOP).

Comparées aux valeurs obtenues par Yen & Mau (2006) sur la préparation de la chitine fongique à partir du pied de *Shiitake* selon le procédé de Kurita et *al.* 1993. Les rendements en chitine brute sont de l'ordre de 25,08 à 36,72 %, les rendements que nous avons obtenus sont assez proches.

Il ressort de ces travaux que la chitine qui est l'un des principaux composants de la paroi cellulaire fongique existe en quantité variable selon l'espèce fongique et probablement selon le mode d'extraction.

#### VI.3.2.1.3. Le chitosane libre

L'extraction du chitosane a été effectuée par la méthode de Rane et Hoover (1993). Le chitosane qui a été précipité par NaOH 1M (figure 22) a été récupéré après lavage et pesé. Le rendement du chitosane isolé à partir de BIO2 et BIOB sont proche (5,1 mg/g de BIO2 et de 4,9 mg/g de BIOB). Par contre celui isolé par BIOP est en faible quantité, 3,07 mg/g de BIOP.



Figure 22: précipité obtenue après l'ajout de NaOH 1M.

Selon les travaux de Omogbai & Ikenebomeh (2013) effectuée par la méthode de Rane et Hoover 1993 sur l'isolation de chitosane fongique à partir du champignon *Rhizopus oryzae* (Zygomycète), le meilleur rendement du chitosane (8 mg/g de biomasse) a été obtenu sur un milieu contenant de la paille et du maïs. Ce rendement est supérieur à celui obtenue dans notre

travail (5,1 mg/g BIO2) avec un milieu à base de paille de blé, de marc de café et de grignon d'olive et du mélange de ces 3 résidus agricoles.

En générale la teneur en chitosane et les fractions insoluble basique AIM et acide AAIM sont influencé par la composition du milieu de culture et l'espèce de champignon utilisée.

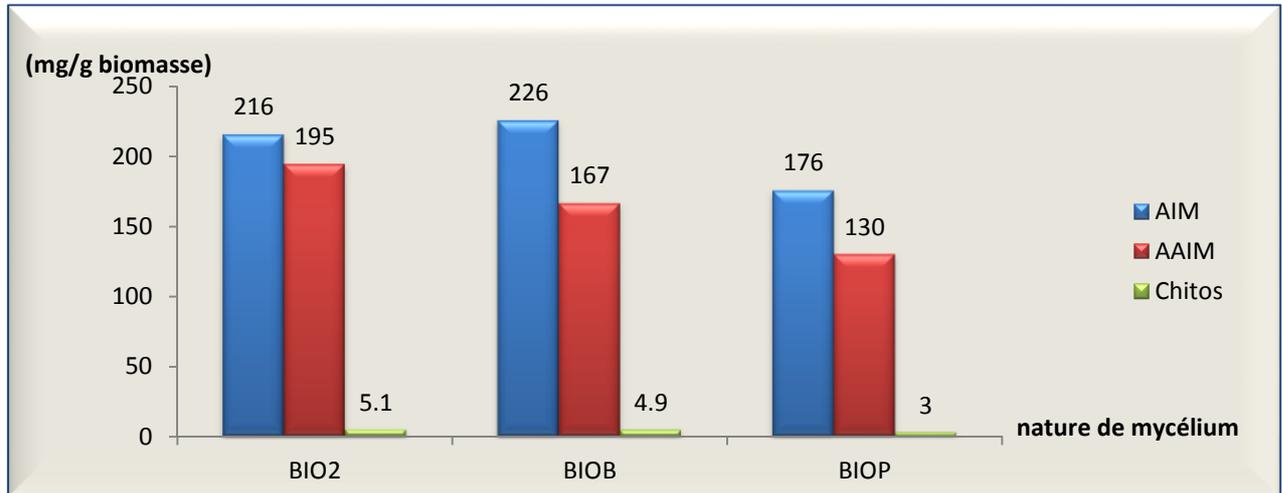


Figure 23: effet de la nature du mycélium dans la production de la AIM, AAIM et Chitos

#### VI.4. Production du chitosane à partir de la désacétylation de la chitine

La chitine est généralement convertie en chitosane par désacétylation alcalin avec l'hydroxyde de sodium (Chang *et al.* 1997).

En raison de la quantité élevée de la chitine brute obtenue à partir du mycélium condensé, la désacétylation a été réalisée seulement pour cette fraction AAIM produite.

La fraction AAIM issue de la BIO2 à été désacétylée à 35°C pendant une semaine, à 150°C et à 90°C pendant 4 h, Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau 7

Tableau.7:désacétylation de la chitine.

Biomasse	BIO2		
AAIM (g)	4	2	1
Température (°C)	35	150	90
Temps (h)	168	4	4
CTN désa (g)	1,05	0,27	0,22
CTN désa (mg)/AAIM(g)	264	135	220

Après lavage à l'eau distillée plusieurs fois les fractions récupérées ont été pesées. Le rendement de la chitine désacétylée à 35°C 264 mg/g de AAİM.

Le rendement de la chitine désacétylée pendant 4h à 90°C ; 220 mg/g de AAİM est meilleur par rapport à celui obtenu à 150°C ; 135 mg/g de AAİM.

Selon les travaux de Di Mario F, et *al.* 2007, le rendement du chitosane préparé à partir de la désacétylation de la chitine à (80°C-150°C) issue de différente souche sont rassemblé dans le tableau suivant :

Tableau 8: rendement du chitosane préparé à partir de la chitine. (Di Mario F, et *al.* 2007).

	Rendement %	DDA %
Pleurotus ostreatus (SMR)	30,7	98,7
Pleurotus eryngii (SMR)	44,8	94,2

Le rendement de la chitine désacétylé issu de *Pleurotus ostreatus*(SMR) et de *Pleurotus eryngii* (SMR) sont respectivement 30,7 % et 44,8 %, nous avons comparé ces valeurs aux résultats obtenue dans notre travail (13,5 % et 22 %) nous avons conclu que le rendement du chitosane préparé à partir de la chitine, dépend de type de la souche utilisée, la durée et la température associée au traitement alcalin.

Ici nous avons récupérer le chitosane libre, la chitine brute (fraction AAİM) et la chitine désacétylée.

En générale la biomasse de *Pleurotus ostreatus* local (Pol) est composée de 70 % à 80 % de fraction soluble en milieu alcalin(FSA), de 20 % à 30 % de la fraction insoluble en milieu alcalin (AİM) et de 10 % à 20 % de la fraction insoluble en milieu acide(AAİM). Le chitosane est présent dans la paroi cellulaire de ce champignon mais à un faible pourcentage.

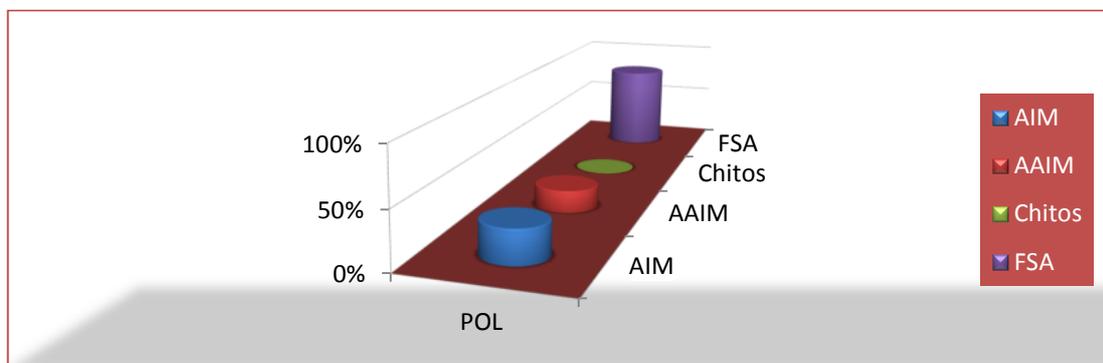


Figure 24 : composition de la biomasse mycélienne(POL)

## VI.5. Caractérisation des chitosanes. Cas du mycélium condensé.

### VI.5.1. Test de solubilité

Les échantillons obtenus ont été mis dans une solution d'acide acétique afin de tester leurs solubilités en milieu acide dilué.

Les chitosane libres obtenues à partir du mycélium condensé à différentes granulométries et le mycélium des blocs sont insolubles dans l'acide acétique 1 %.

Le chitosane libre issue de la BIO P ainsi que Les chitines désacétylées sont solubles dans l'acide acétique 1%.

### VI.5.2. Caractérisation par FTIR

Les spectres d'absorption FTIR du chitosane libre, la chitine désacétylé et du chitosane commercial sont représenté respectivement sur les figure 26, 27 et 28.

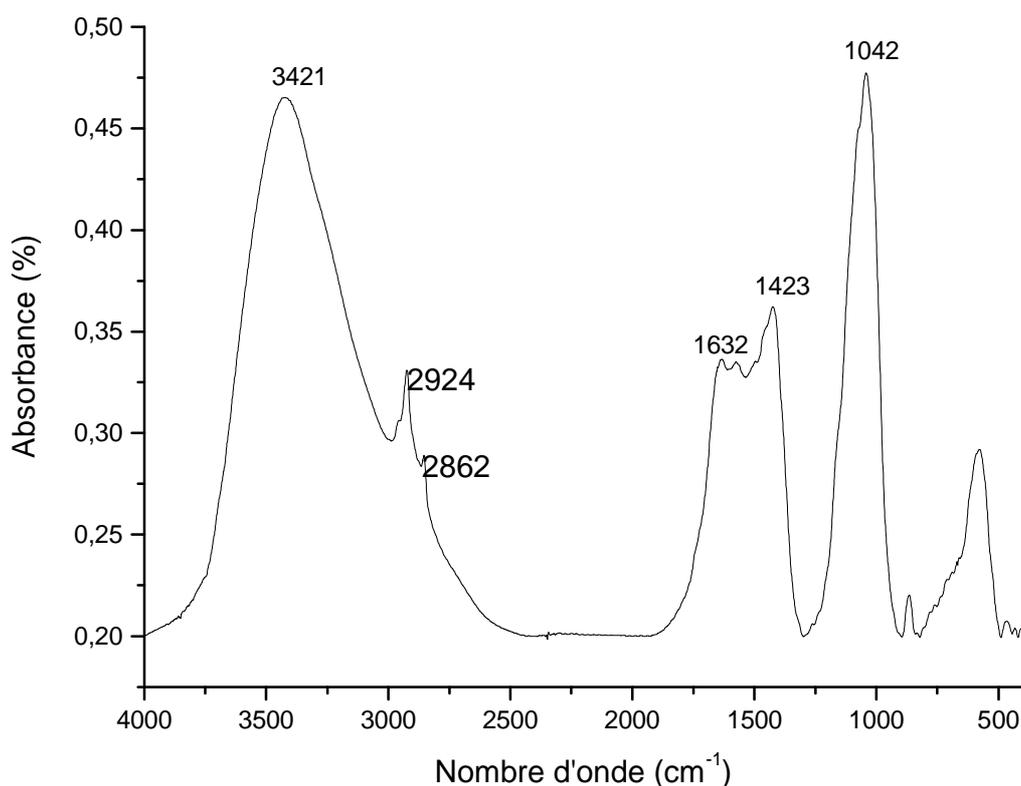


Figure 25 : spectre FTIR du chitosane libre BIO2

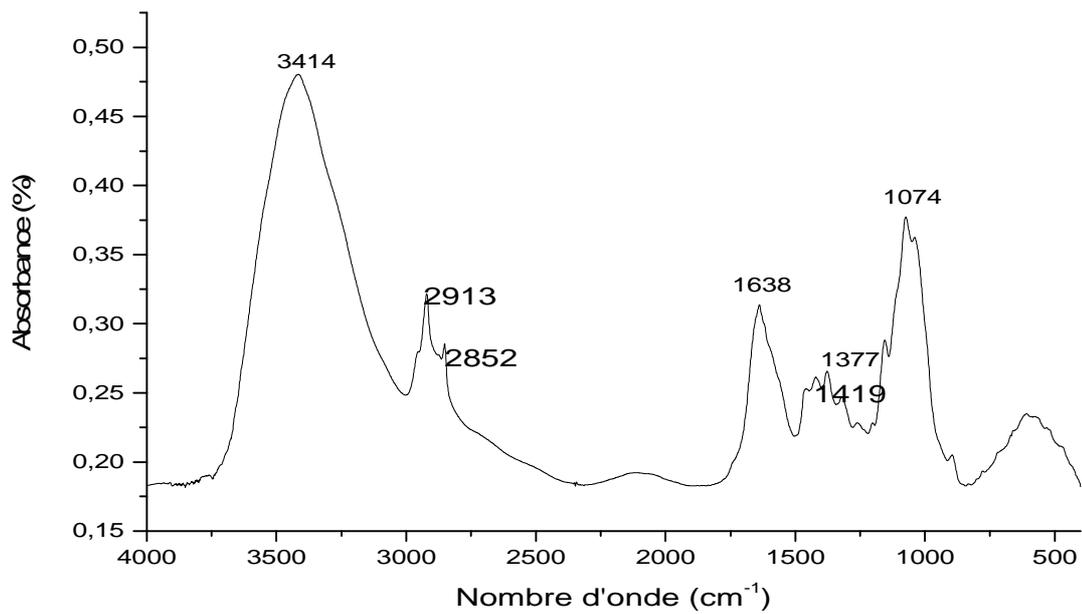


Figure 26 : spectre FTIR de la chitine désacétylé BIO2

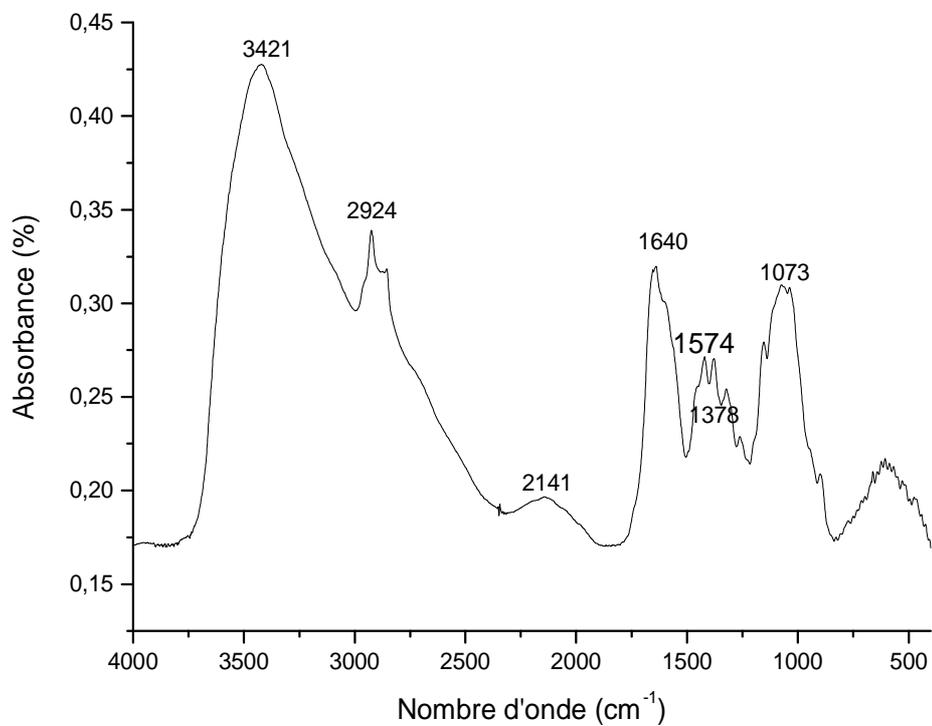


Figure 27: spectre FTIR du chitosane commerciale FLUKA

D'après les figures ; on remarque presque une similarité dans les trois spectres d'absorption. La bande à  $3421\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à l'élongation de la liaison N-H et O-H dans le spectre du chitosane commercial et le chitosane libre, se déplace à  $3414\text{ cm}^{-1}$  dans la chitine désacétylé.

Les bandes d'amide I et d'amide II sont plus faible ( $1632, 1638, 1640\text{ cm}^{-1}$ ) pour les trois spectres.

La bande d'amide II qui apparait à  $1564\text{ cm}^{-1}$  et à  $1574\text{ cm}^{-1}$  est presque absente dans le spectre de la chitine désacétylé

Les spectres obtenus par spectroscopie Infra-Rouge pour le chitosane libre (figure 26) et la chitine désacétylée préparés (figure 27) sont comparés à celui du chitosane commerciale (figure 28). Les bandes principales de ces trois spectres sont montrés dans le tableau 10.

Tableau 9: Principales bandes des spectres Infra-Rouge du chitosane préparé, de la chitine désacétylée préparée et du chitosane commercial.

Bandes d'absorption $\text{cm}^{-1}$			Attribution
Chitosane libre <sup>a</sup>	Chitine désacétylée <sup>b</sup>	Chitosane commerciale	
3421	3414	3421	N-H et O-H
2924	2913	2924	C-H ( $\text{CH}_2$ ou $\text{CH}_3$ )
2862	2852	2852	C-H ( $\text{CH}_3$ )
1423	1419	1420	C-H ( $\text{CH}_2$ )
1632	1638	1640	C=O (amide I).
1574	-	1574	N-H (amide II).
1073	1074	1073	C-O-C
1025	1027	1025	C-OH

<sup>A</sup> : à partir du mycélium condensé (Bio1).

<sup>B</sup> : à partir du mycélium condensé (Bio2).

### VI.5.3. détermination de Degré de désacétylation

Les propriétés de la chitine et du chitosane dépendent de degré de désacétylation qui est l'un des facteurs les plus importants. Le degré de désacétylation de différents chitosanes préparés est comparé à celui du chitosane commercial.

Le tableau 9 montre les valeurs de DDA en % pour le chitosane commercial et la chitine désacétylé.

Tableau 10: le DDA % des chitosanes

Composé	Chitosane commercial	Chitine désacétylé
DDA%	70,89	70,84

D'après les résultats obtenus dans le tableau 9, on remarque que la DDA de la chitine désacétylée (70,84) est  $>$  à 50%, cette valeur est proche de la DDA du chitosane commercial (70,89). Ce résultat confirme la solubilité du chitosane préparé à partir de la chitine.

#### VI.5.4. Détermination de la morphologie par Microscope Electronique à Balayage MEB

Nos échantillons ont été analysés par microscopie électronique à balayage MEB, cette méthode de caractérisation va nous permettre de regarder la morphologie de différentes fractions préparées. L'analyse par MEB de la fraction AIM, AAIM et Chitosane montre que leurs surfaces sont de structure cristallines et on observe la présence de « trous » qui correspondent aux pores présents sur les fractions.

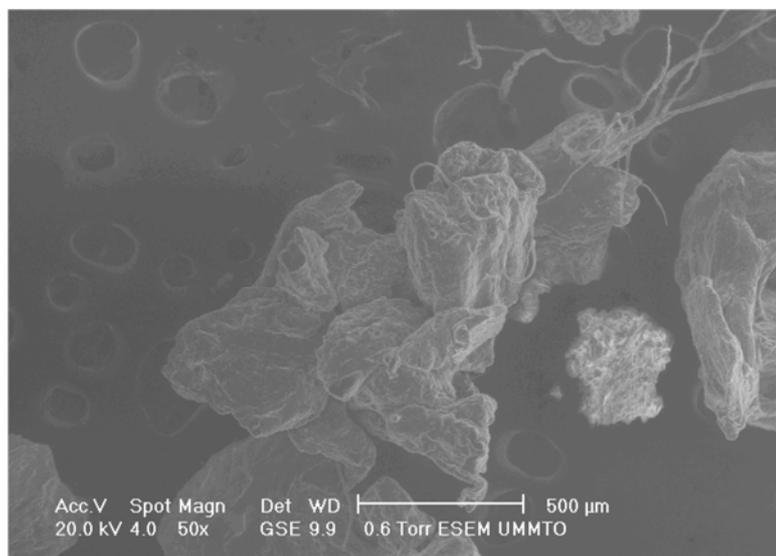


Figure 28 : micrographie de la fraction AIM.

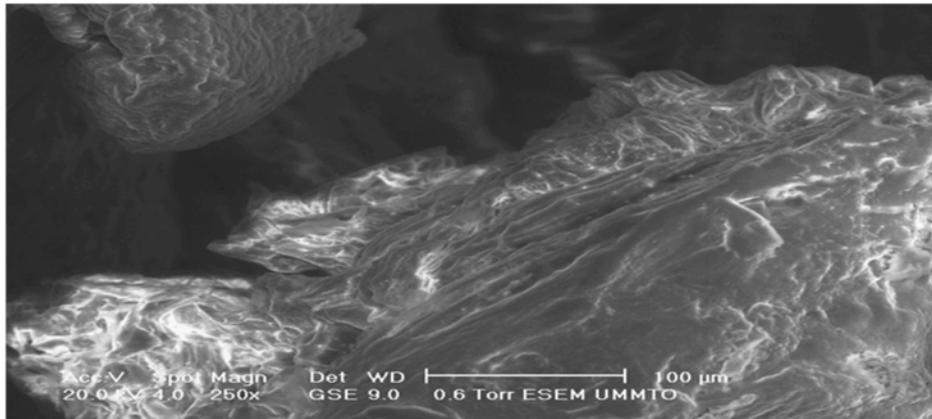


Figure 29: micrographie de la fraction AIM.

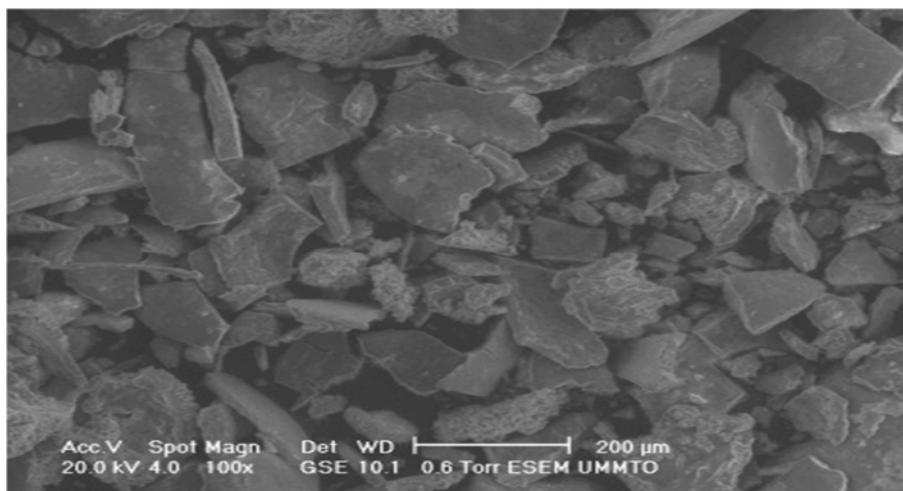
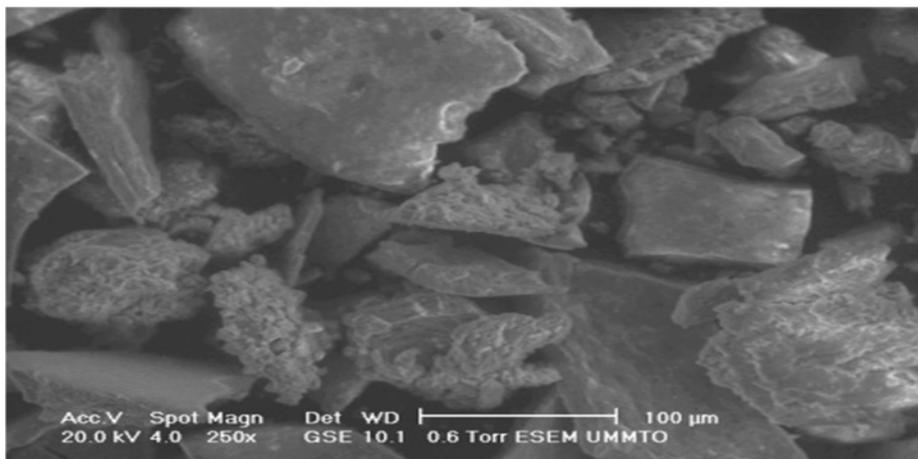


Figure 30: micrographie du chitosane libre (BIO).

La micrographie MEB du chitosane libre (bio) nous montre :

- Une surface hétérogène,
- différentes formes,
- différentes tailles,
- Une surface peu poreuse.

#### **VI.6. Production des billes de chitosanes**

La poudre de chitosane récupéré a été transformée en billes. Ces billes du chitosane ont été préparées par la chitine désacétylée à 90°C.

-Les billes humides obtenues après leur synthèse ne sont pas sphériques, mais elles sont remplies et elles présentent une surface lisse. Ces billes ont une couleur marron leurs tailles varie entre 1,2 mm et 1,7 mm.



Figure 31 : billes du chitosane fongique.

## ***V. CONCLUSION ET PERSPECTIVES***

### V. CONCLUSION GENERALE

Actuellement l'utilisation des biopolymères a savoir la chitine et le chitosane ont montré leurs itérés dans le domaine de traitement des eaux.

Cette étude est consacrer a produire la chitine et le chitosane à partir de *Pleurotus ostreatus* local (POL).

Les essais expérimentaux ont montré la possibilité de produire du chitosane à partir de *Pleurotus ostreatus local* (POL) en faisant subir à La biomasse mycélienne des traitements successive basique et acide, et aussi par la désacétylation de la chitine. Le chitosane produit est présente sous deux formes, en tant que chitosane libre ou chitine désacétylée.

Le résultat de taux d'humidité a montré que le *Pleurotus ostreatus local* est composé de 85 % d'eau. 20 % à 30 % de la biomasse sec de son mycélium représente la fraction AIM, donc ce champignon est riche en matières solubles en milieu alcalin.

Les résultats d'isolation de la chitine ont montré que cette fraction représente 10 à 20 % de la biomasse de POL. Comparées aux valeurs obtenues par Yen & Mau (2006), Il ressort que cette fraction existe en quantité variable selon l'espèce fongique et probablement selon le mode d'extraction.

L'étude de l'effet de la granulométrie sur l'isolation du chitosane a permit de mettre en évidence l'importance de l'étape de broyage, en effet le rendement du chitosane est meilleur lorsque le mycélium de POL est réduit sous forme de poudre de granulométrie inférieure à 1mm.

L'étude de l'effet de la nature du mycélium a permit de conclure que le rendement en chitosane et les fractions insoluble basique AIM et acide AAIM sont influencé par la composition du milieu de culture et l'espèce de champignon utilisée.

La production du chitosane à partir de la désacétylation de la chitine à différentes températures, nous a permit de conclure que le rendement du chitosane préparé, dépend de type de la souche utilisée, la durée et la température associée au traitement alcalin.

En générale la biomasse de *Pleurotus ostreatus local* (Pol) est composée de 70 % à 80 % de fraction soluble en milieu alcalin, de 20 % à 30 % (AIM) et de 10 % à 20 % de (AAIM). Le chitosane est présent dans la paroi cellulaire de ce champignon mais à un faible rendement (0,5 %).

## Conclusion générale et perspectives

---

Pour la préparation des billes à partir du chitosane fongique il faut s'intéresser à la désacétylation de la chitine à 90°C.

### PERSPECTIVES :

- la désacétylation des autres fractions AAIM issue du mycélium des blocs et celui récupéré à partir des boîtes de Pétri,
- préparation des billes du chitosane à partir de ces fractions,
- faire l'étape de blanchiment pour les billes obtenue dans notre travail,
- application de la décoloration des eaux avec les billes récupérées.

## ***REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUES***

Akila R. M., 2014. Fermentative production of fungal Chitosan, a versatile biopolymer (perspectives and its applications), *Advances in Applied Science Research*, 5(4), 157-170

Ararem F., 2010. Synthèse et caractérisation de biopolymères Application au piégeage, thèse de Magister ; Université D'Oran Es-Sénia

Benamar M., 2016. Valorisation des résidus agricoles par la culture de deux souches de champignon comestible du genre *Pleurotus*, thèse de doctorat ; Université de Tizi-Ouzou

Benguella B., 2009. Valorisation des argiles Algériennes application à l'adsorption des Colorants textiles en solution, Thèse de Doctorat ; l'Université de Tlemcen.

Bensaha S., 2010. La décontamination des eaux usées sur un support naturel , thèse de magister ; université aboubekrbelkaid – Tlemcen

Badredin I., 2008. Etude des surfaces cellulaires d'*Aphanomyces euteiches*, parasite majeur de légumineuses, thèse de doctorat ; l'Université Toulouse III - Paul Sabatier

Brugnerotto J., Lizardi J., Goycoolea F.M., Arguelles-Monal W., Desbrieres J., Rinaudo M., 2001. An infrared investigation in relation with chitin and Chitosan Characterization. *Polym.* 42(8): 3569-3580.

Chang K. L. B., Tsai G., Lee J., Wen- Rong Fu., 1997: Heterogeneous N- désacétylation of chitin in alkaline solution. *Carbohydrate Research* 303 327- 332.

Crestini C., Kovac B., Giovannozzi-Sermanni G., 1996. Production and isolation of Chitosan by submerged and solid-state fermentation from *Lentinusedodes*. *Biotechnol. Bioeng.* 50 : 207-210.

Crini G., Badot P.M., Morin-Crini N., 2009. Traitement des eaux par du chitosane: Intérêts, méthodes et perspectives, re126, 2.

Crini G., Badot P., Guibal E., 2007. Chitine et chitosane, du biopolymères à l'application. *Presses Universitaires de Franche Comité*. France, pp. 26.

Djelad A., 2011. Préparation des matériaux composites chitosane-Zéolithes. Application dans l'adsorption du cuivre, thèse de doctorat ; Université d'Oran

Durrieu G., 1993. Ecologie des champignons. Collection d'écologie, édition Masson, Paris Milan Barcelone Bonn, 207 p.

Ehrlich H., Krautter M., Hanke T., Simon P., Knieb C., Heinemann S., Worch H., 2007. First evidence of the presence of chitin in skeletons of marine sponges. Part II. Glass sponges (Hexactinellida: Porifera). *J. Exp. Zoolog. B Mol. Dev. Evol.* 308: 473-483.

El Hadji Babacar Ly., 2008. Nouveaux matériaux composites thermoformables à base de fibres de cellulose, thèse de doctorat ; laboratoire de Génie des Procédés Papetiers, UMR 5518

F. Di Mario., P. Rapan` a U. Tomati, E. Galli. 2008. Chitin and Chitosan from Basidiomycetes. *International Journal of Biological Macromolecules*; **43**: 8–12

## Référence bibliographiques

---

Février C., Willequet F., 2009. Valorisation par l'alimentation animale in Moletta René. Le traitement des déchets. Editions TEC & DOC, lavoisier.

Gamage A & Shahidi F., 2007. Food Chemistry 104.

Ghosh N, Chakravarty DK., 1990. Predictive analysis of the protein quality of *Pleurotus citrinopileatus*. *J Food Sci Technol*; 27:236–8.

Hammami S, (2008). Etude de dégradation des colorants de textile par les Procédés d'oxydation avancée : application a la dépollution des rejets industriels, thèse de doctorat ; l'Université Paris-Est et Tunis El Manar.

Hudson S M., Jenkins D.W., 2003. Chitin and Chitosan in: EPST. Mark HF, ed. New York: Wiley, 569

Jun Cai et al. Enzymatic preparation of chitosan from the waste *Aspergillus niger* mycelium of citric acid production plant. *Carbohydrate Polymers*; **64**: 151–157 (2006)

Kadouche S., 2013. Utilisation des biomatériaux dans le traitement des eaux ; Thèse de doctorat; UMMTO.

Le Calvez T., 2009. Diversité et fonctions écologiques des champignons en écosystème hydrothermal marin profond, thèse de doctorat ; Université de rennes 1

Merzendorfer H., 2006. Insect chitin synthases: a review. *J. Comp Physiol B*. 176: 1-15

Muzzarelli RAA 1996. Chitin, 1st edn. Pergamon Press, New York No HK, Meyers SP, Prinyawiwatkul W, Xu Z (2007). Applications of chitosan for improvement of quality and shelf life of foods. *J Food Sci*; **72**: 87–100

Martínez-Carrera D., Sobal M., Morales P., Martínez-Sánchez W., Aguilar A., Larque-Saavedra A., 1995. Edible mushroom cultivation and sustainable agriculture in Mexico. *Afr J Mycol Biotechnol*; 3:13–8.

Manu-Tawiah W, and. Martin A, 1986. Study of Operational Variables in the Submerged Growth of *Pleurotus ostreatus* Mushroom Mycélium, Department of Biochemistry, Memorial University of Newfoundland, St. John's, Newfoundland, Canada A1B 3X9.

Natali Mesa Ospina et al. Isolation of chitosan from *Ganoderma lucidum* mushroom for biomedical applications. *J Mater Sci: Mater Med* 26:135 (2015)

Nitar New, Willem F. Stevens. 2002 Production of fungal chitosan by solid substrate fermentation followed by enzymatic extraction. *Biotechnology Letters*; **24**: 131–134

Nitar Nwe, Willem F. Stevens. 2004. Effect of urea on fungal Chitosan production in solid substrate fermentation. *Process Biochemistry*; **39**: 1639–1642

Niederhofer A., Bernd W., Muller. A., 2004. Method for direct preparation of chitosan with low molecular weight from fungi. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*; **57** : 101–105

## Référence bibliographiques

---

Nefzaoui A., 1991. Valorisation des sous produits de l'olivier. In: Tisserand J.-L. (ed.) Alibés X.(ed.). Fourrage et sous produit méditerranéens. Zaragoza : CIHEAM, 1991. P. 101-108.

Omogbai B and Ikenebomeh M, 2013. Solid-state fermentative production and bioactivity of fungal chitosan: 3 (2) 172-175.

OEI P., 1993.la culture des champignons. Edition Collection le produit. Ministère de la coopération.

Payet L., 2005.Viscoelasticite et structure de gels à base de chitosane -relations avec les propriétés diffusionnelles de macromolecules dans ces biogels, thèse de doctorat ; Université paris 7 – denisdiderot

Peter M. G., 2002. Chitin and Chitosan from Animal Sources» dans: Biopolymers; Volume 6; Polysaccharides II: Polysaccharides from Eukaryotes

Rane K.D. & Hoover D.G., 1993. Food Biotechnology.7 (1): 11-33.

Roberts G. A. F., 1992. Chitin Chemistry. London, MacMillan. Muzzarrelli, R. A. A.; M. G. Peter, Eds. 1 997.Chitin Handbook.Grottammare, Atec

Ruiz-Herrera J., 1992.Fungal Cell Wall: Structure, Synthesis and Assembly. Boca Raton, FL: CRC Press. 239-333.

Rajaratnam, S. & Bano Z., 1989. Pleurotus mushrooms part III. Biotransformation of natural lignocellulosic wastes: commercial applications and implications. *Crit Rev Food Sci Nutr.*;28(1):31-113.

Shahidi F., Arachchi J. K. V., Jeon Y. J., 1999. Food applications of chitin and chitosans. *Trends in Food Science & Technology*, 10(2), pp. 37-51.

Shahidi F., Abuzaytoun R., 2005. Chitin, chitosan, and co-products: chemistry, productions, , and applications health effects. *Adv. Food Nutr. Res.* , 49: 93-135).

Siestma J. H & Wessels J. G. H., 1977.Chemical analysis of the hyphal wall of *Schizophyllum commune*. *Biochim.Biophys. Acta.* 496: 225-239.

Suntornsuk W., Pochanavanich P., L., 2002. Fungal chitosan production on food processing by-products. *Process Biochemistry*; **37**: 727–729.

Sansoucy R., 1984. Utilisation des sous-produits de l'olivier en alimentation animale dans le bassin Méditerranéen. *Etude FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), Production et Santé Animales*, vol. 43, p148.

Tao Wu, 2004. Production and Characterization of Fungal Chitin and Chitosan; these de master University of Tennessee, Knoxville.

## Référence bibliographiques

---

Wang W., 1994 Viscosity and flow properties of concentrated solutions of chitosan with different degree of deacetylation, *Int. J. Biol. Macromol.*, 16 (3).149-1 52.

Wolf E.R.S & Wisbeck E., Silveira M.L.L., Gern R.M.M., Pinho M.S.L., Furlan, S A., 2008. Antimicrobial and Antineoplastic Activity of *Pleurotus ostreatus*, *Appl Biochem Biotechnol* , **151**, 402–412 .

Yen M. T. & Mau J. L., 2006. Preparation of fungal chitin and chitosan from shiitake stipes. *Fung. Sci*; **21**(1, 2): 1–11

Zeitoun R., 2011. Procédés de fonctionnement de la matière végétale. Application à la production des polysaccharides du son et de la paille de blé. Thèse de Doctorat de l'université de Toulouse (France), Institut National polytechnique de Toulouse, Science des agro-ressources, 288p.

## **Résumé**

Depuis quelques années les recherches ont été orientées vers une nouvelle voie pour la dépollution de l'environnement. Le laboratoire de Production, Amélioration et Protection des Végétaux (LPAPV) de la Faculté des Sciences Biologiques et des Science Agronomiques de l'Université de Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou a pour objectif de valorisé les déchets agricoles dans la culture des champignons. Notre travail est basé sur la valorisation de la biomasse d'un champignon comestible *Pleurotus ostreatus* et la production de polysaccharides. En effet la chitine et le chitosane, deux polysaccharides, ont prouvé leurs intérêts dans de nombreux domaines : agroalimentaire, biologie, environnement, médecine, pharmacie...etc. le mycélium de *Pleurotus ostreatus* a été utilisé sous trois formes : mycélium préparé sur bloc constitué d'un mélange de grignon d'olive, de la paille et de marc de café, mycélium récupéré par broyage des petits pieds et chapeaux sous trois différents granulométries et le mycélium développé sur milieu gélosé. Le rendement de la biomasse et les différents polysaccharides calculé issu des trois types de mycélium ont été calculés et comparés.

**Mots clés :** Biomasse; chitine ; chitosane ; culture ; mycélium ; *Pleurotus ostreatus*

## **Abstract**

In recent years research has been directed towards a new voice for environmental clean-up. The objective of the Plant Production, Improvement and Protection Laboratory (LPAPV) of the Faculty of Biological Sciences and Agronomic Sciences of the University of Mouloud Mammeri in Tizi-Ouzou is to enhance agricultural waste in the cultivation of mushrooms.

. Our work is based on the valorization of the biomass of an edible fungus *Pleurotus ostreatus* and the production of polysaccharides. Indeed chitin and chitosan, two polysaccharides, have proven their interests in many fields: food industry, biology, environment, medicine, pharmacy ... etc. the mycelium of *Pleurotus ostreatus* was used in three forms: mycelium prepared on a block composed of a mixture of olive pomace, straw and coffee grounds, mycelium recovered by grinding small feet and hats under three different particle sizes and the mycelium developed on agar medium. The yield of the biomass and the different polysaccharides calculated by the different types of mycelium were calculated and compared.

**Key words:** Biomass; chitin; chitosan; culture ; mycelium; *Pleurotus ostreatus*