



## *REMERCIEMENTS*

*Après avoir rendu grâce à Dieu le tout puissant et le miséricordieux, nous tenons à remercier, vivement, tous ceux et celles qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce mémoire.*

*Ce travail a été réalisé au niveau du Laboratoire de Production, Amélioration et Protection des Végétaux de la Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques (FSBSA) de l'Université Mouloud MAMMERRI de Tizi-Ouzou (UMMTO) sous la direction de mesdames Mansour-Benamar Malika et Dermeche Samia.*

*Nous exprimons notre gratitude et nos sincères remerciements ainsi que notre profond respect à Madame Mansour-Benamar Malika, Maître de conférences classe B à la FSBA (UMMTO) pour nous avoir encadrées, aidées, conseillées et suivies attentivement dans la réalisation de ce mémoire de Master II.*

*Nous exprimons ainsi notre remerciement à notre co-promotrice M<sup>elle</sup> Dermeche Samia pour son aide et ses efforts inestimable.*

*Nous voudrions aussi exprimer notre reconnaissance à Madame Aiche-Iratni Ghenima, maître de conférences classe B (FSBA, UMMTO), d'avoir accepté de présider le jury de soutenance, ainsi que pour l'aide inestimable qu'elle nous a apportée, sa gentillesse, ses encouragements et le temps qu'elle nous a consacré tout au long de la réalisation de ce mémoire.*

*Notre travail sera jugé par Mr Lefsih Khalef, maître de conférences classe B (FSBA, UMMTO), nous lui exprimons nos plus vifs remerciements pour l'honneur qu'il nous fait de participer au jury mais également pour son aide et ses conseils, sa disponibilité et ses orientations.*

*Toute notre sympathie et nos vifs remerciements vont également à M<sup>elle</sup> Ammar Khodja Nadia, en sa qualité de responsable du laboratoire de botanique, pour toute son aide efficace, sa disponibilité, son dynamisme et sa bonne humeur.*

*Nous remercions également les ingénieurs du laboratoire commun pour l'aide qu'ils nous ont apporté.*

*Nos sincères remerciements s'adressent au Professeur Houali Karim qui nous a ouvert la porte de son laboratoire, ainsi qu'à l'ingénieure Mme Horia Rabhi, qu'ils trouvent ici l'expression de notre sincère gratitude.*



# *DEDICACE*

*A nos deux familles*

*Katia & Samia*

# TABLE DES MATIERES

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction

## Chapitre 1 : Synthèse Bibliographique

### 1 - GENERALITES SUR *PLEUROTUS OSTREATUS* (JACQ. : FR.) KUMMER

1.1. Définition .....	4
1.2 .Systématique .....	4
1.3. Description de <i>Pleurotus ostreatus</i> local .....	5
1.4. Biocycle de <i>Pleurotus ostreatus</i> .....	5
1.5. Ecologie et mode de vie .....	6
1.6. Valeur nutritionnelle .....	7

### 2 - ACTIVITES BIOLOGIQUES DE *PLEUROTUS OSTREATUS*

2.1.Activité antioxydante .....	9
2.1.1. Les radicaux libres .....	9
2.1.2. Le système de défense antioxydant.....	9
2.1.3. Potentiel antioxydant de <i>Pleurotus ostreatus</i> .....	10
2.2.4. Les molécules responsables de l'activité antioxydante de <i>Pleurotus ostreatus</i> .....	10
2.5. Les actions protectrices des polyphénols .....	12
Activités antibactériennes .....	12

## Chapitre 2 : MATERIEL ET METHODES

1- materiel

1.1.Matériel mycologique .....	13
1.2. Substrat de culture.....	13
1.3. Culture de <i>Pleurotus ostreatus</i> local sur résidus agricoles .....	15
1.4. Matériel bactériologique .....	18
1.4.1. Souches bactériennes utilisées .....	18
1.4.2. Milieux de cultures.....	19

1.4.3. Antibiotiques utilisés.....	20
1.5. Réactifs chimiques.....	20
1.6. Appareillage.....	20
2 - méthodes d'étude	
2.1 Préparation de la poudre lyophilisée.....	21
2.2 Rendement en lyophilisat de l'extrait aqueux du résidu de culture de POL et du substrat .....	23
2.3 Dosage des polyphénols totaux.....	23
2.3.1 Principe.....	23
2.3.2 Préparation de Réactif de Folin-Ciocalteu.....	23
2.3.4 Préparation de la gamme étalon de l'acide gallique.....	24
2.3.5 Préparation de l'extrait du résidu de culture de POL et du substrat.....	24
2.4 Dosage des flavonoïdes.....	25
2.4.1 Principe.....	25
2.4.2 Préparation de la solution mère de quercétine.....	26
2.4.3 Préparation de la solution de trichlorure d'aluminium.....	23
2.4.4 Préparation de la gamme étalon de la quercétine.....	26
2.4.5 Préparation de l'extrait aqueux du résidu de culture de POL et du substrat.....	27
2.5 Evaluation de l'activité antioxydante dans les extraits de résidu de culture de POL et du substrat.....	27
2.5.1 Préparation de la gamme étalon de l'acide ascorbique.....	28
2.5.2 Préparation de l'extrait aqueux du résidu de culture de POL et du substrat.....	29
2.5.3 Préparation de la solution de DPPH.....	31
2.6 Evaluation de l'activité antibactérienne dans l'extrait de substrat et dans le résidu de culture de POL.	
2.6.1 Principe.....	31
2.6.2 Stérilisation du matériel.....	32
2.6.3 Préparation des milieux de cultures.....	33
2.6.4 Repiquage des souches bactériennes.....	33
2.6.5 Préparation et standardisation de la suspension bactérienne.....	34
2.6.6 Préparation des disques de papier absorbant.....	34
2.6.7 Ensemencement et dépôt de disques.....	34
2.6.8 Mesure de la zone d'inhibition.....	34
2.4. Analyse statistique des résultats.....	36

## Chapitre III : RESULTATS ET DISCUSSION

3.1 Rendement en poudre lyophilisée des extraits aqueux du résidu de culture de POL et du substrat .....	38
3.2 Dosage des polyphénols totaux .....	38
3.3 Dosage des flavonoïdes .....	41
3.4 Test de l'activité antioxydante .....	43
3.5 Evaluation de l'activité antibactérienne .....	45
Conclusion et perspectives .....	50
Références Bibliographiques	
Résumé	

## Liste des abréviations

**ATCC** : American Type Culture Collection

**BHI** : Heart Infusion Broth

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

**EAG** : équivalent acide gallique

**EQ** : équivalent quercétine

**ERO** : espèces réactives à l'oxygène

**GN** : grignon d'olive

**MC** : marc de café

**MHA** : Mueller Hinton Agar

**MS** : matière sèche

**PB** : paille de blé

**pH** : potentiel d'hydrogène

**POL** : *Pleurotus ostreatus* local

**PS** : poids sec

## *Liste des figures*

<b>Figure 1:</b> <i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq. ex Fries) Kummer(1871) souche locale (Mansour-Benamar & Chavant, 2010) .....	4
<b>Figure 2:</b> Carpophore de <i>Pleurotus ostreatus</i> local (Mansour-Benamar, 2016).....	5
<b>Figure 3 :</b> Cycle de reproduction de <i>Pleurotus ostreatus</i> (Martinez-Carrera., 1999).....	6
<b>Figure 4 :</b> Bouturage d'un carpophore de <i>Pleurotus ostreatus</i> local (Mansour-Benamar & Chavant, 2010) .....	15
<b>Figure 5 :</b> Mycélium dicaryotique de POL développé sur milieu nutritif gélosé. en boîte de Pétri (Mansour-Benamar & Chavant, 2010) .....	16
<b>Figure 6 :</b> Production de blanc de <i>Pleurotus ostreatus</i> local (Mansour-Benamar & Chavant, .....	16
<b>Figure 7 :</b> Blanc de POL sur grains d'orge .....	17
<b>Figure 8 :</b> Résidus agro-industriels : grignon d'olive(A), marc de café(B) et paille de blé (C).....	17
<b>Figure 9 :</b> Etapes de la culture de POL .....	18
<b>Figure 10 :</b> Structure chimique du phénol .....	11
<b>Figure 11 :</b> Structure de base des flavonoïdes .....	12
<b>Figure 12 :</b> Schéma explicatif des étapes d'obtention de la poudre lyophilisée du substrat et du résidu de culture de POL .....	22
<b>Figure 13 :</b> Protocole du dosage des polyphénols totaux (Wang <i>et al</i> , 2006).....	25
<b>Figure 14 :</b> Réaction du chlorure d'aluminium avec les flavonoïdes (Ribéreau-Gayon, 1968). .....	26
<b>Figure 15 :</b> Protocole du dosage des flavonoïdes (Kim, 2003).....	27
<b>Figure 16 :</b> Mécanisme réactionnel d'un antioxydant avec le DPPH (Molyneux, 2004) .....	28
<b>Figure 17 :</b> Protocole du test de piégeage du radical libre DPPH par l'acide ascorbique avec l'extrait de substrat et celui du résidu de culture de POL (Aiche-Iratni, 2016).....	30
<b>Figure 18 :</b> Réaction test DPPH (2,2 diphényl -1-picryl hydrazyle) .....	30
<b>Figure 19 :</b> Schéma explicatif des étapes du test de recherche de l'activité antibactérienne dans les extraits du résidu de culture de POL et du substrat .....	32

<b>Figure 20</b> : Illustration de la méthode de diffusion de disque .....	35
<b>Figure 21</b> : Rendement en poudre lyophilisée des extraits aqueux du résidu de culture de POL et du substrat .....	38
<b>Figure 22</b> : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique .....	39
<b>Figure 23</b> : Concentration en polyphénols dans les extraits du résidu de culture de <i>POL</i> et celui du substrat ainsi que celui des carpophores .....	40
<b>Figure 24</b> : Courbe d'étalonnage de la quercétine .....	24
<b>Figure 25</b> : Concentration en flavonoïdes dans les extraits du substrat et du résidu de culture POL .....	42
<b>Figure 26</b> : Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique .....	43
<b>Figure 27</b> : Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration des extraits du résidu de culture de POL et du substrat .....	44
<b>Figure 28</b> : Résultats de l'activité antibactérienne des extraits aqueux sur <i>Bacillus cereus</i> ATCC 10876 .....	46
<b>Figure 29</b> : Résultats de l'activité antibactérienne des extraits aqueux. sur <i>Bacillus cereus</i> 14579 .....	46
<b>Figure 30</b> : Résultats de l'activité antibactérienne des extraits aqueux sur <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	47
<b>Figure 31</b> : Résultats de l'activité antibactérienne des extraits aqueux sur <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923. ....	47

### *Liste des tableaux*

Tableau 1: Composition chimique de <i>Pleurotus ostreatus</i> (Khan 2010) .....	8
Tableau 2: Composition chimique du grignon d'olive (Nefzaoui, 1991).....	13
Tableau 3: Composition chimique du marc de café (Carassou, 2015) .....	14
Tableau 4: Composition chimique de la paille de blé (Février & Willequet, 2009).....	14
Tableau 5: Souches bactériennes utilisées.....	19
Tableau 6: Composition chimique du milieu BHI.....	19
Tableau 7: Composition chimique du milieu MHA .....	19
Tableau 8: Préparation des dilutions de l'acide gallique .....	24
Tableau 9: Extrait du résidu de culture de POL et du substrat de culture (témoin) pour dosage des polyphénols totaux .....	24
Tableau 10 : Dilutions de la quercétine .....	26
Tableau 11 : Extrait du résidu de culture et du substrat de culture (témoin).....	27
Tableau 12 : Dilutions de l'acide ascorbique .....	29
Tableau 13 : Dilutions de l'extrait du résidu de culture et du substrat .....	29
de culture (témoin).	
Tableau 14 : Résultats du test de l'activité antibactérienne de l'extrait de POL et du substrat de culture (témoin) .....	45

---

# ***Introduction***

---

*Pleurotus ostreatus* fait partie des champignons de la pourriture blanche et est classé dans la catégorie des produits forestiers non ligneux (Yilmaz et al, 2016).

Le genre *Pleurotus* (ou pleurotes) renferme une quarantaine d'espèces (Delmas, 1989, Jose & Janardhanan, 2000).

Grâce à la production d'un groupe complexe d'enzymes extracellulaires qui interviennent dans la dégradation de molécules aussi complexes que la cellulose ou la lignine, les pleurotes peuvent utiliser des matériaux lignocellulosiques comme les résidus agricoles (Durrieu, 1993, Velasquez Cedeno, 2005 ; Mansour-Benamar, 2016) pour se développer et se multiplier, contribuant ainsi à la réduction de la pollution (Girmay et al, 2016).

*Pleurotus* est le troisième champignon comestible le plus cultivé au monde après *Agaricus bisporus* et *Lentinula edodes* (Patel et al, 2012).

La culture des pleurotes ou pleuroticulture est un procédé biotechnologique simple et économiquement viable et rentable (Mansour-Benamar et al, 2017). En raison de sa grande adaptabilité, *P. ostreatus* joue un rôle important dans le recyclage des résidus organiques.

Ces résidus sont divers et variés: à titre d'exemples quelques déchets industriels et agricoles comme ceux du soja, du sorgho, des arachides et de blé (Yildiz & Demir, 2011), les graines de coton, la sciure de bois et des déchets de papier (Girmay et al, 2016),g les déchets de coton, de lentilles, de riz (Akyüz et al, 2008), la sciure de bois et les coques de coton (Zhang et al, 201x) , le grignon d'olive, le marc de café (Mansour-Benamar et al, 2007, Mansour-Benamar et al, 20013, Mansour-Benamar, 2016), le mélange grignon d'olive- marc de café- paille de blé (Amrane & Belkacemi, 2017) etc.

Rinker (2002) a rapporté que le résidu de culture de champignons comestibles peut jouer un rôle important dans la restauration des milieux dégradés ( *myco - restauration* ) , dans la purification de l'eau et de l'air ( *myco – filtration*), dans l'élimination des déchets toxiques ( *myco – assainissement*) et dans la lutte contre les insectes nuisibles ( *myco - pesticides*). Il peut, simplement, être réutilisé pour la culture de champignons comestibles (Zhang et al, 201x)

Les champignons comestibles peuvent non seulement convertir les résidus lignocellulosiques en aliments sains destinés à l'homme, mais ils peuvent également être source de produits nutraceutiques remarquables, qui présentent de nombreux avantages pour la santé ; ils fournissent un «légume» de haute qualité, riche en protéines avec une teneur en acides aminés essentiels élevée, proche des besoins du corps humain, riche en minéraux et vitamines et pauvre en graisses et en sucre (Chang & Miles, 1977 ; Lelley, 1984 ; Delmas, 1989 ; Olivier, 1991 ; Girmay et al, 2016).

Les champignons comestibles sont très nutritifs et peuvent être comparés aux œufs, au lait et à la viande (Girmay et al, 2016). Le champignon est facile à digérer et ne contient pas de cholestérol (Roncero Ramos, 2015).

En plus de leur valeur alimentaire, les champignons comestibles possèdent des composés bioactifs extractibles qui renforceraient le système immunitaire humain et amélioreraient la qualité de vie (Girmay et al, 2016).

Cependant, la production de champignons comestibles laisse, à son tour, derrière elle, des résidus importants après récolte des champignons ou carpophores. Selon Rinker (2002), chaque tonne de champignons produite donne une à deux tonnes de matière résiduelle sèche. La question importante à poser est la suivante : « Quel usage ou quelle valeur ajoutée donner à ces résidus de culture de champignons » ?

Le résidu de la culture de champignons, peut être défini comme étant un reste du substrat de culture utilisé, bien empêtré dans les innombrables filaments mycéliens développés par le champignon cultivé.

Le résidu de culture d'une souche de *Pleurotus ostreatus* isolée localement (POL), à Oued-Aissi, Tizi-Ouzou, Algérie, par Mansour-Benamar en 1993 (Mansour-Benamar et al, 2007) cultivé sur un mélange de résidus agricoles, grignon d'olive/ Paille de blé, a été incorporé avec succès dans l'alimentation de lapines, en 2010 par Akkache. Un résidu similaire a été testé comme bio-engrais pour l'enrichissement de la fertilité du sol par Kara Ali & Khendriche en 2013.

Foluke et al en 2014, ont fait des essais concluant sur l'incorporation des résidus de culture de champignons comestibles dans l'alimentation du poulet de chair.

Nous nous sommes fixés comme objectif de valoriser le résidu de la culture de POL sur un substrat formulé en mélangeant des résidus agro-industriels potentiellement source de pollution : Grignon d'olive (44%) / Marc de café (44%) / Paille de blé (10%) / Carbonate de calcium (2%) et d'en faire un produit à valeur ajoutée. Pour cela nous avons cherché à savoir si ce résidu de culture de POL pouvait présenter des activités biologiques, plus précisément, des activités antioxydantes par le biais du dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux et, des activités antibactériennes.

Notre étude est divisée en 3 parties :

Une partie théorique divisée en deux sous parties. La première est consacrée à des généralités sur *Pleurotus ostreatus* et la deuxième est consacrée aux activités biologiques des champignons comestibles tout particulièrement *Pleurotus ostreatus*,

Une partie pratique dans laquelle nous avons réalisé le dosage des polyphénols totaux de l'extrait aqueux du résidu de culture de POL, ainsi que les flavonoïdes totaux comparativement à l'extrait aqueux du substrat seul.

# Introduction

Nous avons également recherché l'activité antibactérienne contre 4 bactéries, 3 de type Gram (+) (*Bacillus cereus* ATCC 10876 ; *Bacillus cereus* 14579 ; *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) et une de type Gram (-) (*Escherichia coli* ATCC 25922)

Cette étude fait suite à celle réalisée par Ghazal et Chemam en 2017.

# Introduction

---

# ***SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE***

---

# Généralités sur *Pleurotus ostreatus* (Jacq. : Fr.) Kummer

## 1.1- Définition

L'étymologie du mot Pleurote vient du grec Pleurón (« flanc, côté ») et de οὖς, ous, ôtos, Oreille : qui a l'oreille de côté (Delmas, 1989). *Ostreatus* signifie "huître" et « atus » signifie "ressemblant".

Cette dénomination vient de la forme du champignon qui pousse légèrement décentré par rapport au chapeau (fig.1) Les Pleurotes sont des organismes eucaryotes, thallophytes, non chlorophylliens, à mode de vie saprophyte, à corps 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, septés (pluricellulaire). La forme mycélienne permet au champignon d'avoir une croissance radiale importante et de coloniser rapidement un milieu. Les hyphes pénètrent dans le milieu de culture afin d'y puiser, les éléments nutritifs pour son développement (Le Calvez, 2009).

Le mycélium est de couleur blanche. Il se condense en stroma, en période de fructification, pour former des sporophores ou carpophores

*Pleurotus ostreatus* appelé communément, Pleurote en huître et en anglais Oyster Mushroom est un basidiomycète saprophyte très compétitif qui pousse en touffes (fig.1). Cette compétitivité est liée à la libération d'enzymes capables de s'attaquer à des molécules aussi complexes que la cellulose ou la lignine, d'où son nom de champignon décomposeur primaire ou champignon ligno-cellulolytique (Durrieu, 1993 ; Velazquez-Cedeno, 2005).

C'est un champignon comestible doté d'une saveur douce (Marchand, 1971). A l'état naturel, il pousse en touffes sur du bois, mais s'implante facilement sur un substrat rudimentaire (Fourré, 1990), ce qui permet d'envisager sa culture sur divers résidus agricoles et agro-industriels (Mansour-Benamar, 2016).



Figure 1 : *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Ex Fries) Kummer (1871) souche locale (Mansour-Benamar & Chavant, 2010)

## 1.2 Systématique

## Généralités sur *Pleurotus ostreatus* (Jacq. : Fr.) Kummer

La systématique du pleurote en huître rapportée par Mansour-Benamar en 2016 est une synthèse des systématiques de Guim berteau (1995), Matheny et al (2006), Kalamees (2007), Courtecuisse & Duhem (2011), Hibbett et al (2014) et Saar & Parmasto (2014) et est la suivante :

Règne : Fungi  
Division : Basidiomycota  
Classe : Agaricomycètes  
Sous classe : Agaricomycetideae  
Ordre : Agaricales  
Famille : Pleurotaceae  
Genre : *Pleurotus*  
Espèce : *P. ostreatus* (Jacq. Ex. Fries) Kummer (1871)

### 1.3 Description de *Pleurotus ostreatus* local.

Le carpophore du pleurote en forme huître (fig. 2) est constitué :

- du chapeau : légèrement bombé puis s'étalant en ventail, charnu, marron grisâtre de 4 à 15 cm de diamètre ; les marges du chapeau sont incurvées et lisses,
- des lamelles blanchâtres, serrées, longuement décurrentes, plus espacées vers le pied, formant l'hyménium,
- le pied ou stipe, excentré, très court, plein, poilu à la base, sans anneau et sans volve,
- la chair est blanche et épaisse, tendre sauf le pied qui est coriace,
- les basides avec quelques rares basidiospores.

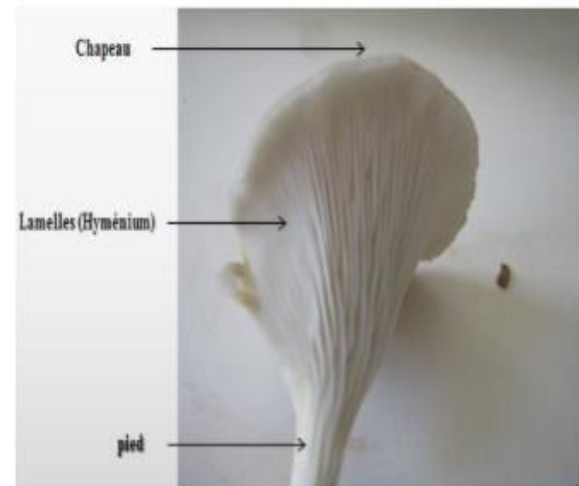


Figure 2: Carpophore de *Pleurotus ostreatus* local (Mansour-Benamar, 2016)

### 1.4 Biocycle de *Pleurotus ostreatus*

Le cycle de vie de *P. ostreatus* (fig.3) se divise en deux phases distinctes, la phase de croissance du mycélium et la phase fructifère.

## Généralités sur *Pleurotus ostreatus* (Jacq. : Fr.) Kummer

La première phase commence avec la germination de basidiospores qui donnent chacune un filament mycélien, à cellules monocaryotiques haploïdes, appelé mycélium primaire (fig.3A).

La deuxième phase ou phase fructifère correspond à la formation d'un mycélium secondaire à cellules dicaryotique, suite la fusion de deux mycelia primaires compatibles (conjugaison ou plasmogamie) (fig.3B). La plasmogamie est suivie d'une phase de croissance relativement longue. Il s'agit de l'étape dominante dans le cycle de vie des Basidiomycètes. Dès que les conditions environnementales deviennent défavorables, ce mycélium secondaire se condense pour donner les primordia (ébauches de champignons) qui évoluent en carpophores ou sporophores (fig.3 C) destinés à l'alimentation humaine.

Cette phase de multiplication puis de condensation du mycélium est celle qui intéresse les producteurs de champignons.

A la face inférieure du chapeau, dans les lamelles se développent des basides dicaryotiques. Les noyaux de ces basides (fig.3D) subissent une caryogamie suivie d'une méiose (fig.3D) pour générer des basidiospores haploïdes (fig.3D) qui seront à l'origine d'autres générations gamétophytiques (fig.3A) pour répéter le cycle quand les conditions sont favorables.

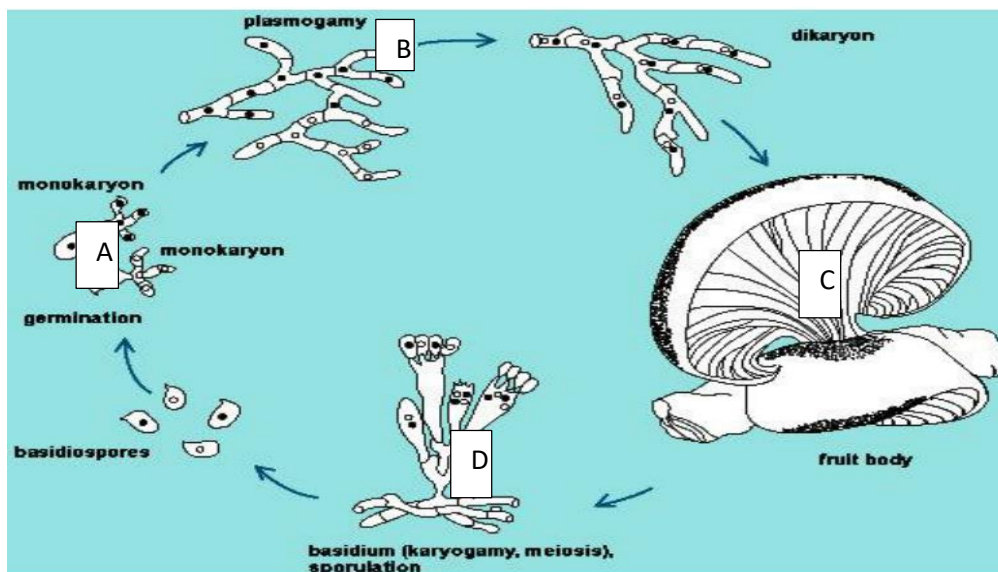


Figure 3 : Cycle de reproduction de *Pleurotus ostreatus* (Martinez-Carrera., 1999).

### I.5 Ecologie et mode de vie

Les Pleurotaceae sont essentiellement originaires des pays tempérés, mais ayant une certaine adaptation pour les pays tropicaux. Ce qui leur permet une grande répartition géographique. Leur mode de vie saprophyte très compétitif leurs permet de s'implanter

## Généralités sur *Pleurotus ostreatus* (Jacq. : Fr.) Kummer

facilement sur un substrat rudimentaire, ce qui permet aux amateurs d'en envisager la culture à peu de frais (Fourré, 1990).

En effet, *Pleurotus ostreatus*, se nourrit d'organismes, morts, et qui sont en décomposition (saprophytisme). Pour cela, il excrète, par son mycélium blanc, rhizomorphe, appelées hyphes, un complexe enzymatique ligno-cellulolytique. Ce complexe comprend les enzymes oxydantes, impliquées dans la dégradation de la lignine (polyphénol oxydases : peroxydases, laccases) ainsi que les enzymes impliquées dans la dégradation de la cellulose et l'hémicellulose (cellulases, xylanases, ...) (Velasquez Cedeno, 2005). Les nutriments sont ensuite absorbés par le mycélium en développement.

### I.6 - Valeur nutritionnelle

*Pleurotus ostreatus* est le troisième champignon cultivé à travers le monde à des fins alimentaires (Patel et al, 2012). Il est consommé frais ou séché. Les champignons comestibles ont des propriétés nutritionnelles d'une grande valeur ; en effet, ils ont une valeur calorique faible (26-35 kcal/100g), probablement en raison de leur richesse en eau (80%-90%) ; ils constituent une bonne source de protéines présentant une composition en acides aminés similaires aux protéines animales et leur richesse en fibres et leur faible teneur en graisse (moins de 5% du poids sec), font d'eux un aliment diététique (Menzi et al, 2001, Roncero Ramos, 2015).

Ils possèdent des acides gras polyinsaturés, essentiellement de l'acide linoléique (type oméga 6), indispensable pour l'homme (Deepalakshmi & Mirunalini, 2014 ; Roncero Ramos, 2015) ainsi que les acides  $\alpha$  linoléique (type oméga3) et palmitiques (Mohammed & Farghaly, 2014).

*Pleurotus ostreatus*, comme les autres champignons comestibles, est caractérisé par sa richesse en vitamines (C, D et K), notamment du complexe B (B1, B2, B3 et B9) (Mohammed & Farghaly, 2014) qui ont comme principale fonction d'agir comme cofacteur pour les enzymes du métabolisme des acides aminés, des acides gras, de l'énergie et des acides nucléiques et d'être impliquées dans les réaction d'oxydo-réduction et dans la transcription de gènes (de Souza Castagnino, 2014), de l'ergostérol, précurseur de la vit D (Roncero Ramos, 2015).

Il contient également des éléments minéraux comme du cuivre, du fer, du zinc et du phosphore ainsi que du phosphore, du calcium et du sélénium (Delmas, 1989, Roncero Ramos, 2015) et peu de sodium (Mohammed & Farghaly, 2014).

## Généralités sur *Pleurotus ostreatus* (Jacq. : Fr.) Kummer

La composition chimique, en grammes par 100g de champignon séché est donnée dans le tableau n°1 d'après les travaux de Khan en 2010.

Tableau 1: Composition chimique de *Pleurotus ostreatus* (Khan 2010).

Composant	g /100g de champignons secs
Protéines	17-42
Glucides	37-48
Lipides	0,5-5
Fibres	24-31
Minéraux	4-10

*Pleurotus*, en tant que promoteur de la santé et bioremédiateur de l'environnement, gagne en importance par rapport aux autres champignons médicinaux (Patel et al, 2012).

---

## **Activités biologiques de *Pleurotus ostreatus***

---

## 2.1. Activité antioxydante

### 2.1.1. Radicaux libres et stress oxydatif

Un radical libre est défini comme toute molécule possédant un ou plusieurs électrons non appariés sur la couche électronique la plus externe. Ce radical, très instable, réagit rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir sa stabilité (Favier, 2003).

Les radicaux libres dérivant de l'oxygène moléculaire ( $O_2$ ) et sont connus sous le nom d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) qui représentent la plus importante des classes de radicaux libres générés par les systèmes vivants (Ferriera et al., 2009).

Le stress oxydatif ou stress oxydant correspond à une agression des cellules par des radicaux libres. Ce stress peut avoir une origine naturelle comme un exercice intense, ou un processus d'inflammation, ou une origine non naturelle, comme la présence d'un xénobiotique dans l'organisme ou de nombreuses maladies (Ferriera et al., 2009). Ces auteurs rapportent que la production non contrôlée d'ERO est à l'origine de plus d'une centaine de maladies, parmi elles, différents types de cancer, le diabète, les maladies cardiovasculaires, des désordres neurologiques, et autres maladies ainsi qu'un vieillissement précoce.

### 2.1.2. Le système de défense antioxydant

Un « antioxydant » est une substance qui a pour effet de réduire ou d'inhiber le phénomène et réactions engendrant une oxydation. Le terme « système » signifie une association d'antioxydants d'origine exogène (antioxydants alimentaires) et des enzymes ou autres métabolites d'origine endogène qui forment un système de défense synergique nécessaire à l'accomplissement du processus antioxydant.

Ce système permet le maintien d'un équilibre adéquat entre radicaux libres et antioxydants (Bermond, 1999 ; Rochat, 2014).

Parmi les antioxydants de défense endogène, de nature enzymatique, il est possible de citer : la superoxyde dismutase (SOD), la catalase, la glutathion

## Activités biologiques de *Pleurotus ostreatus*

réductase, et, ceux de nature non enzymatique comme le glutathion, l'atocophérol (Vit E), l'acide ascorbique (vit.C) (Ferreira *et al.*, 2009).

Ferreira *et al.* (2009) rapportent que 70% des maladies chroniques peuvent être évitées grâce au maintien d'un bon niveau d'antioxydants et de piègeurs de radicaux libres, apportés par une alimentation de qualité (végétaux, légumes, fruits...). Les champignons sont une bonne source nutritive et aussi une bonne source de composés bioactifs et sont aujourd'hui placés parmi les aliments-santé ou aliments fonctionnels (Roncero Ramos, 2009).

### 2.1.3. Potentiel antioxydant de *Pleurotus ostreatus*

Divers constituants chimiques ont été rapportés chez les champignons : polysaccharides, terpénoïdes, flavonoïdes, phénols, stérols et autres. Les extraits de champignons et des composés purifiés ont présenté diverses activités pharmacologiques : anticancer, immunomodulatrice, anti-hypocholestérolémiant, antidiabétique, anti-inflammatoire, antifongique, antivirale, antibactérienne et antioxydante (Rhandhawa & Shri, 2017).

Singh *et al.* (2015) ont rapporté que l'extrait de *P. ostreatus* atténue l'hépatotoxicité induite par le CC1<sub>4</sub> chez le rat. Ils ont, également, rapporté la capacité de l'extrait de *P. ostreatus* à protéger les principaux organes tels que le foie, le cœur et le cerveau de rats âgés contre le stress oxydatif.

### 2.1.4 Les molécules responsables de l'activité antioxydante de *P. ostreatus*

*Pleurotus ostreatus* contient en plus des composés phénoliques, de l'ergothionéine et des tanins qui leurs confèrent leurs propriétés antioxydantes.

#### 2.1.4.1 Les composés phénoliques

Les polyphénols également dénommés composés phénoliques sont des métabolites secondaires très largement répandues dans le règne végétal (Harnly *et al.* 2007 ; Quideau *et al.* 2011)

Les composés phénoliques sont des antioxydants des champignons qui sont les puissants piègeurs ou inhibiteurs de radicaux libres. Ce sont des substances

## Activités biologiques de *Pleurotus ostreatus*

chimiques très diversifiées comprenant au moins un noyau aromatique (fig.10), portant un ou plusieurs groupes hydroxyles libres ou engagés avec un glucide.

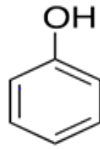


Figure 10: Structure chimique du phénol

Ils constituent une importante famille d'antioxydants au sein des plantes, les fruits et les légumes puisqu'ils comprennent plus de six mille molécules. Des études récentes ont montré que le contenu en polyphénols dans les fruits et les légumes sont responsables de la capacité antioxydante totale de ces aliments (Ou *et al.* 2002 ; Stratil *et al.* 2006)

La capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des microorganismes est souvent corrélée avec la teneur en composés phénoliques. Ces composés montrent des activités anti-inflammatoires, analgésiques, antibactériennes, antivirales, anticancéreuses, anti-allergènes, vasodilatatrice et antioxydante (Athamena, 2009).

### 2.1.4.2- Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Seyoum *et al.* 2006).

Les flavonoïdes sont reconnus pour leurs nombreuses activités biologiques, ces activités sont attribuées en partie aux propriétés antioxydantes de ces composés naturels. Ils réagissent avec la plupart des espèces réactives oxygénées (Fuhrman *et al.* 1995).

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires dérivés du noyau flavone et qui partagent un même squelette de base, composé de deux cycles aromatiques C<sub>6</sub> (A et B) et d'un cycle hétérocyclique (C) contenant un atome d'oxygène (fig.11). Ils ont une capacité à capturer et désactiver les radicaux libres.

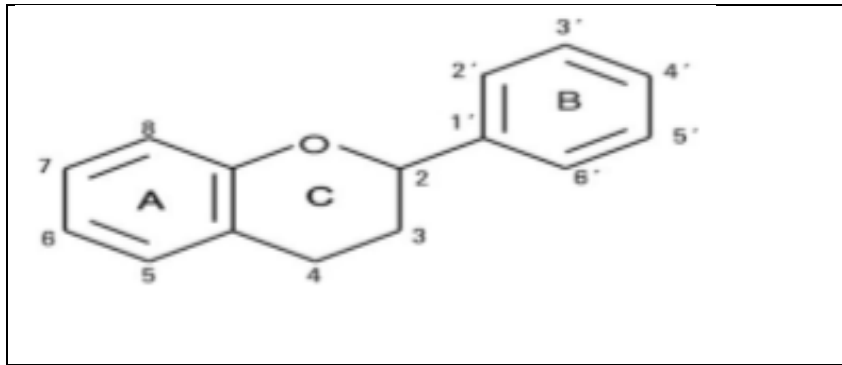


Figure 11: Structure de base des flavonoïdes (Athamena, 2009).

### 2.1.5. Actions protectrices des polyphénols

Les composés phénoliques exercent une activité antioxydante via plusieurs mécanismes :

- Inhibition des espèces réactives oxygénées (ERO);
- piégeage des radicaux libre ;
- chélation des ions métalliques responsables de la production des E.O.R ;
- inhibition des enzymes responsable de la production des E.O.R (exemple : xanthine oxydase et cyclo-oxygénase) (Pokorny *et al.*, 2001 ; Magalhães *et al.*, 2008).

### 2.2. Activité antibactérienne.

La résistance aux antibiotiques constitue un problème majeur dans le domaine de la santé. Il s'agit du développement de stratégies chez des bactéries visant à diminuer l'efficacité d'un traitement, ce qui favorise ainsi sa propagation (OMS 2015).

Les champignons ont besoin de composés antibactériens et antifongiques pour survivre dans leur environnement naturel (mécanisme de défense contre d'autres organismes). Par conséquent, les composés antimicrobiens pourraient être isolés à partir de nombreuses espèces de champignons et pourraient être bénéfiques pour les humains (Lindequist, 2005). De nombreux groupes de flavonoïdes ont été isolé et identifié comme possédant une activité antifongique, antivirale et antibactérienne (Cushnie et Lamb, 2005).

---

# *Matériel et méthodes*

---

## 1 Matériel

### 1.1 Matériel mycologique

La partie expérimentale de ce travail a porté sur le résidu de culture du champignon comestible *Pleurotus ostreatus* local (POL) ou « Pleurote en huître » ; cultivé au Laboratoire de Production, Amélioration et Protection des Végétaux (LPAPV) sous la direction de Mme Mansour-Benamar, à l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou (Algérie). Le résidu de culture est constitué par les restes d'une part de mycélium de POL et d'autre part des résidus agro-industriels qui lui ont servis comme substrat de culture.

### 1.2 Substrats de culture

Un mélange de trois résidus agro- industriels a été utilisé comme substrat de culture pour le champignon POL.

Ce mélange est constitué de : grignon d'olive (GO), marc de café (MC) et la paille de blé (PB) au taux respectifs de 44% ,44% et 10%, additionnée de 2% de carbonate de calcium (CaCO<sub>3</sub>) pour optimiser le pH (Amrane et Belkacemi, 2017).

- **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). Sa composition chimique (tab.2) 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 2 : Composition chimique de grignon d'olive (Nefzaoui, 1991).

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

- **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). Du point de vue de sa composition chimique (tab.3), les glucides sont les éléments les plus abondants dans le marc de café. Il s'agit du mannose (46,8 %), galactose (30,4 %) et glucose (19%) (Carassou, 2015). Le marc de café est composé de plusieurs éléments (tableau).

Tableau 3 : Composition chimique du marc de café (Carassou, 2015).

Composé	Quantités (mg/kg)
Potassium	8824 ± 4662
Phosphore	1534 ± 503
Magnésium	2201 ± 1341
Calcium	349 ± 122
Fer	46 ± 21
Manganèse	27 ± 10
Minéraux	6800 mg/kg de matière sèche
Polyphénols	3-18 mg acide gallique équivalent.

- **Paille de blé**

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 (tab.4) (Février & Willequet, 2009).

Tableau 4 : 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

### 1.3- Culture de *Pleurotus ostreatus* Local sur résidus agricoles

Dans le laboratoire de Production, Amélioration et Protection de Végétaux de la FSBSA (UMMTO), la culture de la souche locale de *P. ostreatus* se fait en 3 étapes principales illustrées dans les fig.4 à 7 selon les travaux publiés en 2010 par Mansour-Benamar & Chavant :

**1<sup>ère</sup> étape : Isolement et multiplication du mycélium dicaryotique** prélevé aseptiquement sur un carpophore sélectionné de POL ; il s'agit du bouturage du mycélium dicaryotique (fig. 4 et 5) sur milieu nutritif gélosé;

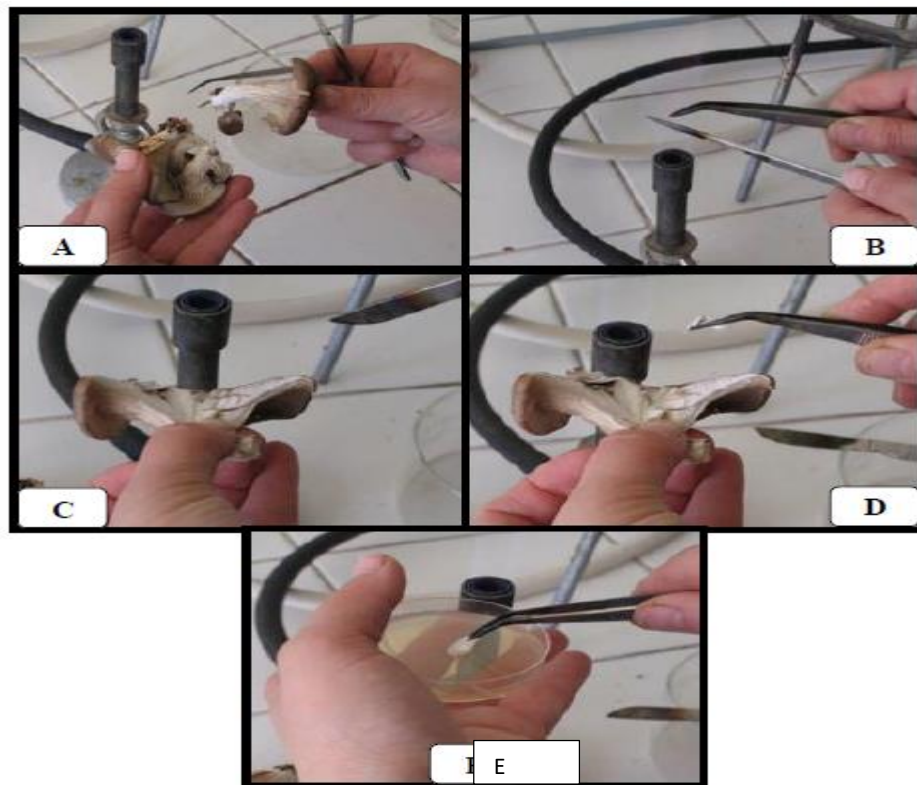


Figure 4 : Bouturage d'un carpophore de POL (Mansour-Benamar & Chavant, 2010)

- A. Choix du carpophore de *Pleurotus ostreatus*
- B. Stérilisation d'une pince et d'un scalpel
- C. Découpage d'un fragment de mycélium
- D. Prélèvement d'un fragment du carpophore
- E. Mise en culture du fragment

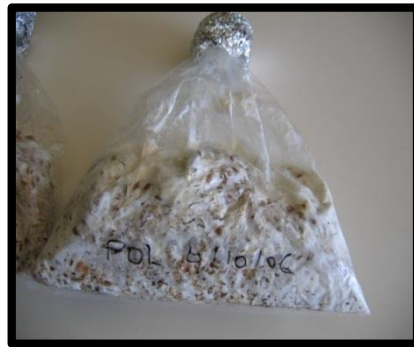


**Figure 5** : Mycélium dicaryotique de POL développé sur milieu nutritif gélosé en boîte de Pétri (Mansour-Benamar & Chavant, 2010)

**2<sup>ème</sup> étape : Production de blanc de POL** par bouturage du mycélium obtenu en boîte de Pétri sur des grains de céréale, généralement, des grains d'orge (Fig.6 et 7).



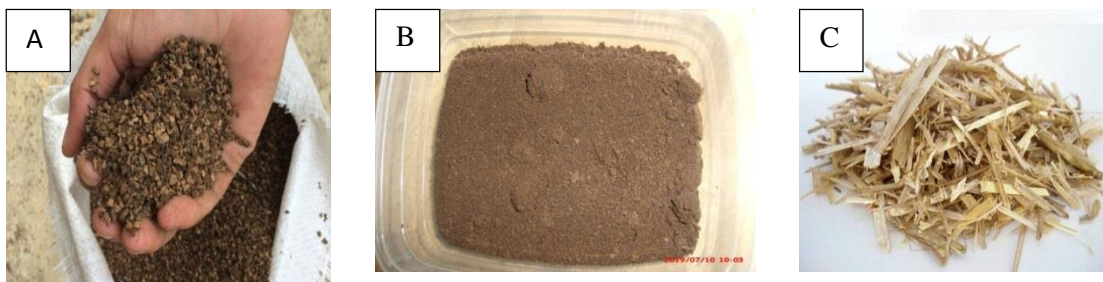
**Figure 6**: Production de blanc de POL (Mansour-Benamar & Chavant, 2010)



**Figure 7** : Blanc de POL sur grains d'orge

### **3<sup>ème</sup> étape : Culture de POL sur résidus agricoles traités**

La culture de POL a été réalisée sur un mélange de 3 résidus agricoles (fig.8 A, B et C), qui sont le grignon d'olive, le marc de café et la paille de blé tamponnés avec 2% de carbonate de calcium (fig.9A).



**Figure 8** : Résidus agricole et agro-industriels : grignon d'olive (A), Marc de café (B) et paille de blé (C)

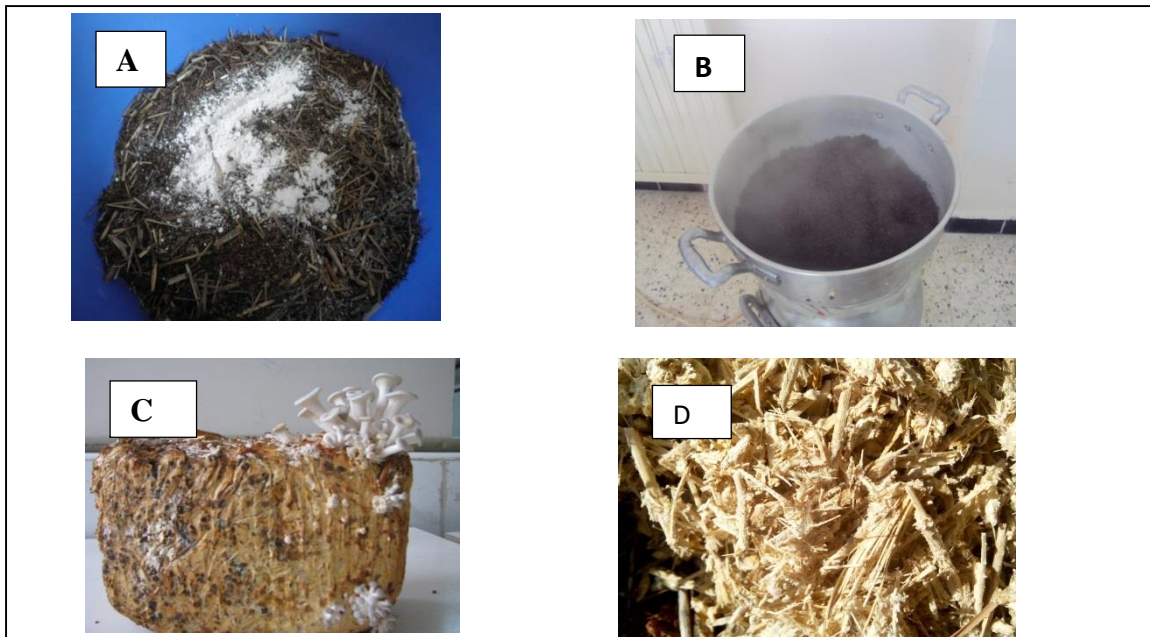


Figure 9 : Etapes de la culture

- A. Mélange de résidus agro-industriels avec 2% de  $\text{CaCO}_3$  (poudre blanche sur le mélange de résidus) après hydratation
- B. Traitement thermique
- C. Fructifications de POL sur les résidus agro-industriels
- D. Reste du substrat de culture de POL ou résidu de culture une fois les champignons récoltés

Après récolte des champignons, le résidu de culture, composé de mycélium de POL et du reste du substrat de culture formulé, ainsi qu'un substrat non inoculé (témoin) a été soumis à différents traitements pour obtenir des poudres lyophilisées (lyophilisats) que nous avons utilisés par la suite dans notre travail.

### 1.4. Matériel bactériologiques

#### 1.4.1. Souches bactériennes utilisées

Les souches bactériennes utilisées (tab.5) ont été fournies par le Laboratoire Commun de Microbiologie Appliquée (L.C.M.A) de la FSBSA de l'UMMTO.

Tableau 5 : Souches bactériennes utilisées

Souche	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>
Référence	ATCC 25923	14579	ATCC 10876	25922
Gram	Positif	Positif	Positif	Négatif

### 1.4.2. Milieux de cultures

❖ Brain Heart Infusion Broth (BHI).

Milieu BHI (tab.6) est un milieu de culture liquide riche utilisé pour la revivification des souches bactériennes conservées à 4°C et pour suivre la cinétique de croissance bactérienne.

Tableau 6 : Composition chimique du milieu BHI

Cœur de bœuf (infusion de 250g)	5 g / L
Cerveaux de veau (infusion de 200 g)	12,5 g / L
Hydrogénophosphate disodique	2,5 g / L
Glucose	2 g / L
Peptone	10 g / L
Chlorure de sodium	5 g / L
PH final	7,4 ± 0,2 (25 ° C)

❖ MHA (Mueller Hinton Agar)

L'agar Mueller Hinton (tab.7) est principalement utilisé pour les tests de sensibilité aux antimicrobiens.

Tableau 7 : Composition chimique du milieu MHA.

Infusion de viande de bœuf	300 ml
Peptone de caséine	17,5 g
Amidon de maïs	1,5 g
Agar	17 g
pH	7,4

Ces deux milieux sont utilisés pour l'antibiogramme des souches bactériennes et pour l'évaluation de l'activité antibactérienne.

### 1.4.3 Les antibiotiques

Nous avons utilisé des disques de 6 mm de diamètre de Gentamicine (SD016-1CT) à des charges bien définies, fabriqué au laboratoire HIMIDIA.

La Gentamicine est un antibiotique de la famille des aminoglycosides ; utilisé pour traiter divers types d'infections bactériennes, en particulier celles provoquées par des bactéries à Gram négatif.

### 1.5 Les réactifs chimiques

- ✓ Acide ascorbique
- ✓ Acide gallique
- ✓ Carbonate de sodium
- ✓ Chlorure d'aluminium
- ✓ Chlorure de sodium
- ✓ DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl
- ✓ Eau distillée
- ✓ Ethanol 96%
- ✓ Folin ciocalteu : d'acide phosphotungstique (H3PW12O40) + d'acide phosphomolybdique (H3PMo12O40).
- ✓ Hydroxyde de sodium
- ✓ Quercétine

### 1.6 Appareillage

- ✓ Agitateur magnétique Rühromag.
- ✓ Autoclave Pb international.
- ✓ Balance analytique Sartorius
- ✓ Balance technique Mettler PJ400.
- ✓ Etuve à 37°C Memmert.
- ✓ Four pasteur Kottermann.
- ✓ Lyophilisateur Christ.
- ✓ Mixeur Philips.

- ✓ Spectrophotomètre UV-Visible de la marque Shimadzu.
- ✓ Ultra congélateur Direct Freez.
- ✓ Vortex Velpscientifica.

## 2 - Méthodes d'étude

### 2.1 Préparation de la poudre lyophilisée

Pour rappel, nous avons appelé témoin le substrat de culture (mélange de grignon d'olive, marc de café et paille de blé) avant inoculation de POL et résidu de culture le reste de la culture de POL à la fin de la récolte des champignons. Certains chercheurs l'appellent substrat épuisé.

Le substrat de culture et le résidu de culture de POL ont été soumis aux étapes présentées dans la figure 12 pour obtenir de l'extrait aqueux lyophilisé.

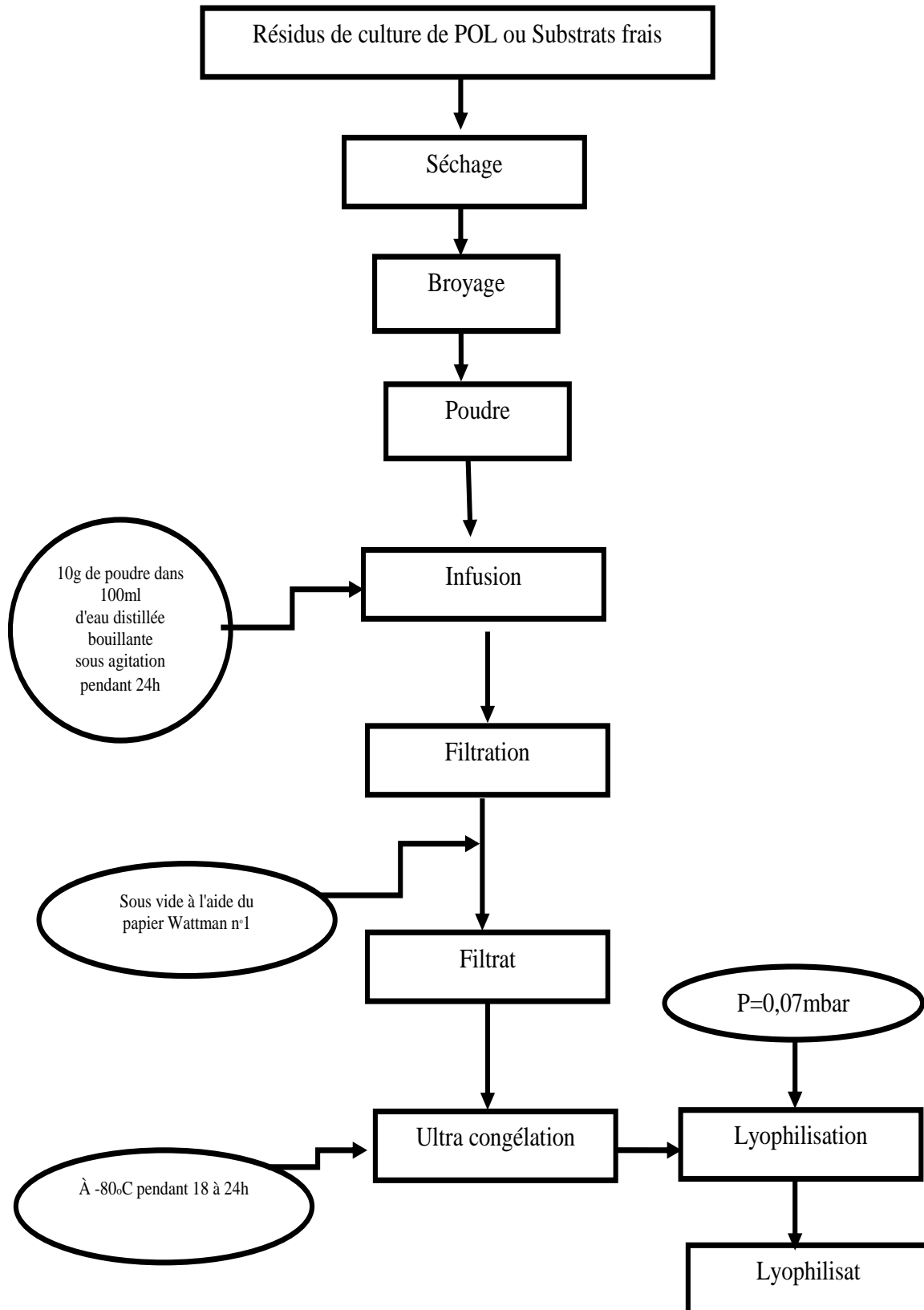


Figure 12 : Schéma explicatif des étapes d'obtention de la poudre lyophilisée du substrat et du résidu de culture de POL

### 2.2. Rendement en lyophilisat de l'extrait aqueux du résidu de culture de POL et du substrat

Les rendements en poudre lyophilisée des extraits aqueux préparés sont estimés à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = \left( \frac{\text{Masse de poudre lyophilisée}}{\text{Masse de poudre de résidu de culture ou substrat}} \right) * 100$$

### 2.3. Dosage des polyphénols totaux.

Les analyses quantitatives des polyphénols totaux et des flavonoïdes des différents extraits sont déterminées à partir des équations de régression linéaire des courbes d'étalonnages et exprimées en mg équivalent par g de matière sèche.

Parmi les méthodes de quantification des composés phénoliques, nous avons utilisé le protocole de Wong et al. (2006) utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Il s'agit d'une méthode analytique biochimique nécessitant la prise d'échantillons, l'extraction des composés phénoliques à partir de ces échantillons puis d'une mesure spectrophotométrique des extraits.

#### 2.3.1 Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ( $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$ ) de couleur jaune. Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Ribéreau-Gayon, 1968). La coloration produite, dont l'absorption maximum est comprise entre 725 et 750 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits.

#### 2.3.2 Préparation du Réactif de Folin-Ciocalteu

Pour la préparation du réactif Folin-Ciocalteu, on introduit 1ml du réactif dans 9 ml d'eau distillée (dilué 10 fois avec de l'eau distillée)

**2.3.3 Préparation de la solution de carbonate de sodium**

Pour la préparation de la solution de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) à 75%, 0,75g de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ont été introduite dans de l'eau distillée pour une quantité suffisante pour un volume de 100ml.

**2.3.4 Préparation de la gamme étalon de l'acide gallique**

Une courbe étalon est obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard. A partir de la solution mère (SM) 0,2mg /ml, des dilutions allant de 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$  à 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$  (tab.8) contre un blanc (1ml du réactif de Folin + 800 $\mu\text{l}$  de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  + 200 $\mu\text{l}$  d'eau distillée) ont été préparées.

Tableau 8 : Préparation des dilutions de l'acide gallique

Concentration $\mu\text{g}/\text{ml}$	20	40	60	80	100	120	140	160	180	200
Volume SM ( $\mu\text{l}$ )	180	160	140	120	100	80	60	40	20	0
Volume $\text{H}_2\text{O}$ ( $\mu\text{l}$ )	20	40	60	80	100	120	140	160	180	200

**2.3.5 Préparation des extraits de résidu de culture et du substrat pour dosage des polyphénols totaux.**

Des dilutions de  $\frac{1}{2}$  ont été réalisées avec de l'eau distillée (tab.9).

Tableau 9 : Extraits du résidu de culture et du substrat pour dosage des polyphénols totaux

Solution	Extrait de résidu de culture ou du substrat			
Concentration mg/ml	6,5	3,25	1,625	0,812

Chaque dilution (dilution d'acide gallique, de l'extrait du résidu de culture et du témoin) est traitée selon le protocole décrit dans la figure 13, ci-dessous :

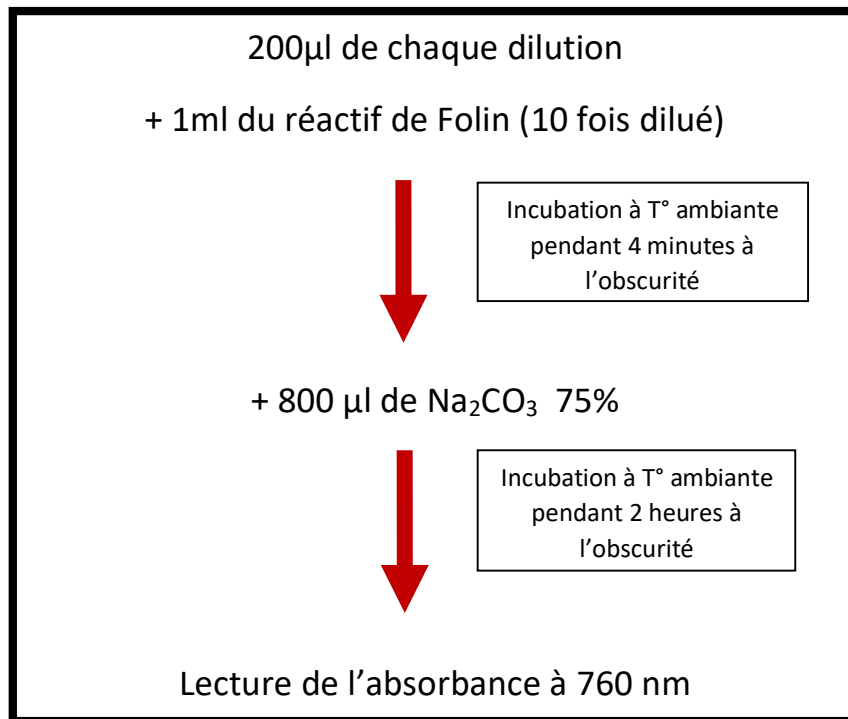


Figure 13 : Protocole de dosage des polyphénols totaux (Wang *et al*, 2006)

La lecture de l'absorbance de chaque solution est effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre, à une longueur d'onde de 760 nm contre un blanc, ce qui nous a permis de tracer la courbe d'étalonnage.

Les résultats sont exprimés en µg ou mg EAG/g MS.

## 2.4 Dosage des flavonoïdes

### 2.4.1 Principe

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode basée sur l'oxydation des flavonoïdes par le trichlorure d'aluminium (fig.14) et la soude entraînant ainsi la formation d'un complexe très stable de couleur rose qui absorbe à 510 nm (Barros *et al*, 2011).

Le flavonoïde possède un groupement hydrocarboxyl ( $\text{OH}^-$ ) libre à la position C5 susceptible de donner un complexe jaunâtre par chélation de l'ion ( $\text{Al}^{3+}$ ).

La concentration des flavonoïdes est déterminée à partir d'une équation de la régression linéaire déduite de la courbe d'étalonnage réalisée avec la Quercétine à

## Matériel et Méthodes

différentes concentrations comme témoin. La teneur en flavonoïdes est exprimée en mg équivalent de quercitrine pour 100g de matière sèche.

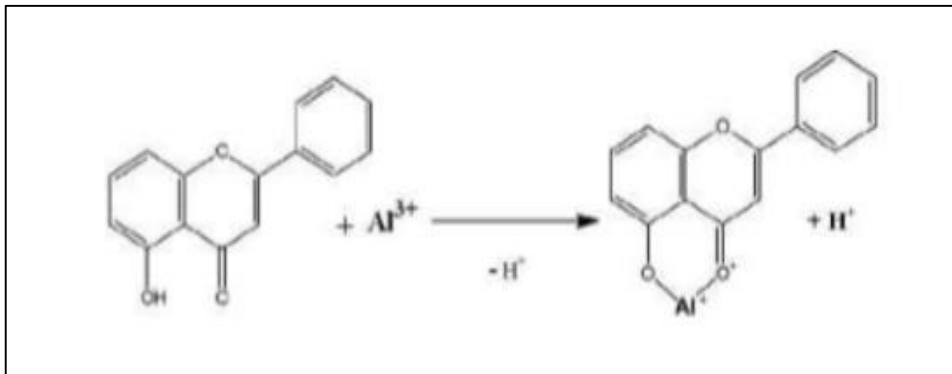


Figure 14 : Réaction du Chlorure d'aluminium avec les flavonoïdes (Ribéreau-Gayon, 1968).

### 2.4.2 Préparation de la solution mère de la quercétine

Pour la préparation de la solution mère de la quercétine à 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , nous avons introduit 10mg de quercétine dans le solvant puis ajusté à 10ml avec du méthanol.

1ml de cette solution a été ajouté à 9ml de méthanol, pour une solution mère de 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ .

### 2.4.3 Préparation de la solution de trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ )

Pour la préparation de la solution d' $AlCl_3$  à 2%, 200mg d' $AlCl_3$  en poudre ont été introduites dans un flacon en verre, et ajustées à 100 ml du méthanol.

### 2.4.4 Préparation de la gamme étalon de quercétine

La courbe étalon est obtenue en utilisant la quercétine comme standard et le méthanol comme solvant. Nous avons introduit 10mg de quercétine dans du méthanol pour une quantité suffisante de 10 ml .

1ml de cette solution était ajouté à 9ml de méthanol (dilution décimale), pour une solution mère (SM) de 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ .

A partir de la solution mère (SM) 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ , des dilutions ont été préparées, allant de 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$  à 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ , contre un blanc (800  $\mu\text{l}$  de méthanol +100  $\mu\text{l}$  de  $NaNO_2$  + 100  $\mu\text{l}$  de  $AlCl_3$ ) (tab.10)

Tableau 10 : Dilutions de la quercétine.

Concentration $\mu\text{g}/\text{ml}$	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
Volume SM ( $\mu\text{l}$ )	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000
Volume Méthanol ( $\mu\text{l}$ )	900	800	700	600	500	400	300	200	100	0

### 2.4.5 Préparation de l'extrait du résidu de culture et du témoin pour le dosage des flavonoïdes

Des dilutions de 1/2 ont été réalisées avec le méthanol à partir d'une solution mère à 6,5 mg/ml de méthanol (tab.11).

Le protocole de dosage des flavonoïdes est schématisé dans la figure15

Tableau 11 : Dilutions de l'extrait du résidu de culture et du substrat pour dosage des flavonoïdes

Solution	Extrait de résidu de culture ou du substrat			
Concentration mg/ml	6,5	3,25	1,625	0,812

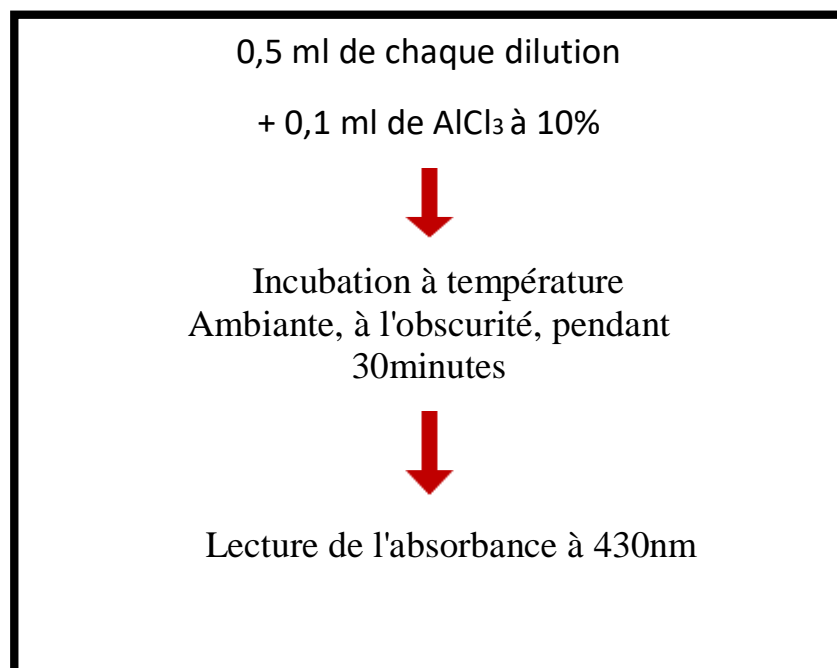


Figure 15 : Protocole du dosage des flavonoïdes (Kim, 2003)

### 2.5 Evaluation de l'activité antioxydante de l'extrait de résidu et du substrat de culture de POL

Le caractère antioxydant d'un extrait du mycélium de *Pleurotus ostreatus* est évalué à l'aide du radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl). La molécule de DPPH est considérée

comme étant un radical libre stable porte une couleur pourpre ou violette native. C'est une méthode colorimétrique basée sur la perte de couleur à 515 nm due à la réduction du DPPH en 2,2-diphényle-1-picrylhydrazine de couleur jaune quand il se lie avec des substances antioxydantes (AH), qui lui transfèrent des électrons ou des protons antioxydants (fig.16).



Le virage vers cette couleur et l'intensité de la décoloration découle de la nature, la concentration et la puissance des principes actifs. La méthode a pour avantage d'être relativement simple et peu coûteuse.

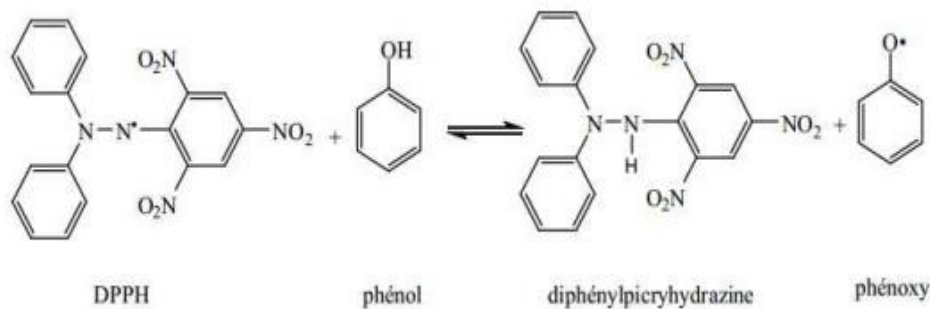


Figure 16 : Mécanisme réactionnel d'un antioxydant avec DPPH (Molyneux,2004).

L'activité anti-radicalaire est estimée en pourcentage d'inhibition du radical selon l'équation ci-dessous :

$$\% \text{ activité anti-radicalaire (I\%)} = \frac{[\text{Abs}_{517} \text{ standard} - \text{Abs}_{517} \text{ échantillon}]}{\text{Abs}_{517} \text{ standard}} \times 100$$

### 2.5.1 Préparation de la gamme étalon de l'acide ascorbique.

Une courbe étalon est obtenue en utilisant l'acide ascorbique comme standard. A partir de la solution mère (SM) à 0,2mg /ml, des dilutions allant de 20µg/ml à 200µg/ml contre un blanc (l'éthanol à 96%) ont été préparées.

## Matériel et Méthodes

Un blanc échantillon (250 ml de l'extrait + 750 ml d'éthanol), a été utilisé car les extraits étaient pigmentés, ce qui peut fausser les résultats.

Le contrôle positif (100%) est représenté par le solvant d'extraction et la solution éthanolique de DPPH (250 ml d'éthanol + 750 ml de DPPH) dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration.

Tableau 12 : Dilutions de l'acide ascorbique.

Concentration $\mu\text{g/ml}$	100%		20	30	40	50	60	70	80	90	100
Volume SM ( $\mu\text{l}$ )	0	25	50	75	100	125	150	175	200	225	250
Volume Ethanol ( $\mu\text{l}$ )	250	225	200	175	150	125	100	75	50	25	0

### 2.5.2 Préparation des extraits de résidu de culture et du substrat pour test du DPPH

Le tableau 13 représente les dilutions des extraits du résidu de culture et du substrat (témoin).

Tableau 13 : Dilutions des extraits de résidu de culture et du substrat pour le test de piégeage du DPPH

Solution	Extrait de résidu de culture ou du substrat		
Concentration $\text{mg/ml}$	10	5	2,5

La capacité de piégeage du radical DPPH a été évaluée selon la méthode rapportée par Aiche-Iratni en 2016. Les étapes de ce dosage sont dans la figure 16.

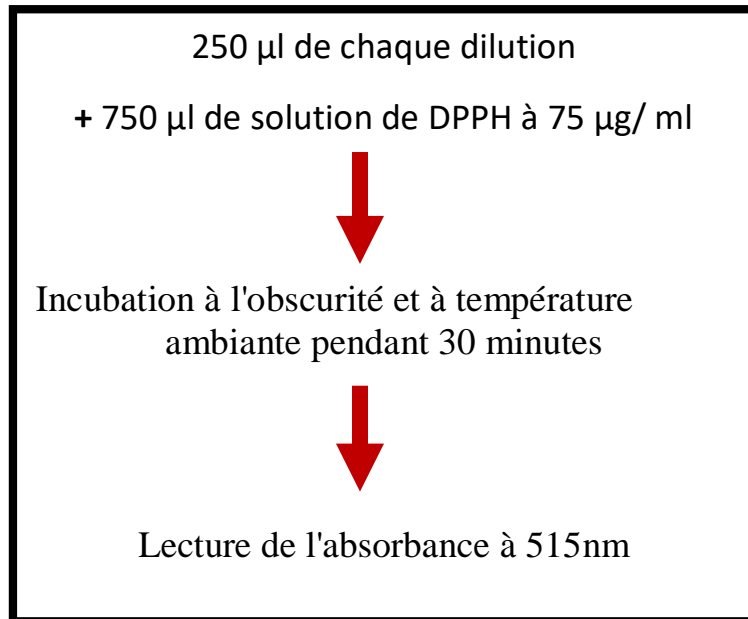


Figure 17 : Protocole du test de piégeage du radical libre DPPH par l'acide ascorbique avec l'extrait de substrat et celui du résidu de culture de POL (Aiche-Iratni, 2016)

L'acide ascorbique ou acide oxo-3-gulofuranolactone (forme énolique), est un acide organique ayant des propriétés antioxydantes (fig.18). Il est présent sous une forme énantiomériquement pure (acide L-ascorbique ou vitamine C).

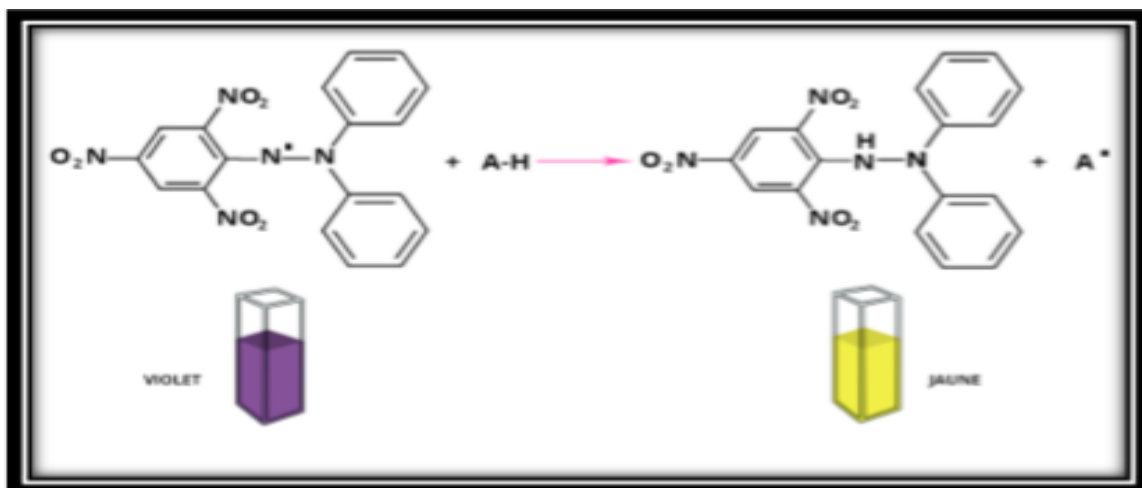


Figure 18 : Réaction de test DPPH (2,2 diphényl -1-picryl hydrazyle)

### 2.5.3 Préparation de la solution de DPPH.

Nous avons ajouté 30 ml de l'éthanol 96% à 1,2 mg de poudre de DPPH dans un flacon fumé puis agité à l'aide d'un agitateur magnétique.

## 2.6 Evaluation de l'activité antibactérienne.

Les champignons ont besoin de composés antibactériens et antifongiques pour survivre dans leur environnement naturel. Des composés antimicrobiens ont été isolés à partir de nombreuses espèces de champignons et sont bénéfiques pour l'être humain (Zjawiony, 2004). L'objectif de ce travail est de vérifier s'il existe des activités antibactériennes dans le résidu de culture de *P. ostreatus* comparativement au substrat non inoculé.

Dans la figure 19 sont schématisées les étapes de cette recherche d'activités antibactérienne.

### 2.6.1 Principe

Pour rechercher l'existence d'une activité antimicrobienne dans l'extrait de résidu de culture de la souche locale de *Pleurotus ostreatus* et celui du substrat sans mycélium, nous avons utilisé la méthode de diffusion sur disque (antibiogramme) qui est simple et peu coûteuse, et est la plus utilisée en routine dans les laboratoires de bactériologie pour les tests de sensibilité aux antibiotiques.

**Matériel et Méthodes**

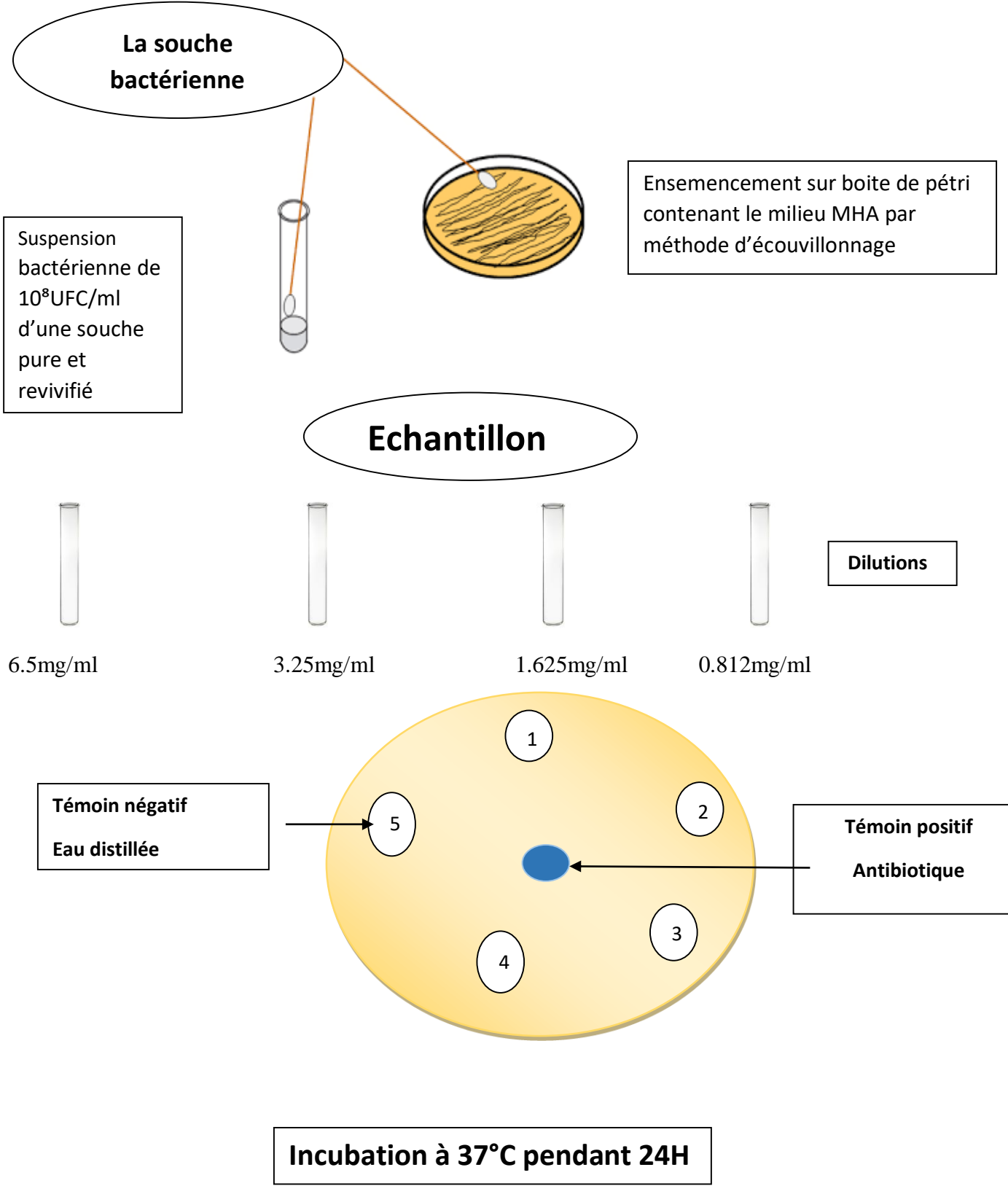


Figure 19 : Schéma explicatif des étapes du test de recherche de l'activité antibactérienne dans les extraits du résidu de culture de POL et du substrat

## Matériel et Méthodes

Les différentes dilutions des extraits aqueux du résidu et du substrat de culture de *Pleurotus ostreatus* ont été testées sur quatre souches bactériennes : 3 de type Gram positif, deux *Bacillus cereus* et une souche de *Staphylococcus aureus* et une souche à Gram négatif *Escherichia coli*.

### 2.6.2 Stérilisation du matériel

L'eau physiologique, les milieux de cultures, les tubes à essai utilisés dans la préparation des solutions bactériennes, les disques de papiers Wattman et les embouts utilisés ont été stérilisés à l'autoclave à 120°C pendant 30min.

### 2.6.3 Préparation des milieux de cultures.

#### ❖ Préparation du milieu BHI Agar

37g du milieu BHI (Brain heart infusion c'est-à-dire bouillon cœur-cervelle) en poudre et 9g d'agar auxquels est ajoutée une quantité suffisante en eau distillée pour former un litre de milieu. Après agitation jusqu'à dissolution totale, nous avons procédé à sa stérilisation à l'autoclave à 120°C pendant 20 minutes ; après refroidissement, le milieu a été réparti aseptiquement (dans une zone stérile délimitée par les deux flammes de deux becs benzène) dans des boîtes de pétri stériles puis mises à l'étuve pendant 24H à 37°C.

#### ❖ Préparation du milieu MHA

Trente-huit grammes (38g) de poudre du milieu MHA (Mueller Hinton Agar) sont mélangées à une quantité suffisante en eau distillée pour former 1l de milieu, homogénéisé puis chauffé sous agitation jusqu'à à ébullition pendant 1 minute puis stérilisé à l'autoclave pendant 15 minutes à 121°C.

Après refroidissement, le milieu a été réparti aseptiquement dans des boîtes de Pétri stériles puis mises à l'étuve pendant 24H à 37°C pour sécher.

### 2.6.4 Repiquage des souches bactériennes

Les souches bactériennes utilisées pour l'expérimentation étaient conservées au réfrigérateur à 4°C sur MHA. Nous avons réactivé, par repiquage, à l'aide de l'anse Pasteur, quelques colonies sur milieu BHIA en réalisant des stries serrées, puis mises à incuber dans l'étuve pendant 18 à 24H à 37°C.

### 2.6.5 Préparation et standardisation de la suspension bactérienne

Nous avons prélevé, à l'aide d'une anse Pasteur stérile, quelques colonies bactériennes isolées et en apparence identiques, développées sur milieu BHI que nous avons placé dans des tubes à essais contenant quelques millilitres d'eau physiologique à 0,9% de NaCl. Après une bonne agitation au vortex, nous avons procédé à la lecture de l'absorbance à 625nm à l'aide d'un spectrophotomètre à UV- visible. L'absorbance doit se situer entre 0,08 et 0,1 qui correspondent approximativement à  $10^6$  à  $10^8$  UFC/ml de charge bactérienne.

### 2.6.6 Préparation des disques de papier absorbant

Des disques de papier absorbant de 6mm de diamètre ont été découpés à l'aide d'une perforreuse à papier puis stérilisés à l'autoclave à 120°C pendant 20 min.

### 2.6.7 Ensemencement et dépôt des disques

Dans la zone aseptique, nous avons trempé un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne, puis nous l'avons essoré en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube, ensuite frotté l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas, en stries serrées. Cette opération a été répétée deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois. L'ensemencement s'est achevé en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

Nous avons rechargé l'écouvillon à chaque fois pour l'ensemencement de plusieurs boîtes de Pétri avec la même souche.

Des disques de papier Wattman de 6 mm de diamètre sont imprégnés de 25µl de chaque dilution de l'extrait à étudiées puis déposés délicatement sur la surface de la gélose Mueller-Hinton avec une pince stérile.

Le disque d'antibiotique utilisé comme référent a été déposé au centre de la gélose.

Les boîtes de Pétri sont d'abord laissées pendant 30min au réfrigérateur pour une pré-diffusion des substances, avant d'être incubées à 37°C à l'étuve pendant 24H.

### 2.6.8 Mesure de la zone d'inhibition

La lecture des résultats se fait par la mesure des zones d'inhibition, quand elles existent, et qui se manifestent par une auréole claire formée autour du ou des disque(s) avec activité. La mesure est prise sur le revers de la boîte pour le milieu MHA (fig.20).

Trois répétitions ont été réalisées pour chaque souche bactérienne.

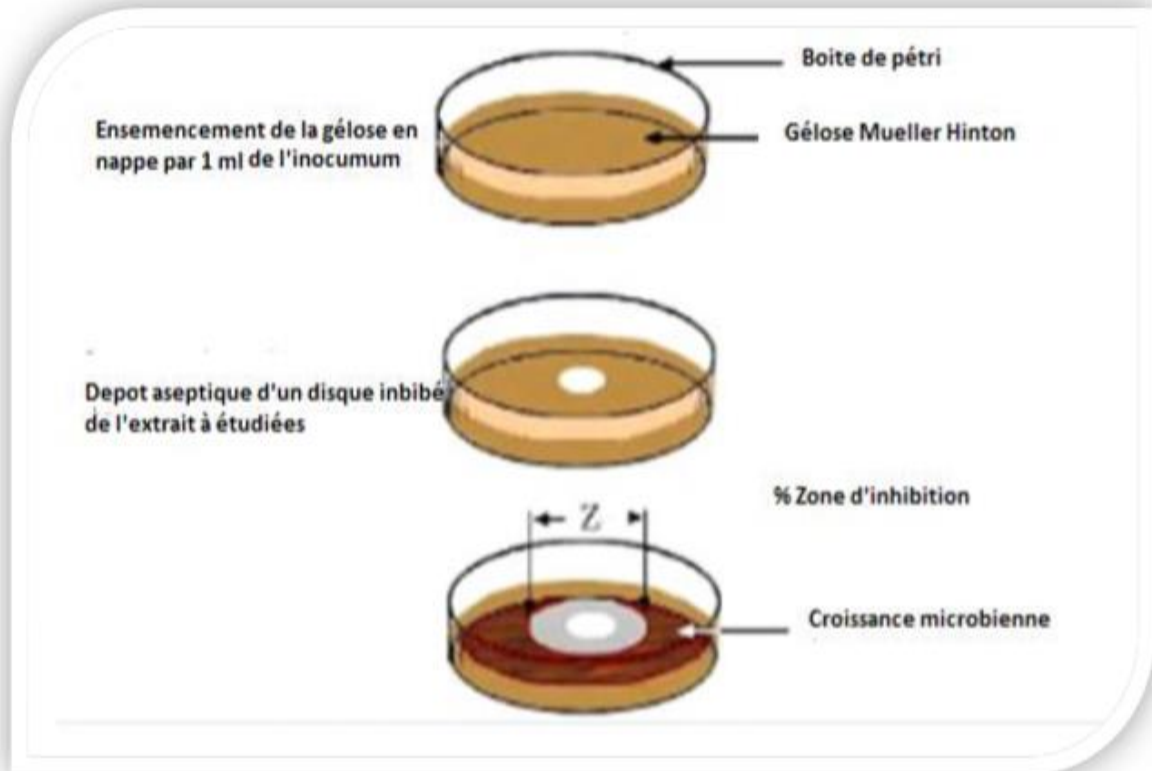


Figure 20 : Illustration de la méthode de diffusion de disque.

### 2.4. Analyse statistique des résultats

Les résultats présentés sous forme de moyennes de 3 répétitions. Nous avons procédé à la comparaison des moyennes obtenues pour le substrat et le résidu de culture de POL. Nous avons utilisés le test t de Student (appliqué au petits effectifs (<30)). Il s'agit de comparer deux moyennes observées. Lorsque les deux groupes d'échantillons (R et S) à comparer n'ont aucun lien (Schwartz, 1963) :

- Soit R et S deux groupes différents à comparer à savoir résidu de culture POL et substrat avant culture de POL respectivement.
- Soit mR et mS les moyennes du groupe Résidu et celui du groupe substrat, respectivement.
- Soit nR et nS la taille du groupe Résidu et celle du groupe Substrat, respectivement.

La valeur t de Student est donnée par la formule suivante:

$$t_{\text{observé}} = \frac{mR - mS}{\sqrt{\frac{S^2}{nR} + \frac{S^2}{nS}}}$$

$S^2$  est la variance commune aux deux groupes. Elle est calculée par la formule suivante :

$$S^2 = \frac{\sum(xR - mR)^2}{nR + nS - 2} + \frac{\sum(xS - mS)^2}{nR + nS - 2}$$

Sachant que  $nA = nB = n = 3$  donc  $nA+nB-2= 4$

$$t_{\text{observé}} = \frac{mR - mS}{\sqrt{\frac{2S^2}{3}}}$$

Pour savoir si la différence est significative, il faut tout d'abord lire dans la table t, la valeur critique correspondant au risque  $\alpha = 5\%$  pour un degré de liberté (d.d.l) =  $nR + nS - 2 = 3+3-2= 4$ .

Si la valeur absolue de t observée est supérieure à la valeur critique t théorique, la différence entre les deux moyennes comparées est significative.

---

## ***Résultats et discussion***

---

### 3.1 Rendement en poudre lyophilisée des extraits aqueux du résidu de culture de POL et du substrat

Les rendements en poudre lyophilisée des extraits aqueux du résidu de culture de POL et du substrat sont présentés dans la figure 21. Cette figure révèle qu'il y'a 2 fois plus de lyophilisat dans le substrat, avant la culture de POL que dans le résidu de culture après récolte des champignons.

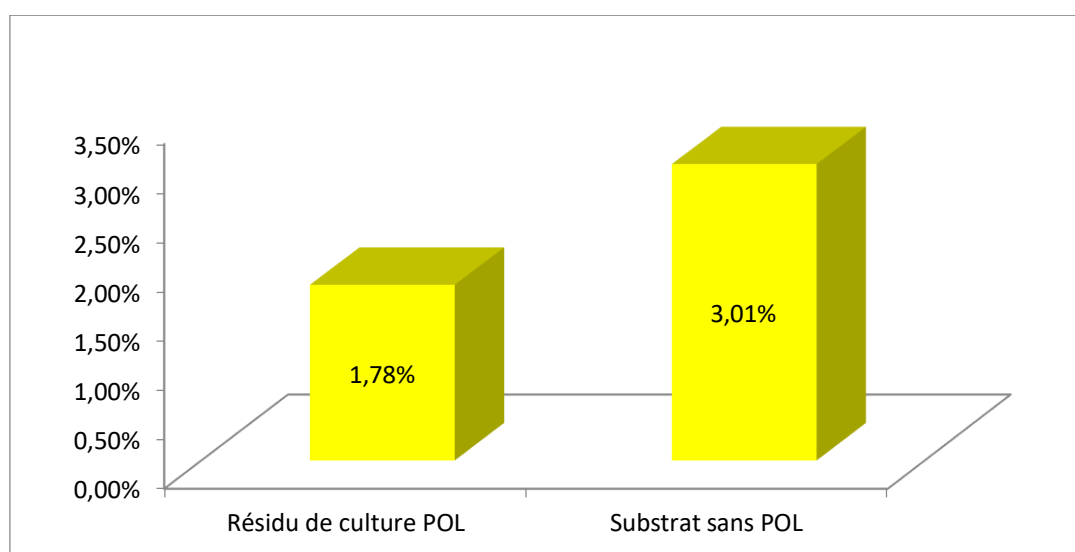


Figure 21 : Rendement en poudre lyophilisée des extraits aqueux du résidu de culture de POL et du substrat

Ces rendement en poudres lyophilisées (1,78% pour le résidu de culture et 3,01% pour le substrat formulé avec du grignon d'olive, marc de café et paille de blé, sont nettement inférieurs à ceux obtenus par Ghezal & Chemam (2017) sur les carpophores développés sur ce même substrat (et qui ont laissé derrière eux ce résidu que nous étudions) avec un taux de 20,20%.

### 3.2 Dosage des polyphénols totaux

La méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu est l'une des méthodes les plus anciennes et les plus utilisées pour le dosage des polyphénols totaux (PPT) dans les plantes médicinales et les aliments. La courbe étalon de l'acide gallique (fig. 22) montre une linéarité de l'absorbance en fonction des concentrations. Les quantités de PPT ont été exprimées en milligrammes équivalents d'acide gallique par gramme de

## Résultats et discussion

matière sèche ( $\mu\text{g EAG/g MS}$ ) et sont déterminés par l'équation de type :  $y = 0.0132 x + 0,00378$  (fig. 20).

L'évaluation quantitative des polyphénols totaux montre une corrélation positive entre la variation de la concentration des polyphénols (0 à 200  $\mu\text{g/ml}$ ) et l'absorbance avec un coefficient de corrélation  $R^2 = 0,9988$ . On observe une très bonne linéarité de l'absorbance en fonction de la concentration.

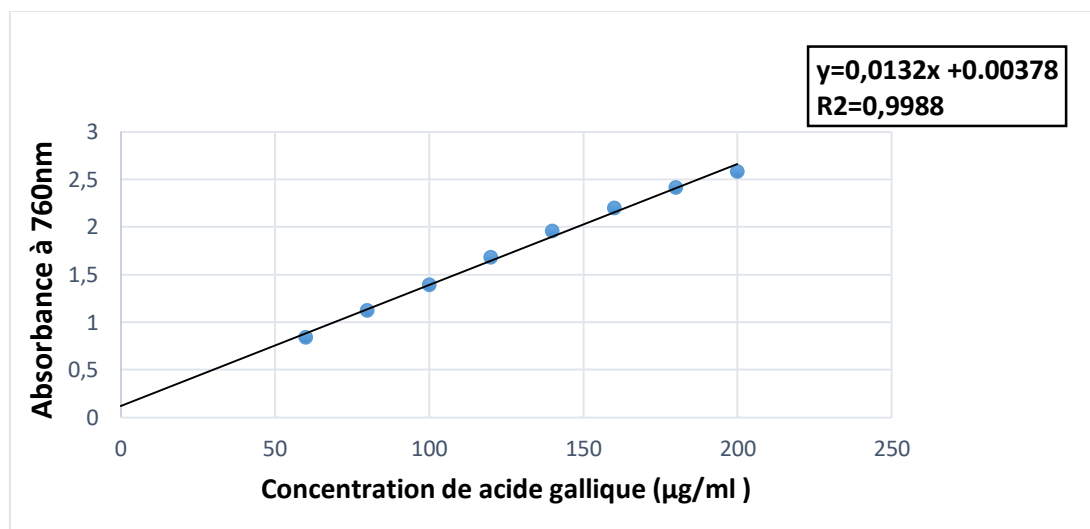


Figure 22 : courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Dans la figure 23, sont regroupées les valeurs des concentrations en PPT obtenues par l'extraction aqueuse du résidu de culture de *P. ostreatus* ayant poussé sur le substrat formé par le mélange des 3 résidus agro-industriels (GO/MC/PB/ $\text{CaCO}_3$ ) .

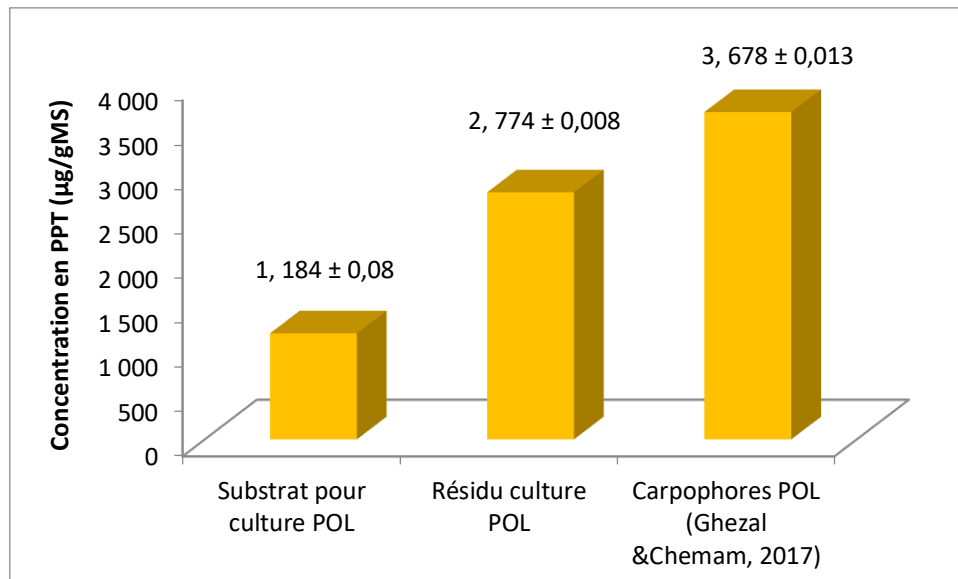


Figure 23: Concentration en polyphénols dans les extraits du résidu de culture de *POL* et celui du substrat ainsi que celui des carpophores

La figure 23 montre que la teneur en polyphénols totaux, dans l'extrait de résidu de culture de *POL* est 2,3 fois plus élevée que celle observée dans le substrat avant inoculation de *POL*, et que les carpophores, d'après les résultats de Ghezal et Chemam en 2017, en contiennent 3 fois plus que le substrat non inoculé.

Cela laisse supposer que le substrat de culture présente des polyphénols, en faible quantité et que, au cours de son développement, le mycélium en a fabriqué presque 7 fois plus. Il est connu que la plupart des éléments fabriqués par le mycélium passent dans les carpophores formés.

Beaucoup de chercheurs ont signalé la richesse du marc de café en polyphénol, essentiellement de l'acide chlorogénique (Carassou, 2015 ; Scully et al, 2016) qui est plus importante dans l'arabica que dans le robusta (Carassou, 2015). Carassou rapporte que la concentration en polyphénol dans GO a été estimée à 13-18mg AG/g MS, quantité bien au-dessus de celles que nous avons obtenues au cours de notre étude.

Quant au grignon d'olive, nous n'avons trouvé qu'une seule référence, Lkrik et al. (2015). Ces auteurs ont estimés à  $3,56 \pm 0,23$  µg/ml les polyphénols totaux dans le grignon d'olive.

Nous pouvons affirmer, à la lumière des résultats obtenus, que les carpophores de *POL* développés sur le mélange de résidus agro-industriels (GO/MC/PB) sont riches en polyphénols à pouvoir antioxydant, et que ces polyphénols proviennent de l'activité du mycélium de *POL* au cours de son développement.

Le résidu de culture est lui aussi enrichi en polyphénols totaux, et peut donc être incorporé avantageusement à une alimentation animale.

Concernant le rendement d'extraction, en général, il augmente avec l'augmentation de la polarité des solvants d'extraction utilisés. Athamena (2009) précise que la méthode d'extraction doit permettre une extraction complète des composés d'intérêt et doit éviter leur modification chimique.

Selon Aiche-Iratni (2016), l'eau est un bon solvant polaire ; elle permet l'extraction d'un grand nombre de composés biologiquement actifs à partir de différentes matières végétales ; elle est le solvant le plus employé pour l'extraction de composés pour l'étude de l'activité antioxydante.

Toutefois, selon Tawaha et al. (2007), le dosage par le réactif de Folin-Ciocalteu donne une évaluation brute de tous les composés phénoliques d'un extrait ; il n'est pas spécifique aux polyphénols, mais beaucoup de composés peuvent réagir avec le réactif, donnant un taux phénolique apparent élevé ; le réactif de Folin Ciocalteu réagit avec les groupements hydroxyles mais pas seulement ceux des polyphénols mais même les groupements hydroxyles libres des sucres ; des protéines etc.

Des études ont également montré que plusieurs facteurs peuvent influencer sur la teneur en composés phénoliques. Parmi ces facteurs, il est possible de citer les facteurs géographiques, climatiques, le patrimoine génétique, le stade de développement et le degré de maturation, la période de récolte, la durée de stockage, la méthode d'extraction et la méthode de quantification des composés d'intérêt biologique (Stypinski,1997 ; Aganga & Mosase, 2001; Luczkiewicz et al.,2001; Podsdek, 2007 ; Falleh et al .,2008; Vicas et al., 2008 ).

### 3.3. Dosage des flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'aluminium est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans l'extrait éthanolique.

Les concentrations en flavonoïdes des différents extraits sont déduites à partir de la gamme d'étalonnage (0-100µg/ml), établie avec la quercétine, et sont exprimées en microgrammes équivalents de quercétine par milligramme de matière sèche (µg EQ/g MS).

Les résultats obtenus sont représentés dans la courbe d'étalonnage de la figure 24.

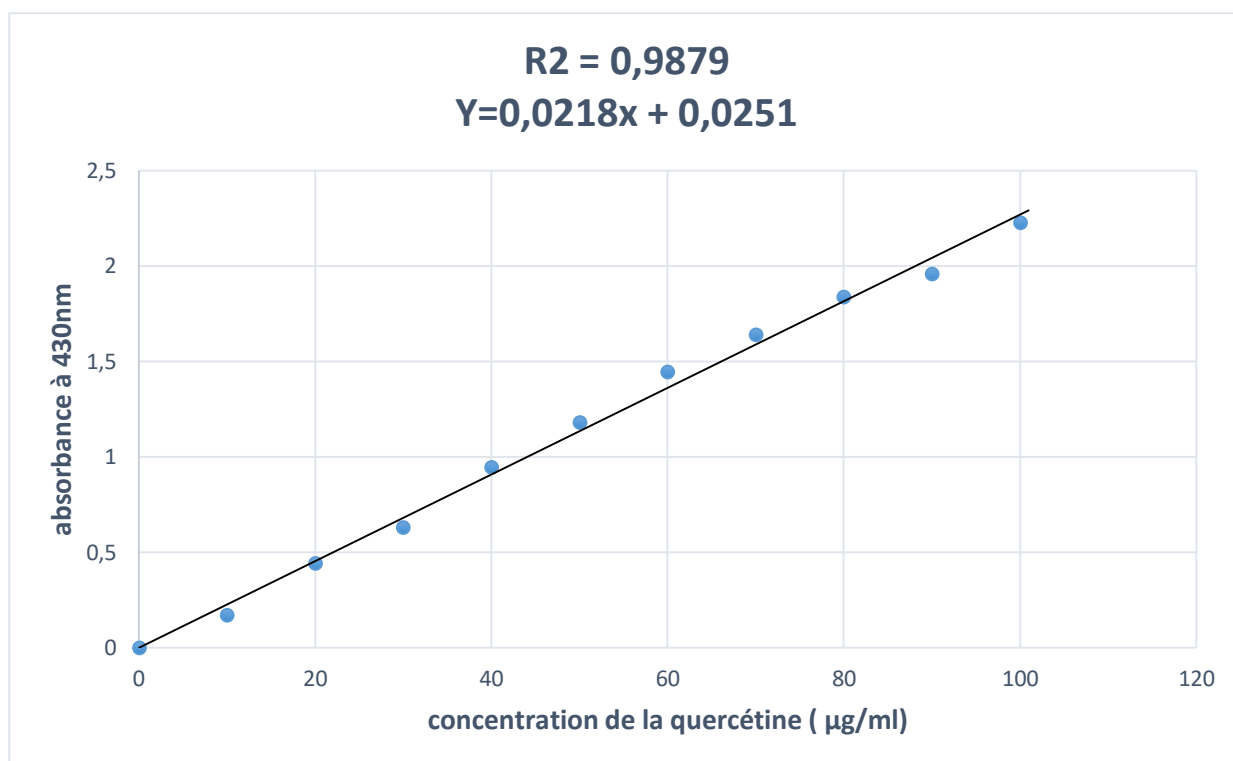


Figure 24 : Courbe d'étalonnage de la quercétine

L'évaluation quantitative des flavonoïdes montre une corrélation positive entre la variation des flavonoïdes (0 à 100 µg/ml) et l'absorbance avec un coefficient de corrélation  $R^2 = 0,9879$ .

Dans la figure 25, sont regroupées les valeurs des concentrations en flavonoïdes obtenues par l'extraction éthanolique du résidu de culture de *P. ostreatus* ayant poussé sur le mélange GO/MC/PB/CaCO<sub>3</sub> et dans le substrat non inoculé.

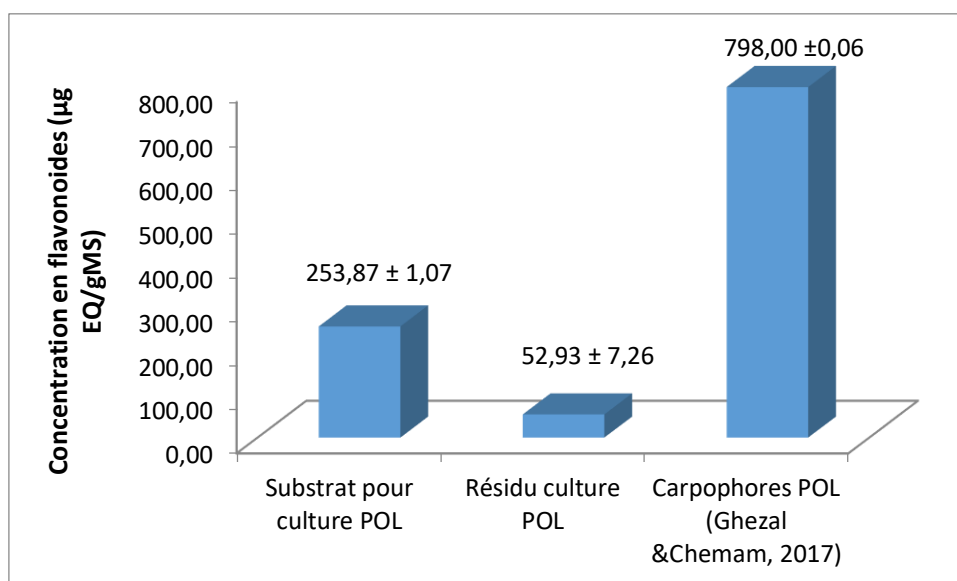


Figure 25: Concentration en flavonoïdes dans les extraits du substrat et du résidu de culture POL

La concentration en flavonoïdes totaux est faible dans les extraits éthanoliques du résidu de culture. Cette concentration équivaut le 1/5ème de la concentration retrouvée dans le substrat dépourvu de mycélium de POL. Par contre les carpophores récoltés sur ce substrat ont présenté une concentration 15 fois plus élevée que celle du résidu de culture. Cette concentration, comparée à celle du substrat de culture seul, est 3 fois plus élevée.

Malheureusement, il n'y a pas de travaux réalisés sur les polyphénols et les flavonoïdes dans les résidus de culture pour pouvoir effectuer des comparaisons ; par contre il y en a beaucoup, dans tous les pays du monde, sur les carpophores comme aliment humain, source de molécules bioactives.

### 3.4. Test de l'activité antioxydante

La méthode de piégeage du radical libre (DPPH) a été retenue pour évaluer l'activité antioxydante de nos échantillons, car elle est reconnue comme étant simple, rapide et efficace en raison de la grande stabilité du radical (Bozin *et al.*, 2008). Nous avons utilisé comme référents l'acide ascorbique. La courbe d'étalonnage, est présentée dans la figure 26.

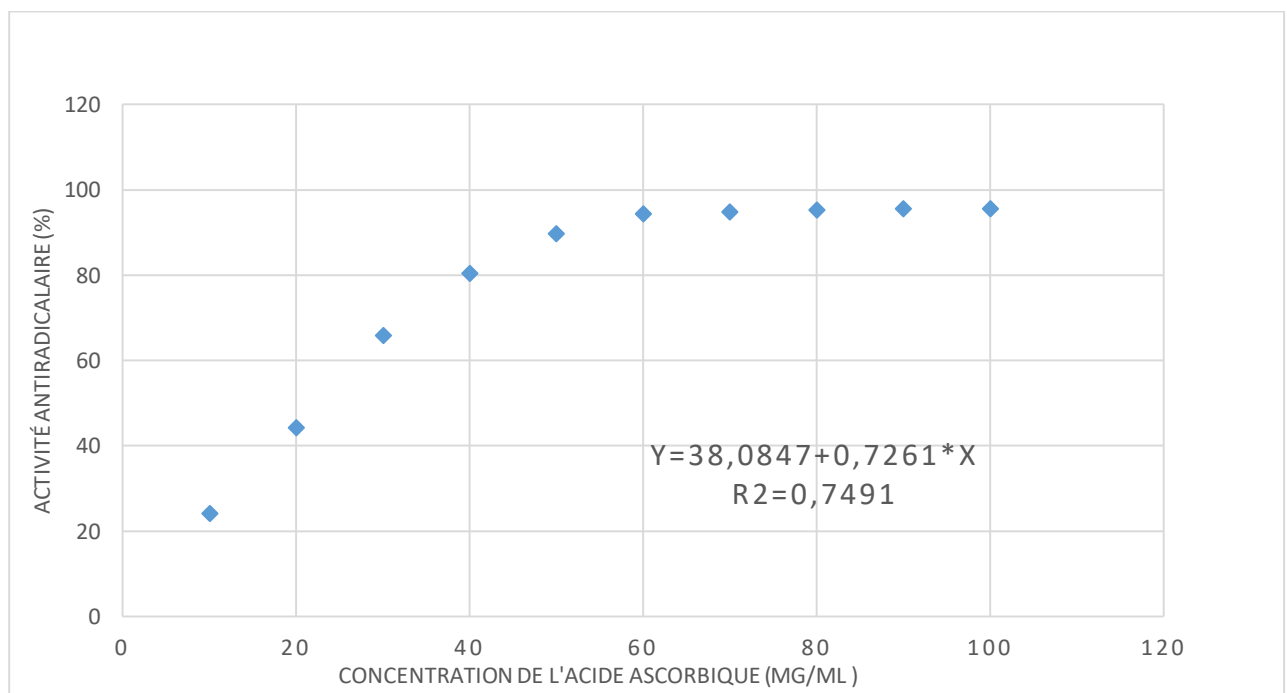


Figure 26 : courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (vitamine C).

## Résultats et discussion

Dans la figure 27, nous avons présenté l'activité anti-radicalaire du substrat et du résidu de culture de POL comparativement aux résultats obtenus par Ghezal et Chemam en 2017 chez les carpophores.

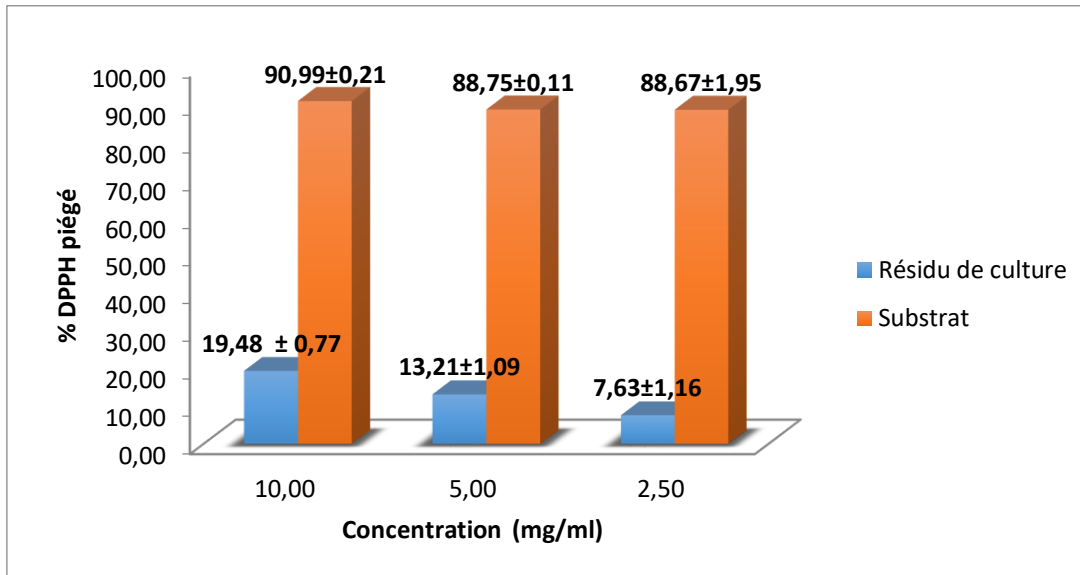


Figure 27 : Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration des extraits du résidu de culture de POL et du substrat.

La figure 27 révèle que le substrat de culture formulé à partir de GO, MC, PB et CaCO<sub>3</sub> est riche en antioxydants qui ont piégé le DPPH à hauteur de 91% pour une concentration en lyophilisat de 10mg/ml. Comparativement à l'activité de l'acide ascorbique, cette activité est très faible puisque le même pourcentage de piégeage du DPPH a été obtenu avec seulement 50µg/ml, une concentration 200 fois plus faible que celle utilisée pour le substrat et le résidu de culture. L'acide ascorbique est un antioxydant puissant.

Ghezal & Chemam ont exprimé l'activité antioxydante des carpophores de POL récolté sur le substrat formulé et ceux de l'acide ascorbique en IC<sub>50</sub>, et avaient trouvé un IC<sub>50</sub> de 40 µg/ml dans les carpophores et 10µg/ml pour l'acide ascorbique. Athamena (2009) définit IC<sub>50</sub> comme étant la concentration efficace d'un composé qui cause la perte de 50% de l'activité du radical DPPH.

L'activité antioxydante de l'acide ascorbique est donc 4 fois supérieure à celle des carpophores de POL, ceci indique que comme dans le cas des PPT et des flavonoïdes, les produits de fabrication du mycélium sont passés presque en grande quantité dans les carpophores formés. La forte activité antioxydante des carpophores de POL est probablement

lié au fait que le pleurote est le champignon le plus riche en vitamine C connu à ce jour (Rampin, 2017)

Les flavonoïdes sont des substances potentiellement antioxydantes ayant la capacité de piéger les espèces radicalaires et les formes réactives de l'oxygène. Ils pourraient donc être considéré comme de bons marqueurs du pouvoir antioxydant, ainsi le faible pouvoir anti-radicalaire dans le résidu de culture peut s'expliquer en partie par la faible teneur en flavonoïdes.

Les activités anti-radicalaires dans le substrat de culture sont du probablement aux antioxydants du marc de café et du grignon d'olive ainsi que ceux de la paille de blé

### 3.5. Evaluation de l'activité antibactérienne

Nous avons étudié in vitro le pouvoir antibactérien des extraits aqueux du résidu de culture par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide (Muller Hinton Agar). L'activité antibactérienne des extraits est estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition formée autour des disques contenant les extraits à tester vis-à-vis de quatre souches bactériennes utilisées, après 24 heures d'incubation à une température adéquate de 37°C.

Les résultats obtenus sont dressés dans le tableau 14 et visualisables dans les figures 28 à 31.

Tableau 14 : Activité antibactérienne de l'extrait aqueux du résidu de culture de POL et du substrat.

Souches bactériennes	Diamètre moyen des zones d'inhibitions (mm)		
	Echantillon	Témoin	Antibiotique
<i>Bacillus cereus</i> ATCC10876	(-)	(-)	18,80
<i>Bacillus cereus</i> _14579	(-)	(-)	18,75
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	(-)	(-)	10,25
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	(-)	(-)	14,5

(-) : absence de zone d'inhibition.

## Résultats et discussion

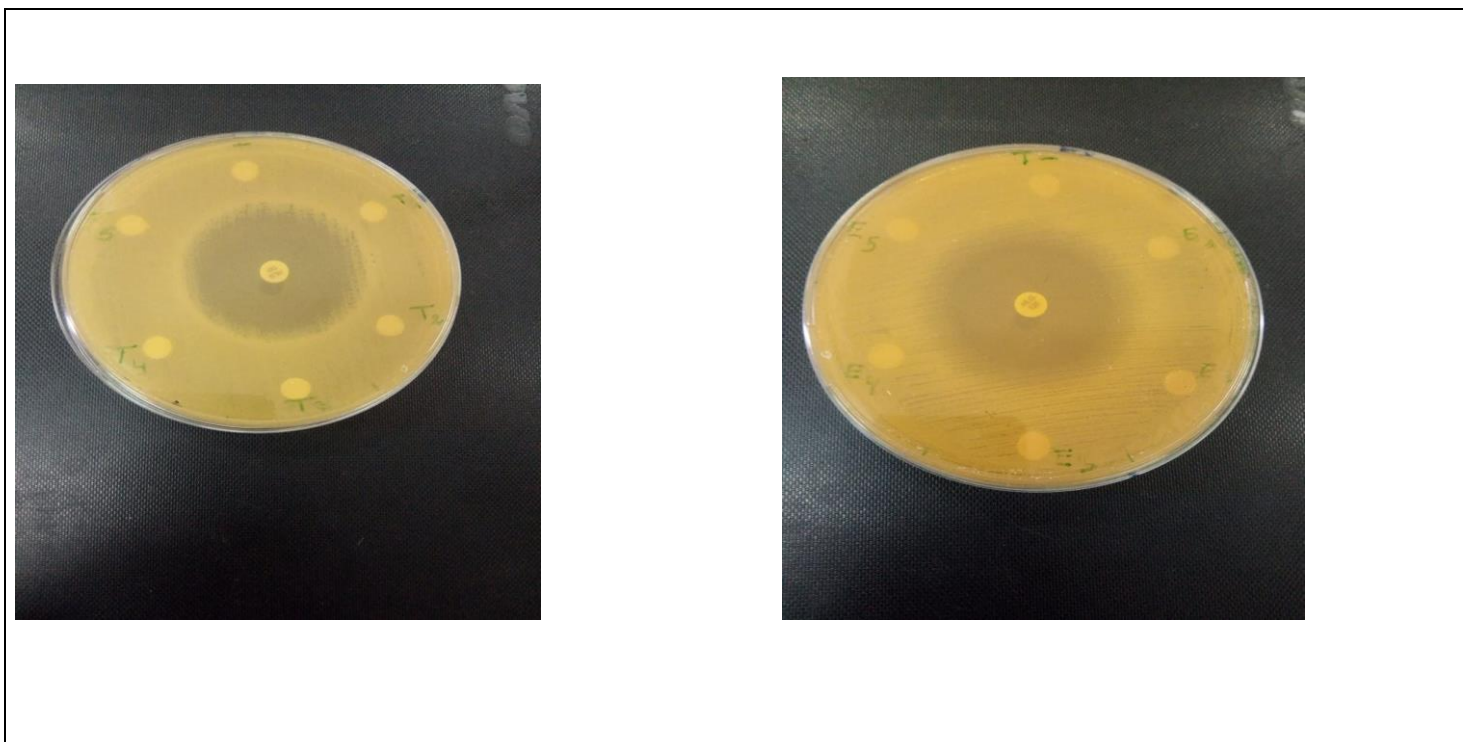


Figure 28 : Activité antibactérienne des extraits aqueux du substrat (à droite) et du résidu de culture (à gauche) sur *Escherichia coli* ATCC 25922

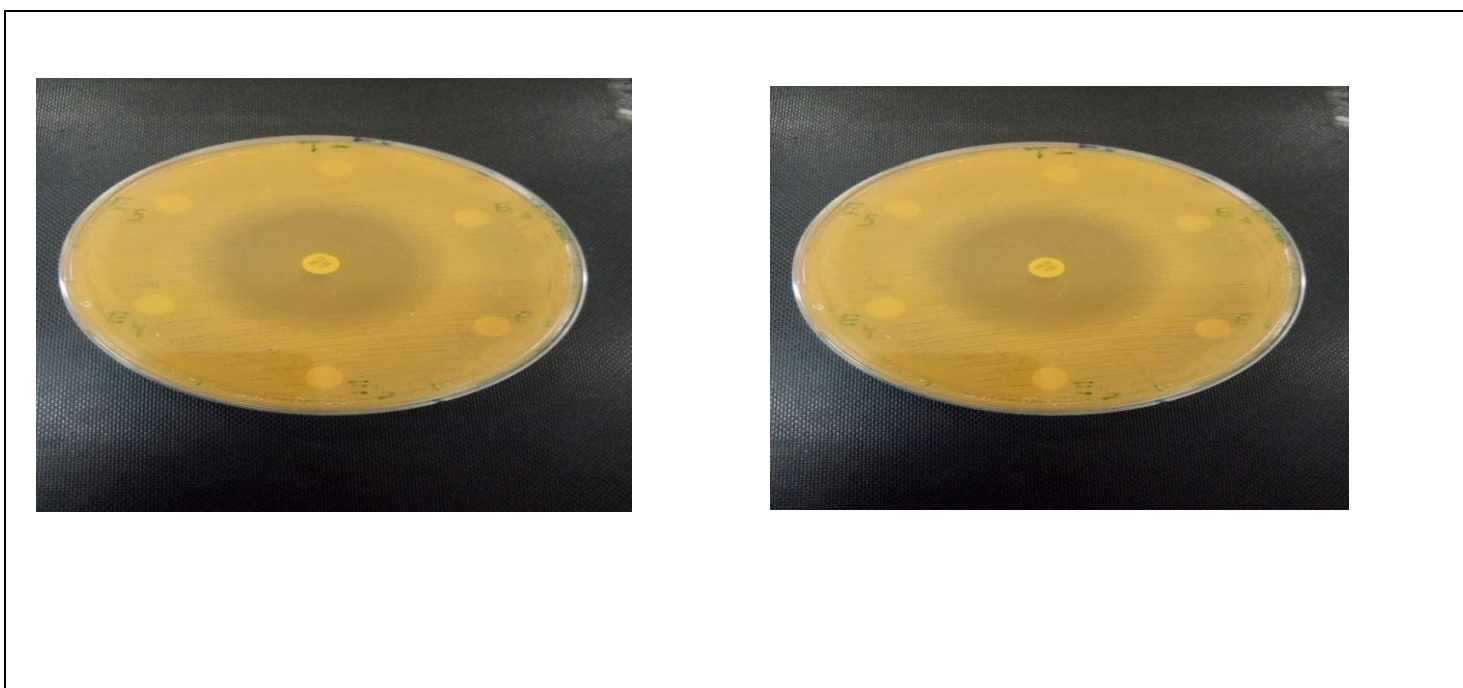


Figure 29: Activité antibactérienne des extraits aqueux du substrat (à droite) et du résidu de culture (à gauche) sur *Bacillus cereus* ATCC10876

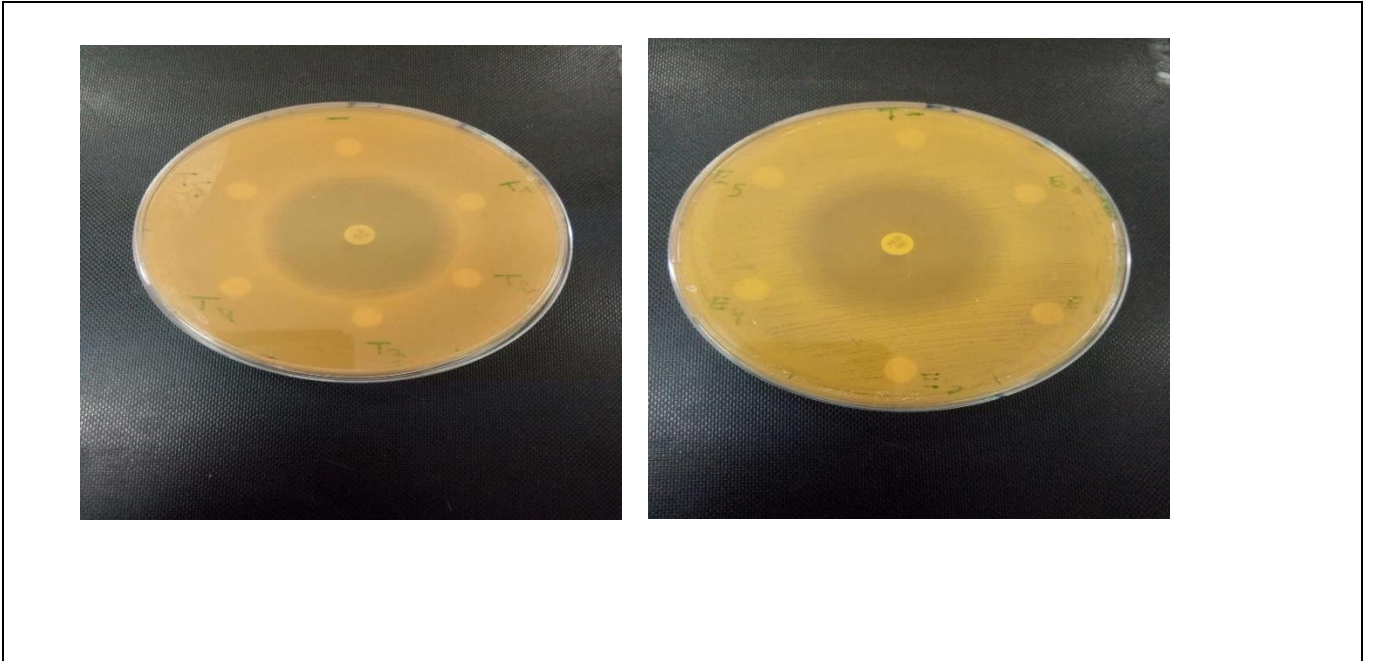


Figure 30: Activité antibactérienne des extraits aqueux du substrat (à droite) et du résidu de culture (à gauche) sur *Bacillus cereus* ATCC14579

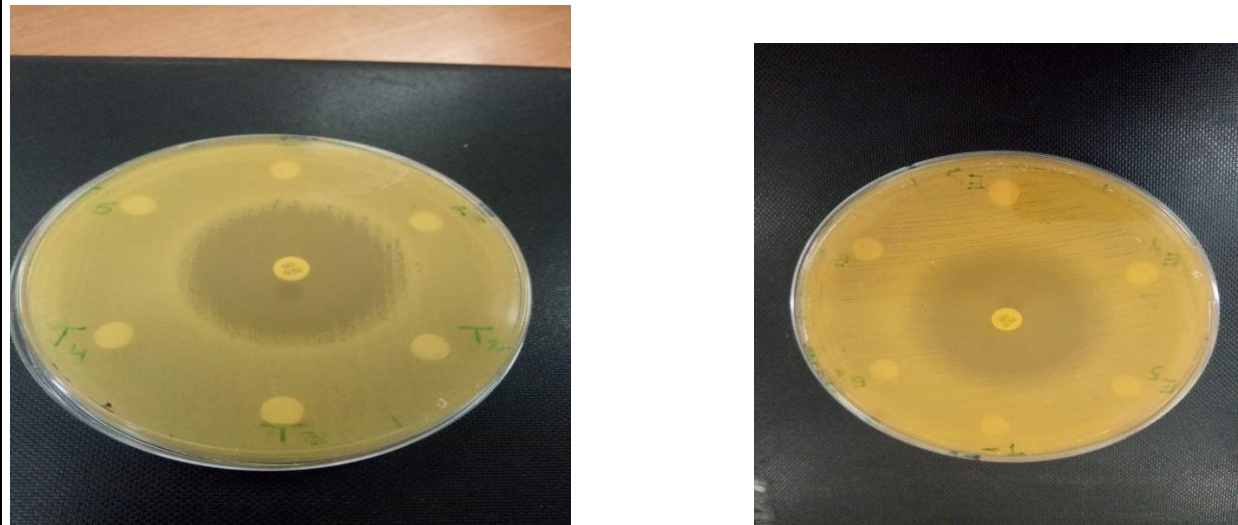


Figure 31 : Activité antibactérienne des extraits aqueux du substrat (à droite) et du résidu de culture (à gauche) sur *Staphylococcus aureus* ATCC25923

Les résultats indiquent que l'extraits aqueux du substrat formulé pour la culture de POL ainsi que celui du résidu de culture de POL n'ont pas présenté d'activité antibactérienne vis-à-vis des 4 souches bactériennes testées.

## Résultats et discussion

La lecture des résultats révèle que les 2 souches de *Bacillus cereus* sont plus sensibles vis-à-vis de la gentamicine (zones d'inhibition =18,80 mm) que la souche étudiée de *Staphylococcus aureus* (zones d'inhibition =15mm) qu'*Escherichia coli* ATCC (zones d'inhibition =12 mm).

Les souches bactériennes se sont révélées résistantes aux deux extraits cela s'expliquerait soit par l'absence de molécules fortement antimicrobiennes ou soit par la faible capacité des composés antimicrobiens présents dans les extraits à diffuser de manière uniforme à travers la gélose.

La lecture des résultats révèle que les 2 souches de *Bacillus cereus* sont plus sensibles vis-à-vis de la gentamicine (zones d'inhibition =18,80 mm) que la souche étudiée de *Staphylococcus aureus* (zones d'inhibition =15mm) et que celle de *Escherichia coli* (zones d'inhibition =12 mm).

Les résultats indiquent, également, que l'extrait aqueux du substrat formulé pour la culture de POL ainsi que celui du résidu de culture, obtenu après inoculation de POL puis récolte des carpophores, n'ont pas présenté d'activité antibactérienne vis-à-vis des 4 souches bactériennes testées à savoir, *Bacillus cereus* ATCC10876 et ATCC14579, *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Staphylococcus aureus* ATCC25923. Des résultats similaires ont été trouvés, en 2017, par Ghezal et Chemam, pour les tests antibactériens réalisés, sur *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Bacillus cereus* ATCC10876, avec les extraits aqueux de carpophores de POL formés sur ce substrat.

Les chercheurs qui rapportés des activités antibiotiques ont surtout travaillé sur des extraits alcooliques (éthanolique ou méthanolique) de carpophores de *Pleurotus ostreatus* comme Chowdhury et al. (2015) par exemple. Hearst et al. En 2009 ont testé l'activité des extraits aqueux de carpophores de *Pleurotus ostreatus* et ceux de *Lentinula edodes* sur 39 microorganismes, dont 29 souches bactériennes ; alors que l'extrait de *Lentinula* a présenté une activité antibactérienne sur 28 souches bactériennes, celui du Pleurote n'a présenté qu'une faible activité contre 3 souches, *Bacillus cereus* NCTC 7464, *Bacillus subtilis* NCTC 10400 et une souche de *Pseudomonas* non identifiée au niveau spécifique.

Comment expliquer l'absence d'activité antibactérienne aussi bien chez les extraits de carpophores que ceux des substrats et résidus de culture de POL ? Y'a-t-il, réellement, absence de molécules antimicrobiennes ? Y'a-t-il présence de molécules antimicrobiennes dans les extraits mais présentant une faible capacité à diffuser à travers la gélose ? Faut-il changer de solvant d'extraction?

---

## ***CONCLUSION ET PERSPECTIVES***

---

## Conclusion et perspectives

En raison de la demande croissante de composés bioactifs naturels dans les industries pharmaceutiques et alimentaires, l'intérêt pour les macromycètes (gros champignons), comestibles ou non, n'a cessé d'augmenter ces dernières années. En effet les carpophores, appelés communément champignons, destinés à la consommation humaine sont, aujourd'hui, appelé aliments fonctionnels en raison de leur bonne valeur nutritive prouvée et tout leur potentiel médicinal.

*Pleurotus ostreatus* a fait ses preuves en tant que bioremédiateur, d'ailleurs, il a été qualifié par certains chercheurs, de champignon éboueur. C'est un champignon comestible lignicole c'est-à-dire un saprophyte du bois. Aujourd'hui il est cultivé sur divers résidus agricoles et agro-industriels.

Nous avons fait pousser une souche locale de *Pleurotus ostreatus* (POL) sur un mélange : grignon d'olive (GO), (44%) – marc de café (MC), (44%) – paille de blé (PB), (10%) et du carbonate de calcium (2%), en 2017. Les extraits aqueux des carpophores ont été testés, en 2017, pour une activité antimicrobienne, une activité anti-radicalaire par le piégeage du radical DPPH et les dosages des polyphénols totaux (PPT) par le réactif de Folin-Ciocalteu et les flavonoïdes totaux par la méthode d'AlCl<sub>3</sub>. Le même type d'analyses a fait l'objet de notre présente étude sur le substrat de culture de POL et le résidu de culture obtenus en 2017.

Nous voulons savoir s'il était possible de faire du résidu de culture de POL, un produit à haute valeur ajoutée en recherchant les mêmes activités que sur les carpophores.

Les résultats obtenus nous permettent d'affirmer que le résidu de culture a été enrichi en PPT, en effet il y'en a deux fois plus que dans le substrat de culture. Par contre pour les flavonoïdes totaux, Il y'en très peu dans le résidu de culture.

Aussi bien pour les PTT que pour les flavonoïdes ce sont les carpophores qui en possèdent le plus. Ceci est normal car les carpophores se forment à partir du mycélium développé sur substrat de culture, et condensé en champignon suite à un stress. Les carpophores assurent la reproduction (formation de basidiospores) et la survie de l'espèce. Il est normal que les réserves du mycélium passent dans les carpophores.

Les extraits aqueux aussi bien du substrat que du résidu de culture de POL et même des carpophores n'ont pas présenté d'activité antimicrobienne sur les quatre souches bactériennes testées.

Nous pouvons conclure que la culture du pleurote sur des résidus agroindustriels est un bel exemple d'une double valorisation, produire des champignons riches en antioxydants naturels et le résidu de culture peut faire l'objet d'extraction de molécules bioactives qu'il contient.

Cette étude ouvre de nombreuses perspectives :

- avant de conclure à une absence totale d'activité antibactérienne, d'autres essais doivent être réalisés,
- à travers notre recherche bibliographique et compte tenu de la complexité des processus d'oxydation il apparait clairement qu'une seule méthode n'est pas suffisante pour caractériser

## Conclusion et perspectives

le potentiel antioxydant d'un échantillon. Il faut donc combiner les réponses obtenues à l'aide de tests différents et complémentaires.

-sachant que de nombreux déchets agricoles sont disponibles dans notre pays, il faut les exploiter afin de cultiver cette espèce de champignon, voir d'autres espèces, à des fins thérapeutiques et pharmacologiques,

- travailler avec d'autres solvants d'extraction

- chercher à optimiser les proportions en GO, MC et PB afin d'avoir des champignons avec de meilleures activités biologiques,

- isoler et identifier les molécules bioactives et vérifier leurs activités in vitro et in vivo.

---

## ***Références bibliographiques***

---

## Références bibliographiques

- ❖ Aganga A.A. et Mosase K. W. (2001). Tannin content, nutritive value and dry matter digestibility of *Lonchocarpus capassa*, *Zizyphus mucronata*, *Sclerocarya birrea*, *Kirkia acuminata* and *Rhus lancea* seeds. *Animal Feed Science and Technology*, 91(1-2): 107-113.
- ❖ Aiche-Iratni G. 2016. Activités biologiques, d'intérêt médical, d'extraits de feuilles de *Pistacia Lenticus* et d'*Orignum majorana*. Thèse de Doctorat : Microbiologie : faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques. Université de Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou. 130 p.
- ❖ Akkache S., 2010. Effets de deux aliments granulés sur les performances de reproduction des lapines. Mémoire de Magister en Sciences Agronomiques option Alimentation Animale et Produits Animaux, Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, 60p.
- ❖ Akyüz, M., & Yildiz, A. (2008). Evaluation of cellulosic wastes for the cultivation of *Pleurotus eryngii* (DC. ex Fr.) Quel. *African Journal of Biotechnology*, 7(10), p. 1494-1499.
- ❖ Amrane T. & Belkacemi T., 2017 valorisation de résidus agricoles par la culture d'une souche locale d'un champignon comestible. Mémoire de master 2 en Sciences Biologiques, spécialité Protection de l'Environnement, Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, 42p.
- ❖ Athamena S. 2009. Etude quantitative des flavonoïdes des grains de *Cuminum cyminum* et les feuilles de *Rosmarinus officinalis* et l'évaluation de l'activité biologique. Mémoire de magister : Biochimie Appliquée. Faculté des Sciences de l'Université de El -Hadj Lakhdar Batna.
- ❖ Barros L., Cabrita L., Boas M. V., Carvalho A. M. & Ferreira, I. C. F. R., 2011. Chemical, biochemical and electrochemical assays to evaluate phytochemicals and antioxidant activity of wild plants. *Food chemistry*, 127(4) :1600-1608.
- ❖ Bermond P., 1990. Biological effects of food antioxidants. In " Food antioxidants". Ed. B.J .F. Hudson- London and New York. pp:193-251.

## Références bibliographiques

- ❖ Bozin B., Mimica-dukic N., Smojlik I., Goran A., Igetic R., (2008). Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., alliaceae, food chemistry, 111:925-929.
- ❖ Chang S.-T. & Miles P. G., 1977. Mushrooms: Cultivation, nutritional value, medicinal
- ❖ Cushnie T.T. & Lamb A.J., 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. International journal of Antimicrobial Agents, 26(5): 343-356.
- ❖ de Souza Castagnino D., 2014. Vitamines B, éléments clé de l'efficacité métabolique : effets de la nature de la diète sur les apports. Thèse de Doctorat en Sciences Animales, Université Laval, Québec, Canada, 154p.
- ❖ Deepalakshmi K. & Mirunalini S., 2014. *Pleurotus ostreatus*: an oyster mushroom with nutritional and medicinal properties. Journal of Biochemistry and Technologie, 5, (2):718-726.
- ❖ Delmas J., 1989. Les champignons et leurs cultures : Culture actuelle et potentiel des champignons supérieurs. Edition Flammarion, Paris, 2<sup>ème</sup> Edition, 564-584.
- ❖ Delmas J., 1989. Les champignons et leur culture, culture actuelle et potentielle des champignons supérieurs. Edition Flammarion, Paris, 2<sup>ème</sup> édition. 937 p.
- ❖ Durrieu G., 1993. Ecologie des champignons. Collection d'écologie, édition Masson, Paris, France. 207p.
- ❖ Favier A., 2003. Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique, 108-115.
- ❖ Foluke A., Olutayo A. & Olufemi A., 2014. Assessing spent mushroom substrate as a replacement to wheat bran in the diet of broilers. American International Journal of Contemporary Research Vol. 4 No. 4 : 178-183.

## Références bibliographiques

- ❖ Fourré G., 1990. Dernières nouvelles des champignons. Editeur Niort : Fourré G. 1 vol. 337 p.
- ❖ Ghezal L. & Chemam H., 2017. Recherche d'activités antioxydantes et antibactériennes chez une souche local de champignons comestibles cultivée sur certains résidus agricoles. Mémoire de master 2 en Science de la Matière Filière Chimie, spécialité chimie Pharmaceutique,, Faculté des Sciences, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, 42p.
- ❖ Girmay Z, Gorems W., Birhanu G. & Zewdie S., 2016. Growth and yield performance of *Pleurotus ostreatus* (Jacq. Fr.) Kumm (oyster mushroom) on different substrates. AMB Express, 6: 87, 6p.
- ❖ Guimberteau J., 1995. Définition et position taxonomique du genre *Pleurotus* dans la classification des champignons. Dossier Pleurote, 11<sup>ème</sup> édition, INRA Centre de recherches de Bordeaux, Station de Recherche sur les Champignons. Villenave d'Ornon, p.1013.
- ❖ Harnly J. M., Bhagwat S. & Lin L. Z. , 2007. Profiling methods for the determination of phenolic compounds in foods and dietary supplements. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 389(1): 47-61.
- ❖ Harnly J.M., Doherty R.F., Beecher G.R., Holden J.M., Haytowitz D.B., Bhagwat S. & Gebhardt S., 2006 . Flavonoid content of US fruits, vegetables, and nuts. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54(26): 9966-9977.
- ❖ Hibbett D.S., R. Bauer, M. Binder, A.J. Giachini, K. Hosaka, A. Justo, E. Larsson, K.H. Larsson, J.D. Lawray, O. Miettinen, L.G. Nagy, R.H. Nilsson, M. Weiss and R.G. Thorn, 2014. Agaromycetes. In Systematics and Evolution, 2<sup>nd</sup> Edition, The Mycota VII Part A. D.J. McLaughlin and J.W. Spatafora (Eds). Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 373-429.
- ❖ Kalamee K., 2007. Checklist of some pleurotoid fungi (Agaricomycetidae, Basidiomycetes) of Estonia Folia Cryptog. Estonica, Fasc. 43: 13–15 (2007).

## Références bibliographiques

- ❖ Kara-Ali N. & Khendriche S., 2013. Essai d'amélioration de la germination et de la croissance de *Vigna unguiculata* (L.) Walp et *Zea mays* (L.) par un résidu de culture de champignon comestible. Mémoire de master 2 en Sciences Biologiques, spécialité Génétique et Amélioration Végétale, Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, 67p.
- ❖ Khan M., 2010. Nutritional composition and hypocholesterolemic effect of mushroom: *Pleurotus sajor-caju* and *Pleurotus Florida*: LAP Lambert Academic Publishing GmbH & Co. KG: Saarbrücken, Germany 1-11.
- ❖ Kim D. O., Chun O. K., Kim Y. J., Moon H. Y., Lee C. Y. (2003) Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. vol 51, no 22, p.6509-6515.
- ❖ Le Calvez T., 2009. Diversité et fonctions écologiques des champignons en écosystème hydrothermal marin profond. Interactions entre organismes. Thèse de doctorat de l'Université Rennes 1 ; 271p.
- ❖ Lindequist, U., T.H.J. Niedermeyer and W.D. Julich, 2005. The pharmacological potential of mushrooms: Evidence based complement. *Altern. Med.*, 2(3): 285-299.
- ❖ Magalhães L.M., Segundo M.A., Reis S. & Lima J.L., 2008. Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. *Anal Chim Acta.* ; 613 (1): 1-19.
- ❖ Mansour – Benamar M., Savoie J.-M., Chavant L., 2013. Valorization of a solid olive mill wastes by cultivation of a local strain of edible mushroom. *Comptes Rendus Biologies*, 336, 407- 415.
- ❖ Mansour-Benamar M. & Chavant L., 2010. Guide illustré de la culture d'un champignon comestible : Le pleurote en huître. Editeur : Edition El-Amel. Dépôt légal : 3911 : 2011 ISBN : 978 -9974 -30 -060 -2
- ❖ Mansour-Benamar M., Ammar-Khodja N. & Belkhit M., 2017. Valorisation du grignon d'olive par la culture d'un champignon comestible. Séminaire international « le secteur

## Références bibliographiques

oléicole : Contraintes, Enjeux et Défis » en marge du Salon international « Med Mag Oliva, Algérie, 2017 », communication orale.

❖ Mansour-Benamar M., 2016. Valorisation de résidus agricoles par la culture de deux souches de champignon comestible du genre *Pleurotus*. Thèse de Doctorat en Sciences Biologiques, option Biologie Végétale, Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, 229p.

❖ Mansour-Benamar M., 2016. Valorisation de résidus agricoles par la culture de deux souches de champignon comestible.

❖ Mansour-Benamar M., Savoie J.-M. & Chavant L., 2013. Valorization of a solid olive mill wastes by cultivation of a local strain of edible mushroom. *Comptes rendus biologies*, 336, 407- 415.

❖ Mansour-Benamar M., Savoie J.-M., Chavant L. & Lebsir R. (2007). Valorisation du marc de café brut par la culture d'une souche locale de champignon comestible, *Pleurotus ostreatus*. *Sciences Technologies & Développement. A.N.D.R.U. (2):102 – 116.*

❖ Marchand A., 1971. Champignons du Nord et di Midi, tome I /IX, Hachette.

❖ Martínez-Carrera D., 1998). Oyster mushrooms. *McGraw-Hill Yearbook of Science & Technology 1999*. Ed.: M. D. Licker. McGraw-Hill, Inc., New York. 242-245.

❖ Molyneux P., 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*, 26(2): 211-219.

❖ Nefzaoui A., 1991. Valorisation des sous-produits de l'olivier. In Tisserand J. –L- (ed), Alibés X. (ed). *Fourrage et sous-produits méditerranées*. Zaragoza : CIHEAM,.P101-108 (Option Méditerranés : Série A. Séminaires Méditerranéens ; n.16)

❖ Ou B., Huang D., Hampsch-Woodill M., Flanagan J.A. et Deemer E.K., 2002. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance

## Références bibliographiques

capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: a comparative study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(11): 3122-3128.

- ❖ Pandey V. K. & Singh M. P., 2014. Biodegradation of wheat straw by *Pleurotus ostreatus*. *Cellular and Molecular Biology*, 60 (5): 29-34,.
- ❖ Patel Y., Naraiian R & Singh V.K., 2012. Medicinal Properties of *Pleurotus* Species (Oyster Mushroom): A Review. *World Journal of Fungal and Plant Biology* 3 (1): 01-12.
- ❖ Quideau, S., Deffieux, D., Douat-Casassus, C. & Pouységu, L., 2011. Plant polyphenols: Chemical properties, biological activities, and synthesis." *Angewandte Chemie - AInternational Edition*, 50(3): 586-621. Rampin M., 2017. Champignons "médicinaux" : de l'usage traditionnel aux compléments alimentaires. Thèse pour le diplôme d'état de Docteur en Pharmacie, Université Toulouse III - Paul Sabatier, 117p.
- ❖ Ribéreau Gayon P., Glories Y., Maujean A. & Dubourdiou D. ,1998. *Traité d'Œnologie. Tome 2. Chimie du vin : Stabilisation et traitements*. Dunod, Paris, France. 519p.
- ❖ Ribereau-Gayon P., 1968. *Les composés phénoliques des végétaux*. Ed. Dunod, Paris, 254p.
- ❖ Ribéreau-Gayou, P., 1968. Notions générales sur les composés phénoliques. In *composés phénoliques des végétaux*. Edition Dunod, Paris, PP. 105-133.
- ❖ Roncero Ramos I., 2015. Health and nutritional properties of mushrooms. Report of Technological Centre for Research on Mushroom (CTICH) to European Group of Mushroom Growers (GEPC). 63p.
- ❖ Russell. A. D., 2001. Principles of antimicrobial activity and resistance . chapitre 3.in :Block, S. S. *disinfection ,sterilization and preservation* .USA Philadelphia . Lippincott William's and Wilkins . 2001, pp. 35 56.

## Références bibliographiques

- ❖ Saar M. & Parmasto E. (2014). Primary basidiospore charge and taxonomy of Agaricomycetes. Cent. Eur. J. Biol. 9(9) : 874-887.
  
- ❖ 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.
  
- ❖ Seyoum A., Asres K. & El-Fiky F.K., 2006). Structure–radical scavenging activity relationships of flavonoids. Phytochemistry. 67: 2058–2070.
  
- ❖ Singh V., Pandey R. & Vyas D., 2015. Antioxidant potentiality of *Pleurotus ostreatus* (MTCC142) cultivated on different agro wastes. Asian Journal of Plant Science and Research, 2015, 5(6): 22-27. Tawaha, K., Alali. F. Q., Gharaibeh. M. M., El-elimat. M. T., 2007. Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. Food chemistry, . 104 (4) : 1372-1378.
  
- ❖ Wong F.C, Chai T.T, Tan S.L, Yong A.L. 2013. Evaluation of Bioactives and Phenolic Content of Selected Edible Mushrooms in Malaysia. Tropical Journal of Pharmaceutical Research. Vol. 12, no6, p.1011-1016.
  
- ❖ Wong S.P., Leong L.P. & Koh J.H.W. (2006). Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. Food chemistry, 99 (4): 775-783.
  
- ❖ Xu G-H, Ryoo I-J, Kim Y-H, Choo S-J & Yoo I-D., 2009. Free radical scavenging and antielastase activities of flavonoids from the fruits of *Thuja orientalis*. Arch Pharm Res., 32(2) : 275-82.
  
- ❖ Yildiz, A., & Demir, R. (1998). The effect of some plant materials on the growth and productivity of *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex. Fr.) Kum. var. *salignus* (Pers. ex. Fr.) Konr. et Maubl. Turkish Journal of Biology, 22(1), p. 67-74.
  
- ❖ Yilmaz A., Yıldız S., Tabbouche S. , Kılıç A.O. & Can Z., 2016. total phenolic content, antioxidant and antimicrobial properties of *Pleurotus ostreatus* grown on lime (*tilia tomentosa*) leaves. Hacettepe J. Biol. & Chem., 44 (2): 119–124.

## Références bibliographiques

- ❖ Zeitoun R., 2011. Procédés de fractionnement de la matière végétale. Application à la production des polysaccharides du son et de la paille de blé. Thèse de Doctorat de l'Université Toulouse (France), Institut Nationale polytechnique de Toulouse, Science des Agro-ressources, 288p.
  
- ❖ Zhang W.R., Liu S.R., Zhao Z.X. , Kuang Y.B., Dong X.F. and & Ruan J.F., 201x. Effects of extracts of spent mushroom substrates on growth of edible fungi. *Int. J. Agric. Biol.*, 00: 000–000.
  
- ❖ Zjawiony J.K. (2004). Biologically active compounds from Aphylophorales (polypore) fungi. *Journal of Natural Products*, 67(2): 300-310.

### Sites web

1. [http://bioweb.uwlax.edu/bio203/2011/woller\\_ryan/medicinal\\_use.htm](http://bioweb.uwlax.edu/bio203/2011/woller_ryan/medicinal_use.htm)
2. <https://pretapousser.fr/magazine/pleurote-proprietes-bienfaits-recettes>
3. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. In: *Springerlink.com*. 2002. [Consulté le 18 mai 2007]. [www.springerlink.com](http://www.springerlink.com)

**Résumé :** Le but de cette étude est d'évaluer les propriétés antioxydantes et antibactériennes du résidu de culture d'une souche locale du champignon comestible *Pleurotus ostreatus* (POL) comparativement au substrat de culture. POL a été cultivé sur un substrat formé d'un mélange de grignon d'olives (44%), marc de café (44%), paille de blé (10%) (Humides) et de carbonate de calcium (2%). Le résidu de culture de POL est formé par un reste de substrat mélangé à un reste de mycélium. Une certaine quantité de substrat avant culture de POL et une certaine quantité du résidu de culture de POL, après récolte des carpophores formés, ont été séchées puis broyées. A partir de ces poudres, des extraits aqueux ont été préparés puis lyophilisés. Le dosage des polyphénols totaux (PPT) par la méthode du Folin-Ciocalteu a révélé que le résidu de culture de POL a été enrichi en PTT avec une valeur de  $2,774 \pm 0,008$  mg EAG/g MS *versus*  $1,184 \pm 0,013$  mg EAG/g MS dans le substrat. La teneur des flavonoïdes totaux (FT), estimée à l'aide de la méthode de  $AlCl_3$ , a révélé un appauvrissement du résidu de culture en flavonoïdes comparativement au substrat ( $52,931 \pm 7,260$   $\mu$ g EQ/g MS *versus*  $253,871 \pm 1,069$  mg EAG/g MS). L'activité antioxydante a été mesurée à l'aide du test de piégeage du DPPH. Il a révélé que l'activité antioxydante dans les extraits aqueux du résidu de culture est très faible par rapport à celle du substrat (pourcentage de piégeage du DPPH de  $19,480 \pm 0,771$  *versus*  $90,990 \pm 0,210$ ). L'application du test t de Student aux moyennes obtenues pour chaque analyse a révélé des différences hautement significatives au risque  $\alpha=5\%$ . Les tests microbiologiques ont révélé une absence d'activité antibactérienne (contre *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* *Staphylococcus aureus*) dans les deux extraits aqueux.

**Mots clés :** résidu de culture de *Pleurotus ostreatus* local - substrat de culture – polyphénols totaux – flavonoïdes totaux - activité antioxydante - activité antimicrobienne.

**Abstract:** The aim of this study is to evaluate the antioxidant and antibacterial properties of culture residue of a local strain of the edible Mushroom *Pleurotus ostreatus* (LPO) compared to the culture substrate. LPO was grown on a mixture of olive pomace (44%), coffee grounds (44%), what straw (10%) (wet) and calcium carbonate (2%). Culture residue of LPO is formed by a substrate residue mixed with a mycelium rest. An amount of substrate prior to cultivation of LPO and an amount of the LPO culture residue, after harvest of the formed fruit bodies, were dried and then crushed. From these powders, aqueous extracts were prepared and then lyophilized. Total polyphenols (PPT) determined by Folin-Ciocalteu method revealed that the culture residue of LPO was enriched in PTT with a value of  $2.774 \pm 0.008$  mg EGA / g DW *versus*  $1.184 \pm 0.013$  mg EGA / g DW in the substrate. Total flavonoids (FT) were estimated using  $AlCl_3$  method and revealed a flavonoid diminution in the culture residue compared to the substrate ( $52.931 \pm 7.260$   $\mu$ g EQ / g DW *versus*  $253.871 \pm 1.069$  mg EAG / g DW). Antioxidant activity was measured using the DPPH trapping test. It revealed that the antioxidant activity in aqueous extracts of the culture residue is very low compared to that of the substrate (percentage of DPPH trapped:  $19.480 \pm 0.771$  *versus*  $90.990 \pm 0.210$ ). The application of Student's t-test to the averages obtained for each analysis revealed highly significant differences in risk  $\alpha = 5\%$ . Microbiological tests revealed a lack of antibacterial activity (against *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*) in both aqueous extracts.

**Key words:** local *Pleurotus ostreatus* culture residue - culture substrate - total polyphenols - total flavonoids - antioxidant activity - antimicrobial activity.