



**République Algérienne démocratique et populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche**  
**Scientifique**



=====

*Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen*

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de**  
**l'Univers**  
**Département de biologie**

**Mémoire**

**Présenté par :**

**ABDERRAHIM Nihad**

En vue d'obtention de Diplôme de MASTER  
en Sciences alimentaires

*Option : Sécurité agro alimentaire et assurance qualité*

*Thème :*

*Effets antioxydants des extraits de pleurotus ostreatus  
cultivé sur les déchets de transformation des olives*

**Soutenu devant le jury composé de :**

**Président :M. AZZI Nouredine** (Maître Assistant Classe A, Université de Tlemcen).

**Encadreur :M. TEFIANI Choukri** (Maître de Conférences Classe A, Université de Tlemcen).

**Examineur :M. BENYOUB Noredine** (Maître Assistant Classe A, Université de Tlemcen).

**Année universitaire : 2021/2022**

✓ *Table des matières*

*Remerciements*

*Dédicaces*

*Résumé*

*Liste des tableaux*

*Liste des figures*

*Liste des abréviations*

*Introduction*.....1

*Partie bibliographique.*

*Chapitre I : Généralités sur les champignons .*

|  |    |
|--|----|
| I.1 Définition.....  | 5  |
| I.2 Classification générale des champignons .....                    | 5  |
| I.2.1 Les « champignons-algues » ou Mastigomycota.....               | 5  |
| I.2.2 Les « vrais champignons » ou Amastigomycota ou Eumycètes ..... | 5  |
| I.2.2.1 Division des Ascomycota ou Ascomycètes.....                  | 6  |
| I.2.2.2 Division des Basidiomycota ou Basidiomycètes.....            | 6  |
| I.2.2.3 Division des Zygomycota.....                                 | 6  |
| I.3 Basidiomycètes.....  | 7  |
| I.3.1 Les Clavariées .....   | 7  |
| I.3.2 Les Polyporées .....   | 7  |
| I.3.3 Les Agaricinées.....   | 7  |
| I.3.4 Les Hydnées.....   | 8  |
| I.3.5 Les Trémellinées.....  | 8  |
| I.3.6 Les Théléphorées.....  | 9  |
| I.3.7 Les Lycoperdées.....   | 9  |
| I.3.8 LesClathrées.....  | 10 |

|  |    |
|--|----|
| I.4 Ascomycètes.....                                 | 10 |
| I.5 Mode de vie des champignons.....                 | 11 |
| I.5.1 Hyphes et nutrition.....                       | 11 |
| I.5.2 Catégories de mode de vie des champignons..... | 12 |
| I.5.2.1 Saprophytes .....                            | 12 |
| I.5.2.2 Parasites.....                               | 12 |
| I.5.2.3 Symbiotiques .....                           | 12 |
| I.6 Cycle de vie des champignons .....               | 12 |
| I.7 Anatomie des champignons.....                    | 13 |
| I.8 Pleurotus ostreatus.....                         | 14 |
| I.8.1 Origine et distribution géographique.....      | 14 |
| I.8.2 Définition et Description .....                | 14 |
| I.8.3 Classification .....                           | 16 |
| I.8.5 Composition chimique .....                     | 16 |
| I.8.6 Valeur nutritive .....                         | 16 |

## **Chapitre II : les sous produits d'olivier.**

|   |    |
|---|----|
| II.1 L'olivier.....                             | 18 |
| II.2 Taxonomie de l'olivier.....                | 19 |
| II.3 L'olive.....                               | 19 |
| II.3.1 Composition de l'olive.....              | 20 |
| II.4 L'huile d'olive.....                       | 21 |
| II.5 Les constituants de l'huile d'olive .....  | 21 |
| II.6 Extraction d'huile d'olive.....            | 22 |
| II.7 Les sous-produits de l'olivier.....        | 22 |
| II.7.1 Les grignons.....                        | 23 |
| II.7.1.1 Composition des grignons d'olives..... | 23 |

|  |    |
|--|----|
| II .7.2 Les margines .....                                   | 23 |
| II .7.2.2 Composition chimiques des margines.....            | 23 |
| II .8 Méthodes de valorisation des margines et grignons..... | 24 |

## **Partie expérimentale**

### **Chapitre III : Matériel et méthodes**

|  |    |
|--|----|
| III.1 . Matériel biologique.....                               | 27 |
| III.2. Extraction et préparation des extraits.....             | 27 |
| III.2 .1. Extraction par macération .....                      | 27 |
| III.3. Dosage de quelques métabolites secondaires.....         | 31 |
| III.3.1 Réactifs utilisés.....                                 | 31 |
| III.3.2 Dosage des polyphénols totaux.....                     | 31 |
| III.3.2 .1 Principe.....                                       | 32 |
| III.3.2.2 Préparation du réactif de Folin-ciocalteu.....       | 32 |
| III.3.2 .3 Protocole.....                                      | 32 |
| III.3.3 Dosage des flavonoïdes.....                            | 33 |
| III.3.3 .1 Principe .....                                      | 34 |
| III.3.3.2 Protocole.....                                       | 34 |
| III.3.4 Recherche de l'activité antioxydante des extraits..... | 35 |
| III.3.4.1 L'activité anti radicalaire par DPPH.....            | 35 |
| III.3.4.2 Principe .....                                       | 36 |
| III.3.4.3 Préparation de la solution DPPH .....                | 36 |
| III.3.4.4 Protocole.....                                       | 36 |

### **Chapitre IV : Résultats et discussion**

|   |    |
|---|----|
| IV.1 Rendement d'extraction.....        | 39 |
| IV.2 Dosage des polyphénols totaux..... | 39 |
| IV.3 Dosage des flavonoïdes.....        | 44 |

|                                  |    |
|----------------------------------|----|
| IV.4 Activité antioxydante.....  | 48 |
| Conclusion .....                 | 60 |
| Références bibliographiques..... | 62 |

## Remerciements

*Avant toute chose, je remercie Allah, le tout puissant, pour m'avoir donné la force, la santé, la patience, les moyens et le courage, afin de pouvoir réaliser ce travail. Toujours en lui j'ai mis toute ma confiance et ne m'a jamais déçu.*

*Je voudrais tout d'abord adresser toute ma gratitude à mon encadreur **Mr Tefiani Choukri**, pour tous les conseils et orientations qu'il m'a donnés pour assurer le succès de ce travail.*

*Merci infiniment.*

*Je remercie également les membres du jury.*

*Mes remerciements vont également à Mademoiselle Lamraoui.G pour sa disponibilité et son aide.*

*A Mr Ferouani Miloud ingénieur de laboratoire de biochimie ,département de biologie .*

*Je n'oublie pas non plus à la fin d'adresse mes sincères remerciements à tous ceux qui ont aidé de près ou de loin.*

## Dédicaces

*A mes très chers parents ma mère et mon père ,  
source de vie, d'affection, de motivation et de  
bonheur.*

*Ils m'ont toujours encouragé, conseillé, aidé, pour  
que je réussisse dans mes études.*

*A mes Soeurs Sanaa et Ikram*

*A ceux qui m'aiment, qui font partis de ma vie.*

## Résumé

*Pleurotus ostreatus* est un champignon comestible du genre *Pleurotus* de la famille des *Pleurotaceae*, appartenant aux Basidiomycètes. Aujourd'hui il est cultivé sur divers résidus agricoles et agro-industriels. Le dosage des polyphénols totaux (PPT) par la méthode du Folin-Ciocalteu des extraits obtenus par une macération hydrométhanoliques de La poudre des échantillons de *Pleurotus ostreatus* ayant poussé sur trois substrats, mélange de grignon d'olive a différents pourcentage avec la paille, mélange des noix d'olive a différents pourcentage avec la paille et des champignons cultivés uniquement sur la paille de blé, a révélé que le résidu de culture de grignon d'olive a différents pourcentage avec la paille a été enrichi en PPT en premier le 25% (22,44 mg EAG/g MS) suivi par le 50% (17,77 mg EAG/g MS) et 75% (12,69 mg EAG/g MS). La teneur des flavonoïdes totaux (FT), estimée à l'aide de la méthode de AlCl<sub>3</sub> montre que la 2<sup>ème</sup> récolte de champignon cultivé sur mélange des noix d'olive a différents pourcentage avec la paille représente le meilleur teneur en flavonoides avec une augmentation de la fraction de noix par rapport à celle de la paille. L'activité antioxydante a été mesurée à l'aide du test de piégeage du DPPH, le potentiel antioxydant le plus important est celui du noix d'olive à la concentration de 100% et qui a donné une IC<sub>50</sub> de 0,04 mg/ml.

**Mots clés :** *Pleurotus ostreatus*, substrats de culture, polyphénols totaux, flavonoïdes totaux , activité antioxydante.

## Summary

*Pleurotus ostreatus* is an edible mushroom of the genus *Pleurotus* of the family Pleurotaceae, belonging to the Basidiomycetes. Today it is grown on various agricultural and agro-industrial residues. The determination of total polyphenols (PPT) by the Folin-Ciocalteu method of extracts obtained by hydromethanolic maceration of the powder of *Pleurotus ostreatus* samples having grown on three substrates, mixture of olive pomace at different percentages with straw, mixture of olive nuts at different percentages with straw and mushrooms grown only on wheat straw, revealed that the olive pomace culture residue has different percentage with the straw was enriched in TP first the 25% (22.44 mg EAG/g DM) followed by the 50% (17.77 mg EAG/ g DM) and 75% (12.69 mg EAG/g DM). The content of total flavonoids (TF), estimated using the AlCl<sub>3</sub> method shows that the 2nd harvest of mushroom grown on a mixture of olive nuts has different percentages with the straw represents the best content of flavonoids with an increase of the fraction of nuts compared to that of straw. The antioxidant activity was measured using the DPPH trapping test, the most important antioxidant potential is that of olive nut at a concentration of 100% and which gave an IC<sub>50</sub> of 0.04 mg / ml .

**Key words:** *Pleurotus ostreatus*, culture substrates, total polyphenols, total flavonoids, antioxidant activity.

## المخلص

*Pleurotus ostreatus* هو فطر صالح للأكل من عائلة Pleurotaceae ، وينتمي إلى Basidiomycetes. اليوم يزرع على مختلف المخلفات الصناعية الزراعية.

تحديد البوليفينول الكلي (PPT) بواسطة طريقة Folin-Ciocalteu للمستخلصات التي تم الحصول عليها عن طريق الاستخلاص المائي لمسحوق عينات *Pleurotus ostreatus* بعد أن نمت على ثلاث ركائز ، خليط من ثفل الزيتون له نسب مختلفة مع القش ، خليط من نواة الزيتون بنسب مختلفة مع القش والفطر المزروع فقط على قش القمح ، أظهر أن بقايا زراعة ثفل الزيتون لها نسبة مختلفة مع القش تم إثرائه في PPT أولاً بنسبة 25٪ (22.44 مغ / EAG / غ MS) تليها 50٪ (17.77 مغ / EAG / غ MS) و 75٪ (12.69 مغ / EAG / غ MS).

يوضح محتوى الفلافونويد الكلي (FT) ، المقدر باستخدام طريقة AICI3 ، أن الحصاد الثاني للفطر المزروع على خليط من نواة الزيتون له نسب مختلفة مع القش يمثل أفضل محتوى من مركبات الفلافونويد مع زيادة النسبة مقارنة مع القش.

تم قياس النشاط المضاد للأكسدة باستخدام DPPH ، وأهم مضادات الأكسدة المحتملة هي تلك الموجودة في نواة الزيتون بتركيز 100٪ والتي أعطت IC50 ، 0.04 مغ / مل.

**الكلمات المفتاحية:** *Pleurotus ostreatus* ، ركائز الزراعة ، مجموع البوليفينول ، مجموع الفلافونويد النشاط المضاد للأكسدة.

## Liste des tableaux

|  |    |
|--|----|
| <b>Tableau 1 :</b> Composition chimique de <i>P. ostreatus</i> .....   | 16 |
| <b>Tableau 2 :</b> Production mondiale d'huile d'olive.....  | 21 |
| <b>Tableau 3:</b> Les principaux constituants de l'huile d'olive.....  | 21 |
| <b>Tableau 4:</b> La composition des grignons d'olives.....  | 23 |
| <b>Tableau 5 :</b> Composition chimiques des margines.....   | 23 |
| <b>Tableau 6 :</b> Dosage des polyphénols totaux.....  | 33 |
| <b>Tableau 7:</b> Dosage des flavonoïdes.....  | 35 |
| <b>Tableau 8 :</b> Rendement (en %) des extraits des champignons cultivé sur différents mélange de grignon d'olive avec la paille.....   | 39 |
| <b>Tableau 9 :</b> Rendement (en %) des extraits des champignons cultivé sur différents mélange de noix d'olive avec la paille.....      | 39 |
| <b>Tableau 10 :</b> Rendement ( en %) des extraits des champignons cultivé sur la paille.....  | 39 |
| <b>Tableau 11 :</b> Teneur en PPT des champignons cultivé sur différents mélange de grignon d'olive avec la paille (en mg EAG/g MS)..... | 40 |
| <b>Tableau 12 :</b> Teneur en PPT des champignons cultivé sur différents mélange de noix d'olive avec la paille (mg EAG/g MS).....       | 41 |
| <b>Tableau 13 :</b> Teneur en PPT des champignons cultivé sur la paille (mg EAG/g MS).....   | 41 |
| <b>Tableau 14 :</b> Teneur en FT des champignons cultivé sur différents mélange de grignon d'olive avec la paille (mg EC/g MS).....      | 45 |
| <b>Tableau 15 :</b> Teneur en FT des champignons cultivé sur différents mélange de noix d'olive avec la paille (mg EC/g MS).....         | 45 |
| <b>Tableau 16 :</b> Teneur en FT des champignons cultivé sur la paille ( $\mu$ g EC/g MS).....   | 45 |

## Liste des figures

|  |    |
|--|----|
| <b>Figure 1</b> : Les Clavariées.....  | 7  |
| <b>Figure 2</b> : Les Polyporées.....  | 7  |
| <b>Figure 3</b> : Les Agaricinées.....   | 8  |
| <b>Figure 4</b> : Les Hydnées.....   | 8  |
| <b>Figure 5</b> : Les Trémellinées.....  | 8  |
| <b>Figure 6</b> : Les trois types de Théléporées.....  | 9  |
| <b>Figure 7</b> : Lycoperdées.....   | 10 |
| <b>Figure 8</b> : deux Clathrées.....  | 10 |
| <b>Figure 9</b> : Cycle de reproduction des Ascomycètes.....                                   | 11 |
| <b>Figure 10</b> : Les hyphes.....   | 11 |
| <b>Figure 11</b> : Cycle de vie des champignons en milieu naturel.....                         | 13 |
| <b>Figure 12</b> : Les différentes des parties d'un champignon.....                            | 14 |
| <b>Figure 13</b> : <i>Pleurotus ostreatus</i> .....  | 15 |
| <b>Figure 14</b> : Aspect morphologique d'un olivier cultivé.....                              | 18 |
| <b>Figure 15</b> : Aspect morphologique d'un fruit d'olivier.....                              | 20 |
| <b>Figure 16</b> : Composition de l'olive.....   | 20 |
| <b>Figure 17</b> : Schéma technologique de production d'huile d'olives.....                    | 22 |
| <b>Figure 18</b> : Filières de valorisation des grignons d'olives.....                         | 24 |
| <b>Figure 19</b> : Poudre de champignon <i>Pleurotus ostreatus</i> .....                       | 27 |
| <b>Figure 20</b> : Préparation du mélange poudre de champignon et solvants méthanol / eau..... | 28 |
| <b>Figure 21</b> : Filtration du mélange.....  | 29 |
| <b>Figure 22</b> : Evaporation du méthanol du filtrat à l'aide d'un rotavapor.....             | 30 |
| <b>Figure 23</b> : Récupération des extraits après évaporation.....                            | 30 |
| <b>Figure 24</b> : Structure de base des polyphénols.....                                      | 31 |

|   |    |
|---|----|
| <b>Figure 25</b> : Structure de base des flavonoïdes.....   | 34 |
| <b>Figure 26</b> : Structure de DPPH libre et sa forme réduite.....   | 35 |
| <b>Figure 27</b> : Solution DPPH.....   | 36 |
| <b>Figure 28</b> : Changement de couleur du mélange DPPH et extrait après incubation à température ambiante du laboratoire.....   | 37 |
| <b>Figure 29</b> Courbe étalon de l'acide gallique.....   | 40 |
| <b>Figure 30</b> : Teneur en PPT des champignons cultivé sur différents mélange de grignon d'olive avec la paille (mg EAG/g MS).....  | 41 |
| <b>Figure 31</b> : Teneur en PPT des champignons cultivé sur différents mélange de noix d'olive avec la paille (mg EAG/g MS).....   | 42 |
| <b>Figure 32</b> : Teneur en PPT des champignons cultivé sur la paille (mg EAG/g MS).....   | 42 |
| <b>Figure 33</b> : Courbe d'étalonnage de la catéchine.....   | 44 |
| <b>Figure 34</b> : Teneur en FT des champignons cultivé sur différents mélange de grignon d'olive avec la paille (mg EC/g MS).....  | 46 |
| <b>Figure 35</b> : Teneur en FT des champignons cultivé sur différents mélange de noix d'olive avec la paille (mg EC/g MS).....   | 46 |
| <b>Figure 36</b> : Teneur en FT des champignons cultivé sur la paille (mg EC/g MS).....   | 47 |
| <b>Figure 37</b> : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique.....   | 48 |
| <b>Figure 38</b> : Pourcentage d'inhibition du DPPH par l'extrait de la 1 <sup>ère</sup> récolte de <i>Pleurotus ostreatus</i> cultivé sur un mélange de grignon d'olive et de la paille..... | 49 |
| <b>Figure 39</b> : Valeurs des IC <sub>50</sub> de la première récolte de <i>P. ostreatus</i> cultivé sur des mélanges de grignon d'olive à différents pourcentage.....                       | 50 |
| <b>Figure 40</b> : Pourcentage d'inhibition du DPPH par l'extrait de la 2 <sup>ème</sup> récolte de <i>Pleurotus ostreatus</i> cultivé sur mélange de grignon d'olive et de la paille.....    | 50 |
| <b>Figure 41</b> : Valeurs d'IC <sub>50</sub> de la 2 <sup>ème</sup> récolte de <i>P. ostreatus</i> cultivé sur des mélanges de grignon d'olives à différents pourcentages.....               | 51 |
| <b>Figure 42</b> : Pourcentage d'inhibition du DPPH par l'extrait de la 3 <sup>ème</sup> récolte de <i>Pleurotus ostreatus</i> cultivé sur mélange de grignon d'olive et de la paille.....    | 52 |

|  |    |
|--|----|
| <b>Figure 43 :</b> Valeurs des IC <sub>50</sub> de la 3 <sup>ème</sup> récolte de <i>P. ostreatus</i> cultivé sur des mélanges de grignon d'olive à différents pourcentage.....                    | 52 |
| <b>Figure 44 :</b> Pourcentage d'inhibition du DPPH par l'extrait de la 1 <sup>ère</sup> récolte de <i>Pleurotus ostreatus</i> cultivé sur mélange de noix d'olive et de la paille.....            | 53 |
| <b>Figure 45 :</b> Valeurs des IC <sub>50</sub> de la première récolte de <i>P. ostreatus</i> cultivé sur des mélanges des noix d'olive à différents pourcentage.....                              | 54 |
| <b>Figure 46 :</b> Pourcentage d'inhibition du DPPH par l'extrait de la 2 <sup>ème</sup> récolte de <i>Pleurotus ostreatus</i> cultivé sur mélange de noix d'olive et de la paille.....            | 55 |
| <b>Figure 47 :</b> Valeurs des IC <sub>50</sub> de la 2 <sup>ème</sup> récolte de <i>P. ostreatus</i> cultivé sur des mélanges des noix d'olive à différents pourcentage.....                      | 55 |
| <b>Figure 48 :</b> Pourcentage d'inhibition du DPPH par les extraits a 1 <sup>ère</sup> , 2 <sup>ème</sup> et 3 <sup>ème</sup> récolte de <i>Pleurotus ostreatus</i> cultivé sur de la paille..... | 56 |
| <b>Figure 49 :</b> Valeurs des IC <sub>50</sub> des trois récoltes des <i>P. ostreatus</i> cultivé sur de la paille.....   | 57 |

## Liste des abréviations

**Nm** : nanomètre.

**%** : Pourcentage.

**C°** : Degré Celsius.

**mg** : Milligramme.

**µg** : microgramme.

**ml**: Millilitre.

**µl** : Microlitre.

**P. ostreatus** :Pleurotus ostreatus.

**PPT** : Polyphénols totaux.

**Flv** : Flavonoïdes.

**ED** : Eau distillée.

[ ] :Concentration.

**t** : Temps.

**min** : Minute.

**RFC** : réactif de Folin-ciocalteu.

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

**AlCl<sub>3</sub>** : Chlorure d'aluminium.

**NaOH** : Hydroxyde de sodium.

**NaNO<sub>2</sub>** : Nitrite de sodium.

**DPPH°** : (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl).

**µg EAG/g MS** : microgramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche.

**µg EC/g MS** : microgramme d'équivalent de cathéchine par gramme de matière sèche.

**IC<sub>50</sub>** : Concentration permettant d'inhiber 50% du radical DPPH.

✓ *Introduction*

## Introduction

Les champignons sont présents partout, on les aperçoit sur les pelouses, dans les champs, sur les arbres ou au sol en forêt, bien qu'omniprésents dans la nature, ils sont encore méconnus malgré qu'il existe environ 105 millions d'espèces de champignons (**knudsen et petersen, 2005**).

Les champignons sont métaboliquement hétérotrophes, ils utilisent différents modes de vie dont on cite celui saprophytes, parasites ou symbiotique. Les champignons supérieurs sont divisés en deux groupes : les ascomycètes et les basidiomycètes, il existe 45 000 espèces d'ascomycètes et 22 000 espèces de basidiomycètes. (**Thaug, 2007 ; Raven et al., 2011**).

Les champignons font partie intégrante de l'alimentation humaine et sont considérés comme un aliment fonctionnel. Parmi les diverses espèces comestibles il y a *Pleurotus ostreatus* (pleurotes) qui occupe une importante place dans la production, ces derniers temps, les quantités de consommation ont augmenté massivement (**Cheung, 2008**).

Le genre *Pleurotus* comprend environ 40 espèces qui sont communément appelées "Pleurotes". *Pleurotus ostreatus* est populairement consommé par tout le monde en raison de leurs hautes valeurs nutritionnelles, de leur goût, de leur saveur et de leurs propriétés médicales (**Deepalakshmi et Mirunalini, 2014**).

*Pleurotus ostreatus* est le deuxième champignon comestible le plus cultivé dans le monde après *Agaricus bisporus*. Il a des valeurs économiques, écologiques et propriétés médicinales assez intéressantes (**Pathak et al., 2009**).

Les champignons du genre *Pleurotus* on les trouve naturellement dans les forêts subtropicales et tropicales et peuvent être cultivées artificiellement. Ils ont une faible teneur en matières grasses et une teneur élevée en vitamines et en protéines (**Maziero et al., 1992**).

Selon **Deepalakshmi et Sankaran, (2014)**, *Pleurotus ostreatus* exerce plusieurs effets bénéfiques dont parmi un effet antioxydant, antibactérien, antivirales, antidiabétiques, anticholestérol, anticancéreux et antiarthritique.

D'un autre, l'extraction d'huile d'olive est associée à la production de deux sous-produits (les margines et les grignons d'olives, ces derniers sont composés de pulpes et de noyaux du fruit, donc c'est un produit riche en carbone et en matière organique facilement dégradable en plus leur teneur en polyphénols est très élevée par contre ils d'olives posent de sérieux problèmes environnementaux (**Nafzaoui et Zidani, 1988**). C'est pour cette raison qu'il fallait chercher une solution à ce problème et parmi les solutions proposés était d'utiliser

ce grignon d'olive dans la culture de champignons et de voir l'intérêt qu'il peut apporter aux consommateurs.

Ce mémoire est composé de deux parties :

- Une synthèse bibliographique présentée dans le chapitre I qui traite des généralités sur les champignons et le deuxième chapitre traite les sous produits d'olivier.

- Une partie expérimentale divisée en deux chapitres numéroté III et IV

- Dans le chapitre III , j'ai présenté le matériel et les méthodes d'étude utilisées pour le dosage de quelques métabolites secondaires et pour rechercher l'activités antioxydante des extraits par le test DPPH de *Pleurotus ostreatus* cultivée auparavant sur différents résidus agricoles à savoir le grignon d'olive (résidu de l'extraction d'huile d'olive), les noix d'olive (résidu de dénoyautage des olives) en plus de la paille de blé (résidu de la récolte de grain de blé) et qui est utilisé habituellement dans la culture des champignons.

- Dans le chapitre IV les résultats obtenus sont discutés et comparés avec les résultats d'autres chercheurs.
- Pour terminer une conclusion a été mise.

✓ *Partie bibliographique*

✓ *Chapitre I : Généralités sur les champignons*

## **Chapitre I** : Généralités sur les champignons

### **I.1 Définition**

Les champignons représentent l'un des plus importants groupes d'organismes sur terre et jouent un rôle clé dans un grand nombre d'écosystèmes, se sont des organismes unicellulaires ou pluricellulaires dont les cellules possèdent un noyau (eucaryote). Leur paroi cellulaire contient typiquement de la chitine et du glucan et ils peuvent se reproduire de façon sexuée et/ou asexuée (**Mueller et Schmit, 2007**).

Les champignons sont des hétérotrophes utilisent le carbone organique comme source de carbone; dans la nature, on peut trouver des macrochampignons avec un corps de fructification distinctif, qui peut être épigé ou hypogé et suffisamment grand pour être vue à l'œil nu et pour être cueillie à la main (**Cheung, 2008**).

Leur mode de nutrition se fait par absorption en libérant dans un premier temps des enzymes hydrolytiques dans le milieu extérieur. Ces organismes sont dépourvus de chlorophylle et sont tous hétérotrophes (**Carlile et Watkinson, 1989**).

Les spores produites peuvent avoir un rôle dans la dispersion des champignons, mais peuvent également jouer un rôle dans la survie de l'organisme lorsque les conditions environnementales deviennent défavorables (**Madelin, 1994**).

### **I.2 Classification générale des champignons**

#### **I.2.1 Les « champignons-algues » ou Mastigomycota**

Espèces à thalle coenocytique (ou siphonné), spores bi-flagellées (reproduction aquatique impérative), cellules non séparées par des cloisons. Cette division correspond aux Oomycètes et comprend certaines espèces de grande importance économique, dans le domaine phytopathologique (**Courtecuisse et Duhem, 2000**).

#### **I.2.2 Les « vrais champignons » ou Amastigomycota ou Eumycètes**

Selon **Bouchet et al. (2005)**, les vrais champignons comprennent trois divisions :

##### **I.2.2.1 Division des Ascomycota ou Ascomycètes**

Espèces à thalle cloisonné et produisant des spores de reproduction sexuée à l'intérieur de la cellule fertile nommée asque. Les Ascomycètes colonisent tous les milieux. Ils sont parasites, saprophytes ou symbiotiques. Cette division comprend de nombreuses espèces microscopiques (Micromycètes) parmi lesquels on trouve les *Penicillium*, les *Aspergillus* et les levures, l'Ergot de seigle et également quelques "gros" champignons (Macromycètes) parmi ces derniers, on peut citer les Truffes et les Morilles c'est-à-dire des espèces très différentes par

leur forme, leur taille et leur mode de vie, il existe 45 000 espèces d'ascomycètes, et environ 75 % d'entre elles sont connues.

### **I.2.2.2 Division des Basidiomycota ou Basidiomycètes**

Les Basidiomycètes (Basidiomycota) sont des espèces à thalle cloisonné produisant leurs méiospores (spores issues d'une reproduction de type sexué) à l'extérieur de la cellule fertile, nommée baside (car cette dernière est située à la base des méiospores généralement regroupées par 4).

### **I.2.2.3 Division des Zygomycota**

Espèces à thalle coenocytique, cellules non séparées par des cloisons (de nombreux noyaux cohabitent dans un même siphon), spores non flagellées. Ces espèces sont de taille microscopique. On distingue :

#### **a. Les Entomophthorales**

Ils produisent des spores « exogènes ». En effet, une fois mûres, ces cellules sont projetées à l'extérieur du sporocyste. Quelques espèces seulement sont saprophytes. Ex : Entomophthora, Entomophaga, Pandora.

Sont des parasites d'animaux ou de plantes, parfois agents de la lutte biologique contre des insectes réputés nuisibles (phytophages, vecteurs de maladies parasitaires, etc).

#### **b. Les Mucorales**

Ils produisent des spores immobiles à l'intérieur des sporocystes, ces spores « internes » sont qualifiées de « sporocystospores ». Les Mucorales sont principalement rencontrés sur les aliments détériorés. Les genres représentant sont Mucor, Rhizopus et Alternaria.

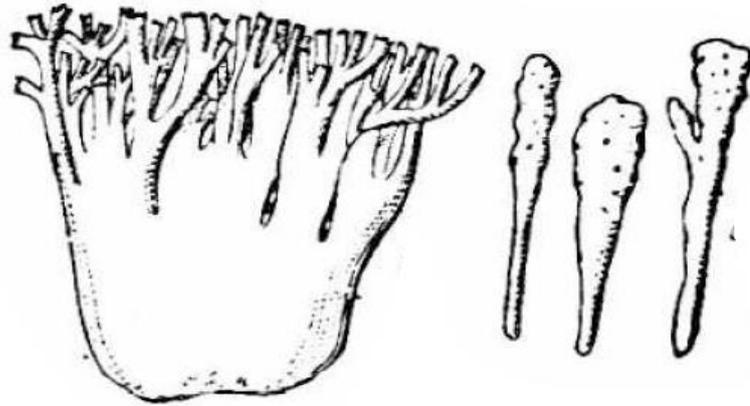
Des auxiliaires de l'industrie pharmaceutique ou chimique, phytopathogènes et parfois parasites de l'homme (agents de zygomycoses).

## **I .3 Basidiomycètes**

Selon **Constantin (1941)** les Basidiomycètes comprennent huit familles.

### **I .3.1 Les Clavariées**

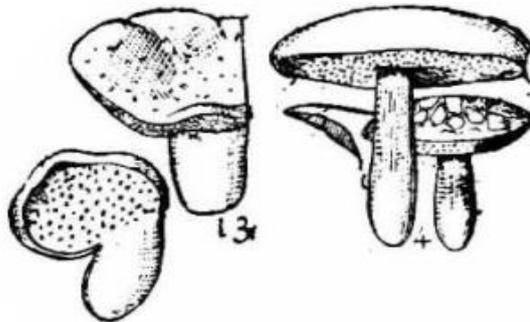
Les clavariées ont la forme soit d'un petit arbre ramifié, d'une colonne, soit d'une massue (figure 1).



**Figure1 :**Les Clavariées (Constantin ,1941).

### **I .3.2 Les Polyporées**

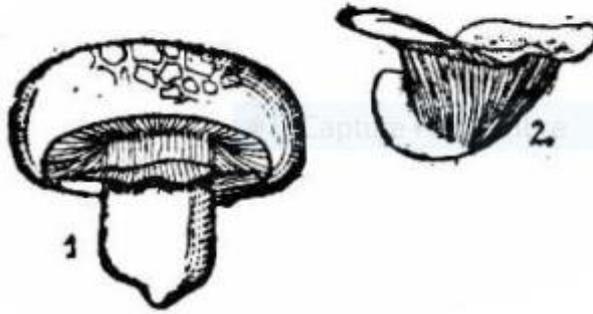
Les polyporées sont caractérisées par l'existence de petits pores ou trous à la face inférieure du chapeau, ces trous sont les orifices de tubes, ce sont ces tubes qui portent les spores (figure 2).



**Figure2 :**Les Polyporées (Constantin ,1941).

### **I .3.3 Les Agaricinées**

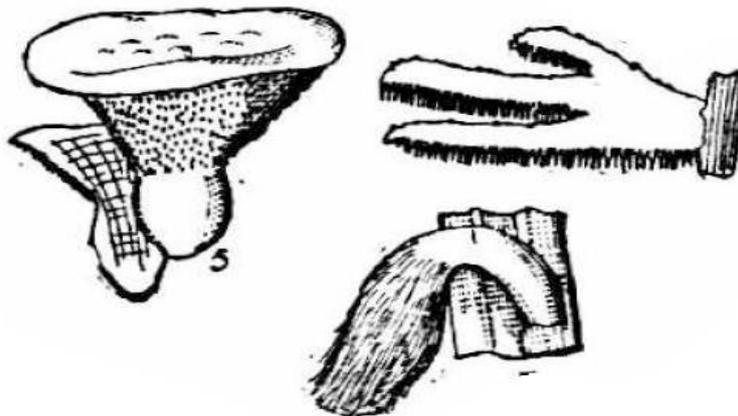
Les agaricinées sont caractérisées par l'existence de lames à la face inférieure du chapeau, ces feuillets rayonnent d'ordinaire autour du pied, le pied peut être quelquefois de côté (figure 3).



**Figure 3 :** Les Agaricinées (Constantin ,1941).

### I .3.4 Les Hydnées

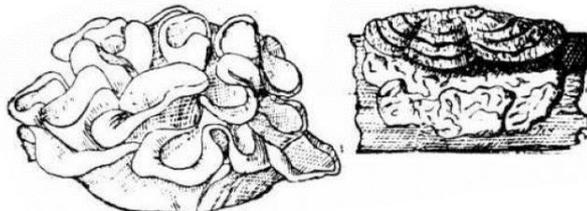
Les hydneés possèdent de petits aiguillons sous un chapeau ou des lanières (pointues à l'extrémité) ou d'un arbuscule ramifié. Les aiguillons ou les lanières sont les parties fructifères chargées de spores (figure 4).



**Figure 4 :** Les Hydnées (Constantin ,1941).

### I .3.5 Les Trémellinées

Les trémellinées sont des champignons tremblotants, gélatineux.

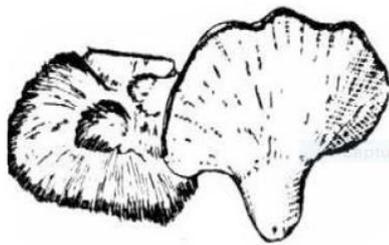


**Figure 5 :** Les Trémellinées (Constantin ,1941).

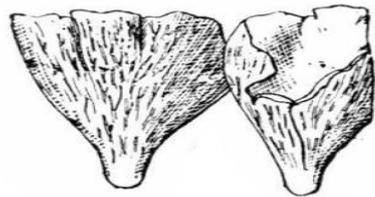
### I .3.6 Les Théléphorées

Les spores naissent à la face inférieure d'un chapeau, sur une surface à peu près lisse ou du moins ne présentant ni feuillettes, ni aiguillons ni tubes (figure 6). Les théléphorés possèdent plusieurs formes dont parmi :

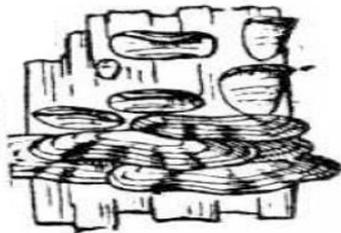
- Toupie.
- croûtes fixées en partie sur du bois.
- lames étalées sur la terre.
- corne d'abondance.



→ Théléphorées de forme de lames étalées sur la terre .



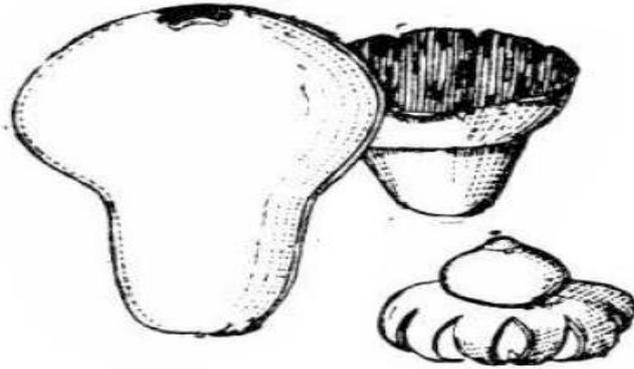
→ croûtes fixées en partie sur du bois .



**Figure 6 :** Les trois types de Théléphorées (Constantin ,1941).

### I .3.7 Les Lycoperdées

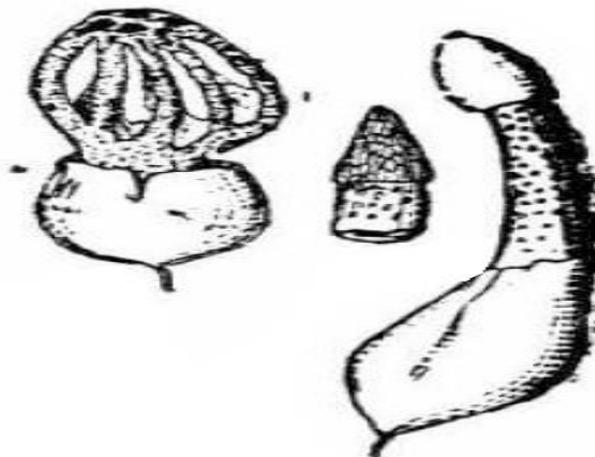
Les lycoperdées ont des spores qui restent très longtemps emprisonnées dans une enveloppe sèche. Cette enveloppe il a de la poussière sporifère (Figure 7).



**Figure 7 :** Lycoperdées (Constantin ,1941).

### I .3.8 Les Clathrées

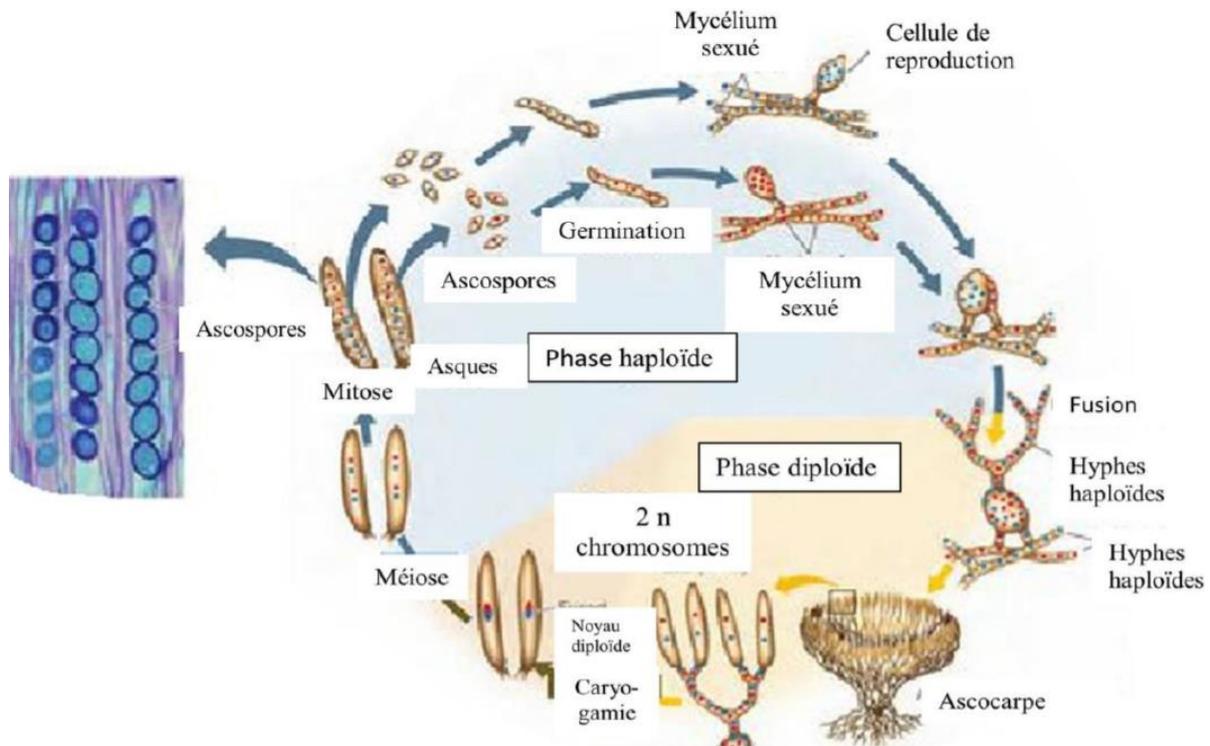
Les clathrées ont le pied entouré d'un volve ou étui. De cet étui sort soit un réseau ou une colonne surmontée d'une tête (Figure 8).



**Figure 8 :** deux Clathrées (Constantin ,1941).

### I .4 Ascomycètes

Les Ascomycètes constituent la division la plus importante, au sein du règne Fungi. Ce sont des champignons à mycéliums qui produisent des ascospores endogènes. Il ya environ 64 000 espèces. Ils peuvent être unicellulaires et thallophytes. Selon **Lutzoni et al. (2004)**, la reproduction peut être soit asexuée, par spores exogènes (conidies ou conidiospores) ou sexuée, par spore endogène (ascospores) (figure 9).

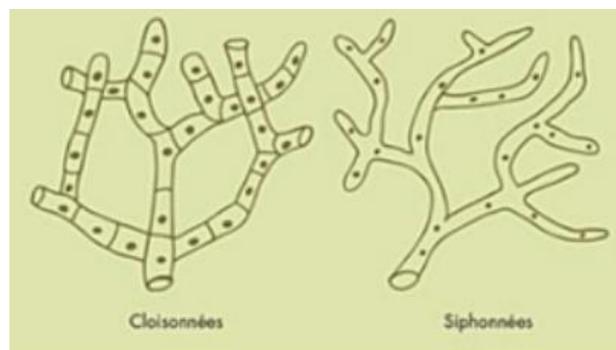


**Figure 9 :** Cycle de reproduction des Ascomycètes (Raven *et al.*, 2011)

## I.5 Mode de vie des champignons

### I.5.1 Hyphes et nutrition

L'organisation cellulaire de base des champignons est le thalle qui constitue l'appareil végétatif, se caractérise par une grande variété de structures, qui vont d'une forme unicellulaire à la plus fréquente, une forme filamenteuse, pouvant présenter un degré considérable de différenciations. L'ensemble des filaments ou hyphes (figure 10) est appelé mycélium (Christian, 2018).



**Figure 10 :** Les hyphes (Després, 2012)

### **I .5.2 Catégories de mode de vie des champignons**

La grande majorité des champignons microscopiques vivent aux dépens de la matière organique en décomposition car n'ayant pas de photosynthèse pour extraire le carbone et l'azote de l'air, ils les puisent dans les matières organiques. Les champignons sont des organismes hétérotrophes dont la nutrition carbonée est dépendante de la présence de matières organiques préformées ce qui conditionne, suivant les circonstances, leur vie symbiotiques, parasitaire ou saprophytique (**Ducomet, 1907**).

On distingue trois catégories de mode de vie des champignons :

#### **I .5.2.1 Saprophytes**

Les champignons saprophytes prélèvent leurs nutriments à partir de matières organiques en décomposition. Ils sont très importants en tant que décomposeurs et recycleurs de matières mortes car ils exploitent la matière organique déjà morte. Leur rôle dans la nature consiste à décomposer les structures organiques complexes issues d'animaux ou de végétaux et à les faire rejoindre les minéraux et les autres substances nutritives présentes dans le substrat (**Oei et Nieuwenhuijzen , 2005**) .

#### **I .5.2.2 Parasites**

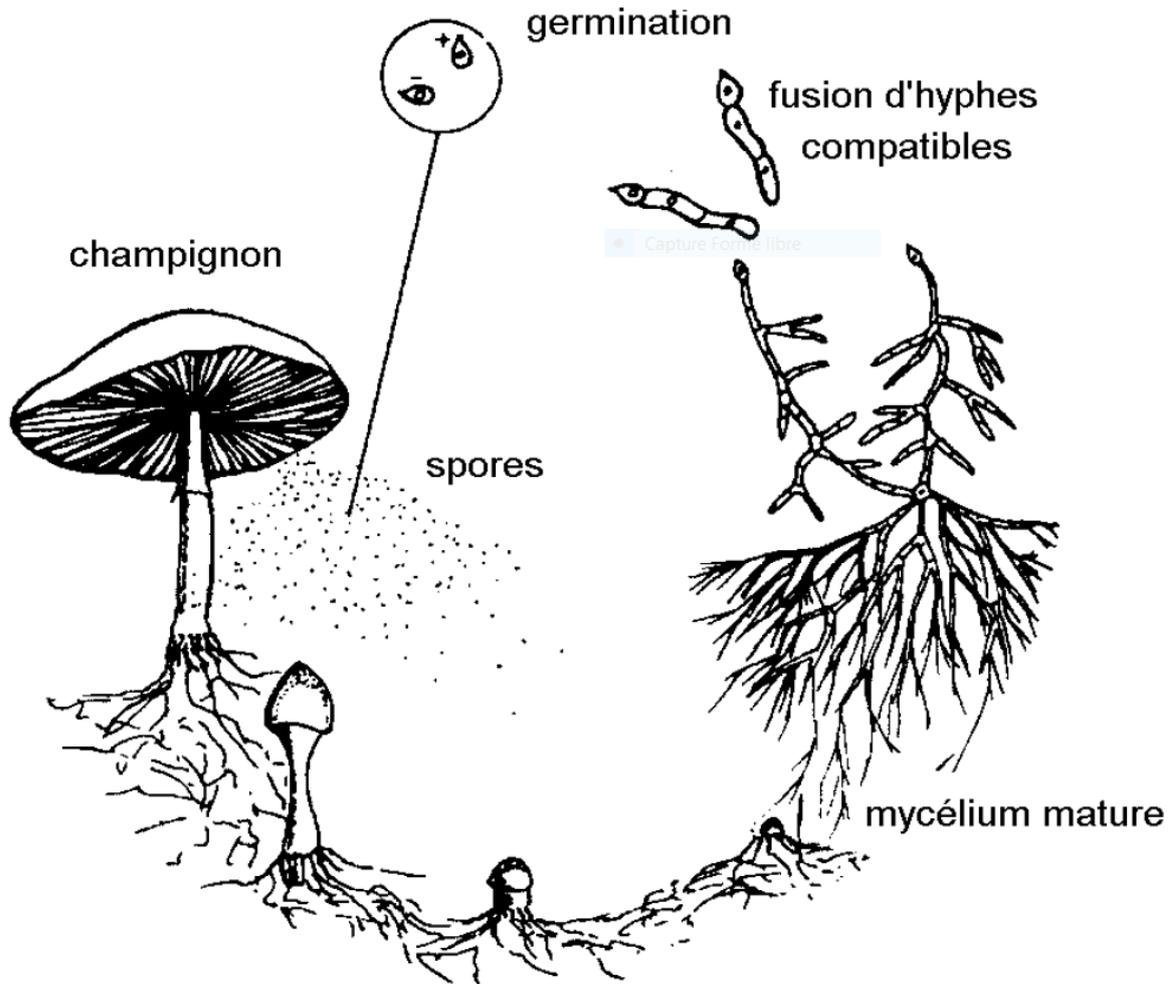
Environ 20 % des espèces fongiques connues peuvent être parasites. Les champignons parasites vivent aux dépens d'autres organismes, de plantes vivants ou d'animaux (**Senn-Irlet et al., 2012**).

#### **I .5.2.3 Symbiotiques**

C'est-à-dire vivent en une symbiose mutuellement bénéfique avec d'autres organismes généralement des arbres. Cette relation s'établit entre le mycélium et les racines de l'arbre (**Johnson et al., 1997**).

### **I .6 Cycle de vie des champignons**

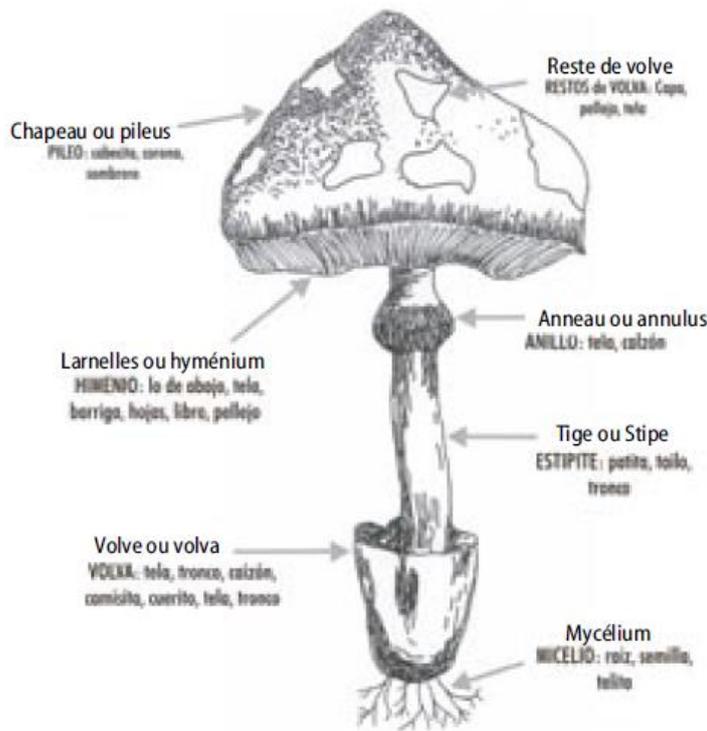
Dans la nature, les champignons se multiplient en produisant des millions et des millions de spores. Lorsqu'un de ces spores atterrit dans un milieu favorable il germe et se ramifie pour former un mycélium et lorsque deux mycéliums compatibles sexuellement se rencontrent, ils fusionnent pour former ce qu'on appelle un mycélium secondaire capable de produire des fructifications (**Barron, 1999**) (**figure 11**).



**Figure 11 :** Cycle de vie des champignons en milieu naturel (Oei et Nieuwenhuijzen , 2005)

### I.7 Anatomie des champignons

Les champignons partagent une structure anatomique générale composée d'une partie végétative, le mycélium, et, périodiquement, d'organes de reproduction. Ces derniers sont en grande majorité invisibles à l'œil nu. Quant aux autres, on peut les observer par milliers lorsque les conditions sont favorables ; il s'agit de fructifications (sporocarpes) (**figure 12**) d'amanites, de bolets, de cortinaires, de pézizes et d'autres macromycètes (**Patouillard, 1887**)



**Figure 12:** Les différentes des parties d'un champignon (Boa, 2006).

## I.8 *Pleurotus ostreatus*

### I.8.1 Origine et distribution géographique

Le genre *Pleurotus* est essentiellement originaire des pays tempérés mais ayant une certaine adaptation pour les régions tropicales ce qui lui a permis une large distribution géographique de pousser sur les différentes matières organiques et bois mort. Ainsi, les pleurotes poussent sur toutes les gammes des résidus culturels du fait de sa capacité intrinsèque de coloniser les matières pecto-cellulosiques (Philippe et al., 2012).

### I.8.2 Définition et Description

*Pleurotus ostreatus* est un champignon comestible qui pousse aussi bien sur le bois que sur la paille. Il offre ainsi la possibilité de valoriser divers déchets agro-industriels (grignon d'olive, paille de céréale, marc de café, ...etc.) (Mansour et al., 2016).



**Figure 13 :** *Pleurotus ostreatus*. (photo originale).

Selon **Pegler (1987)**, le genre *Pleurotus* se caractérise par :

- ✓ La chair blanche à texture charnue, tendre, devenant ferme, jamais gélatinisée.
- ✓ Les lamelles décurrentes entières, parfois fourchues ou anastomosées à la base, serrées à modérément distantes, à bord entier ou denticulé.
- ✓ Stipe cylindrique, solide avec ou sans voile annulaire partiel.
- ✓ Le chapeau typiquement flabelliforme déniché, attaché au substrat par un stipe court, épais, latéral excentrique et dont la surface est pigmentée ou non, ou sans stipe et attaché alors par le point de départ.
- ✓ La trame hyménophorale bien développée.
- ✓ Les cheilocystides présentes formant un bord de lamelle stérile.
- ✓ Le système hyphal monolithique avec des hyphes génératrices hyalines non enflées, à paroi mince ou épaisse, portant des boules, ou rarement démotique et développant des hyphes squelettiques, mais pourvus d'hyphes ligaturés dérivant des hyphes génératrices.
- ✓ Des métalloïdes parfois présentes.
- ✓ Une distribution géographique cosmopolite, saprophyte sur litière ou sur bois mort.
- ✓ Les spores blanches, cylindriques, 4-15 um de long, non destrinoïdes, hyalines, non amyloïdes, unirrulées, lisses, à paroi épaisse.
- ✓ Les pleurocystides présentes ou absentes.

**I.8.3 Classification**

Selon **Pegler (1987)**, la classification de pleurotes est la suivante :

|             |   |  |
|-------------|---|--|
| Règne       | : | Fungi  |
| Division    | : | Eumycota   |
| Subdivision | : | Basidiomycotina  |
| Classe      | : | Hymenomycètes  |
| Ordre       | : | Aphylophorales   |
| Famille     | : | Polyporaceae   |
| Tribu       | : | Lentineae  |
| Genre       | : | Pleurotus  |
| Espèce      | : | <i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacquin :<br>Fries) Kummer |

**I.8.5 Composition chimique**

La composition chimique de *P. ostreatus* est représentée dans le tableau 1.

**Tableau 1 :** Composition chimique de *P. ostreatus* (**Blandeau, 2012**)

| Fibres      | Hydrates<br>de carbone totaux | Cendres     | Protéines<br>brutes | Lipides   |
|-------------|-------------------------------|-------------|---------------------|-----------|
| <b>8,3%</b> | <b>65%</b>                    | <b>6,6%</b> | <b>27,4%</b>        | <b>1%</b> |

**I.8.6 Valeur nutritive**

*Pleurotus ostreatus* « pleurote » est le troisième champignon comestible cultivé dans le monde (**Royse, 1997 ; Diaz et al., 2002**)

*Pleurotus ostreatus* est riche en carbohydrates, vitamines et minéraux, protéines, pauvre en matière grasse, il peut être utilisé dans les repas de régime, le pleurote contiendrait jusqu'à cinq fois plus de protéines et de deux à cinq fois plus de fibres alimentaires que dans les autres champignons (**Delmas, 1998**).

✓ *Chapitre II : Les sous produits  
d'olivier*

**Chapitre II : les sous produits d'olivier.****II 1 . L'olivier**

L'olivier est un arbre robuste qui vit plusieurs siècles, jusqu'à 400 ans (**Benhayoun et Lazzerie, 2007**). L'olivier ou *Olea europea* L. appartient à la famille monophylétique des Oleaceae, c'est un arbre caractéristique de la région du bassin méditerranéen (**Muzzalupo, 2012**) et c'est l'un des éléments majeurs de l'économie agricole de certains pays de cette région de la méditerranée.

L'Algérie compte parmi les pays du bassin méditerranéen où l'olivier trouve son aire d'extension. Depuis 2002, elle a bénéficié d'une opération d'implantation de 1.000.000 d'hectares de nouvelles oliveraies. Ainsi donc, dans la région de Batna, des superficies importantes ont été réservées à la culture de cet arbre et qui a connu une sensible augmentation du point de vue rendement (**D.S.A., 2010**).

L'olivier présente une cime arrondie avec des rameaux étalés très nombreux, enchevêtrés les uns dans les autres, plus au moins inermes ou épineux, leur dimensions et forme varient avec les conditions climatiques, la fertilité du sol, l'exposition et les variétés. La hauteur peut atteindre (12 à 15 m) et le tronc est le plus souvent élancé (figure14) (**Argenson et al., 1999**).



**Figure 14** : Aspect morphologique d'un olivier cultivé (**Muzzalupo, 2012**)

## II .2 Taxonomie de l'olivier

La famille des Oleaceae comprend 40 taxons répartis en Europe, Afrique, Asie et en Océanie et qui sont divisés en trois sous-genres *Paniculatae*, *Tetrapilus* et *Olea*. Le dernier sous-genre comprend deux genre *Olea* et *Ligustroides* (**Green, 2002**). L'olivier (*Olea europaea* L.) est l'unique représentant du genre *Olea* et c'est l'arbre le plus répartie dans le monde (**Green and Wickens, 1989**). *Olea europaea* subsp. *europaea* est le plus distinct élément de la flore méditerranéenne et servent à caractériser à la fois les écosystèmes naturelle par la présence de la variété *sylvestris* Mill. et le paysage agricole par la présence de la variété. *europaea* (**De casas et al., 2006**).

Selon **Cronquist, 1981**, la taxonomie de l'olivier se présente comme suit :

**Règne** : Plantae

**Sous règne** : Spermaphytes

**Division** : Magnoliophyta

**Classe** : Magnoliopsida

**Sous classe** : Scrophulariales

**Famille** : Oleaceae

**Genre** : Olea

**Espèce** : *Olea europaea* L

## II .3 L'olive

L'olive est un petit fruit ellipsoïdale d'environ 2 cm de longueur (figure 15) qui comporte un noyau lui-même allongé. L'olive est composé d'eau, de minéraux (magnésium, fer, cuivre, sodium), de vitamines (A, D et F), de chlorophylle, et divers autres éléments (**Lambert, 1993**).



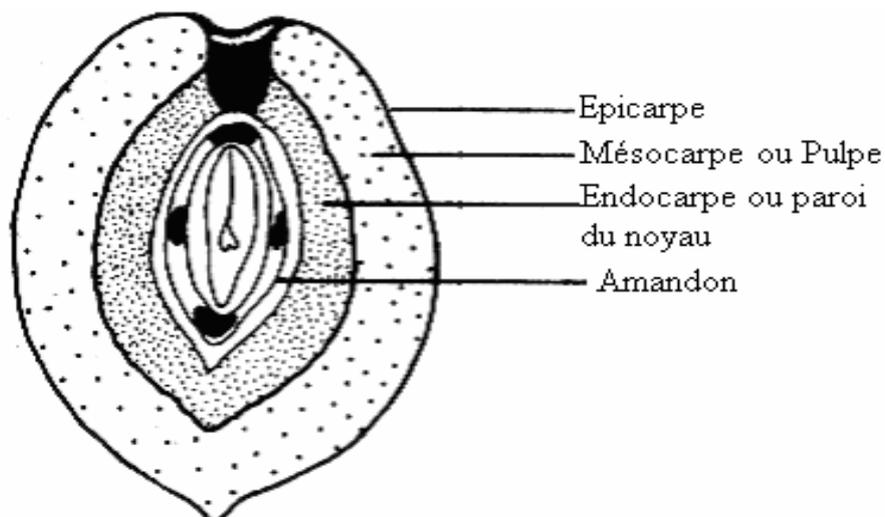
**Figure 15** : Aspect morphologique d'un fruit d'olivier (Muzzalupo, 2012).

### II .3.1 Composition de l'olive

L'olive est une drupe, sa composition dépend du climat, du sol et de la variété.

Selon Nefzaoui (1984), le contenu de l'olive est composé de :

- D'épicarpe (2%-2,5% m)
- De la pulpe (71,5%-80,5% m)
- D'amandon (2%-5,5% m)
- Du noyau (17,3%-23% m) (Figure16)



**Figure 16**: Composition de l'olive (Nefzaoui, 1984)

**II.4 L'huile d'olive**

L'olivier est aujourd'hui cultivé dans de nombreux pays (**Boskou, 2008**). L'huile d'olive est extraite uniquement du fruit de l'olivier (**C.O.I, 2011**).

Le tableau 2 nous donne une idée sur le taux de production mondiale d'huile d'olive.

**Tableau 2** : Production mondiale d'huile d'olive (**Veillet, 2010**).

| Pays           | Production (1000 tonnes) | Production (% Total Monde) |
|----------------|--------------------------|----------------------------|
| Grèce          | 348                      | 12,1                       |
| Espagne        | 1200                     | 41,6                       |
| Italie         | 540                      | 18,7                       |
| France         | 5                        | 0,2                        |
| Portugal       | 50                       | 1,7                        |
| Total Europe   | 2148,4                   | 74,6                       |
| <i>Algérie</i> | <i>50</i>                | <i>1,7</i>                 |
| Tunisie        | 140                      | 4,9                        |
| Maroc          | 95                       | 3,3                        |
| Syrie          | 150                      | ,5,2                       |
| Turquie        | 147                      | 5,1                        |
| Total Monde    | 2881,5                   |                            |

**II.5 Les constituants de l'huile d'olive**

L'huile d'olive est constituée essentiellement d'acide gras 99% (AG saturés 14,8% ; AG mono- insaturés 76,6% ; AG polyinsaturés 8,6% ) et autres substances 1% (Tableau 3) (**Gigon & Le Jeune, 2010**).

**Tableau 3**: les principaux constituants de l'huile d'olive (**Gigon & Le Jeune, 2010**).

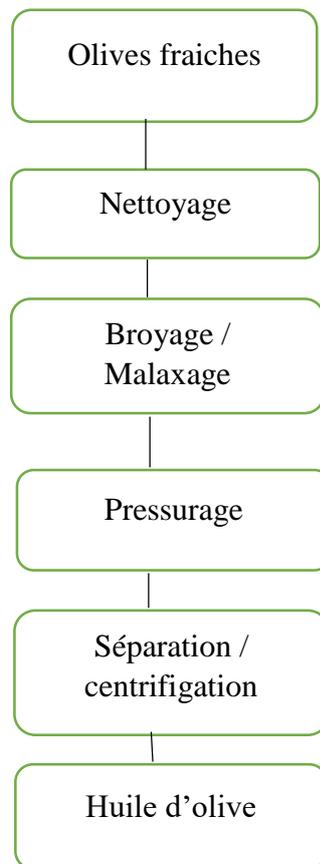
|                                    |   |           |
|------------------------------------|---|-----------|
| Acides gras (99 %)                 | Acide palmitique  | 7,5-20 %  |
| AGS (14,8 %)                       | Acide palmitoléique   | 0,3-3,5 % |
|                                    | Acide stéarique   | 0,5-5,0 % |
| Acide gras mono-insaturés (76,6 %) | Acide oléique   | 55-83 %   |
|                                    | Acide arachidique   | < 0,7 %   |
|                                    | Acide gondoïque   | 0,5 %     |
|                                    | Acide lignocérique  | < 0,5 %   |
| Acides gras polyinsaturés (8,6 %)  | Acide linoléique  | 9,0 %     |
|                                    | Acide linoléique  | 3,5-21    |
| Autres substances : 1 %            | Insaponifiable, squalènes   |           |
| Phytostérols                       | Bétasistostérol, campestérol, stigmastérol  |           |
| Vitamines                          | Tocophérols (vitamine E), vitamine A, vitamine K                                      |           |
| Polyphénols                        | Séco-iridoïdes : oleuropéine, diméthyleuropéine, ligstroside, hydroxytyrosol, tyrosol |           |
| Lignanes                           | Acétoxypinorésinol, pinorésinol   |           |
| Triterpènes                        | Acide oléanolique, érythrodiol  |           |

## II.6 Extraction d'huile d'olive

Le but de toutes méthodes d'extraction consiste à extraire la plus grande quantité d'huile (**Hermoso et al., 1991**).

Dans le processus d'extraction d'huiles d'olive, les fruits doivent être caractérisés afin de déterminer la prochaine étape. Une des pratiques de base pour obtenir des huiles de qualité et pour une bonne gestion des fruits là où les fruits doivent être nettoyé et lavé, selon les caractéristiques de chaque fruit (**Uceda et al, 1989**).

Les étapes du processus d'extraction d'huile d'olive sont résumées dans la figure 17



**Figure 17** : Schéma technologique de production d'huile d'olives (**Bennai et al., 2019**)

## II.7 Les sous-produits de l'olivier

L'industrie de l'huile d'olive génère de grandes quantités de sous-produits de l'olive. La plupart d'entre eux sont encore sous-évalués, même si leur composition chimique révèle un potentiel élevé en tant que source de composés naturels, notamment des antioxydants, des acides gras et des composants fibreux pouvant être utilisés comme ingrédients fonctionnels et techniques. Des techniques d'extraction durables et respectueuses de l'environnement ont été utilisées avec succès pour récupérer ces composés, qui peuvent être convertis en ingrédients naturels à haute valeur ajoutée (**Roussos et al,2009**).

## II .7.1 Les grignons

Selon **Sansoucy (1984)**, il existe plusieurs types de grignons :

- Le grignon partiellement dénoyauté ;
- Le grignon brut ;
- La pulpe d'olive (le grignon humide) ;
- Le grignon épuisé.

### II .7.1.1 Composition des grignons d'olives

La composition des grignons d'olive varie selon le procédé d'extraction de l'huile, le stade de maturité et selon l'épuisement des grignons par solvant (**Argenson et al., 1999**)

Les composants du grignon d'olive sont présentés dans le tableau suivant :

**Tableau 4:** La composition des grignons d'olives (**Garcia-Ibanez et al., 2006**)

| Lignine (%) | Hemicellulose (%) | Cellulose (%) |
|-------------|-------------------|---------------|
| 38          | 21,5              | 24,3          |

## II .7.2 Les margines

Les margines sont l'ensemble de déchets liquides aqueux brun (**Nefzaoui, 1991**), qui s'est séparé de l'huile par centrifugation ou par pression (**Sansoucy, 1984**).

### II .7.2.2 Composition chimiques des margines

Selon **Fiestas et al., (1992)**, les margines sont composé essentiellement de :

- Des substances organiques ;
- Des substances minérales ;
- De l'eau (tableau 5).

**Tableau 5 :** Composition chimiques des margines (**Fiestas et al., 1992**)

| Les substances organiques % | Les substances minérales % | L'eau % |
|-----------------------------|----------------------------|---------|
| 15                          | 1,8                        | 83,2    |

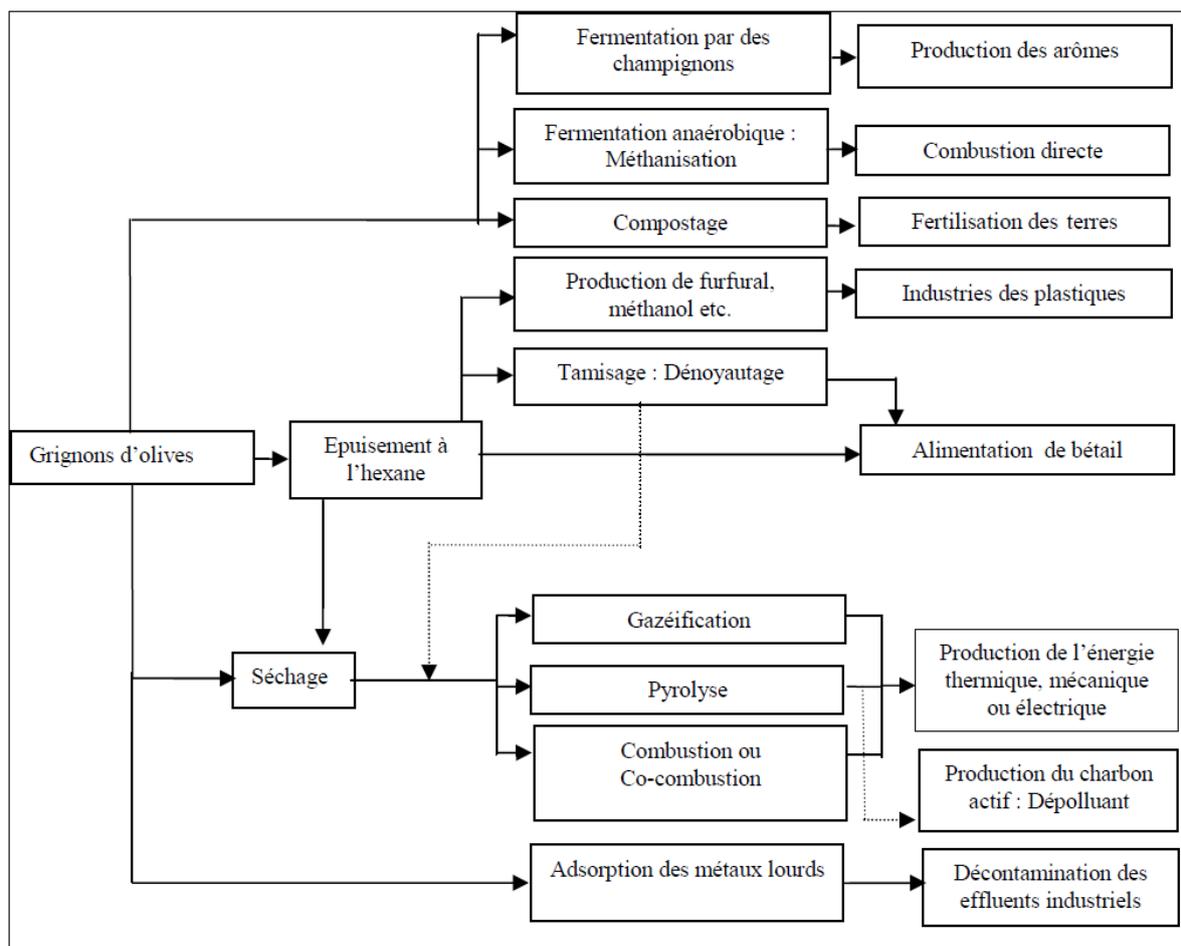
De très grandes quantités de margines qui sont souvent rejetées dans la nature sans aucun traitement, ce qui cause la pollution de l'environnement . par la pollution des sols et des eaux (Benyahia et Zein, 2003).

## II .8 Méthodes de valorisation des margines et grignons

Selon Azbar *et al.*, (2004) ; Oreopoulou et Russ, (2007), Il ya plusieurs Méthodes pour valoriser les margines dont parmi on cite :

- Installation de nébuliseurs et de rayons
- Fertigation
- Epuration avec diverses variantes (Traitement aérobie, anaérobie)
- Evaporation/concentration thermique
- Evaporation naturelle

Les filières de valorisation des grignons d'olives sont nombreuses et peuvent être résumé dans la figure 18.



**Figure 18:** Filières de valorisation des grignons d'olives (Chouchene,2010).

✓ *Partie expérimentale*



# ✓ *Matériel et méthodes*



## **Chapitre III : Matériel et méthodes**

### **III.1 . Matériel biologique**

Les échantillons sont cultivés dans une ferme en utilisant des différents substrats : substrat standard qui est 100% paille et des mélanges de grignon d'olive et de la paille en plus d'un mélange de noix d'olive et de la paille à différents pourcentages ( 25% , 50%,75%, et 100%).

Les champignons ont été récoltés et séchés à 30°C, puis ils ont été broyées en poudre et ont été conservés dans des sacs en polypropylène à la température de 4°C.



**Figure 19:** Poudre de champignon *Pleurotus ostreatus* . (Photo originale) .

### **III.2. Extraction et préparation des extraits**

#### **III.2 .1. Extraction par macération**

##### **✓ Principe**

La macération est une méthode qui consiste à laisser la poudre de la plante en contact prolongé avec un solvant, à température ambiante, pendant quelques heures à une nuit. Le choix du solvant est orienté par les caractéristiques chimiques spécifiques pour chaque famille de métabolites secondaires recherchés. Généralement les solvants les plus utilisées sont l'éthanol et le méthanol (Talbi et al , 2015).

##### **✓ Mode opératoire**

Le protocole suivi dans cette expérimentation a été décrit par **Romani et al (2006)**. Le procédé consiste à faire une macération sous agitation, et à température ambiante.

Un mélange de 5g de poudre de champignon récolté et de 200 ml du mélange méthanol /eau (80 / 20 : V / V) est macéré pendant 48h.

-Filtration de mélange à l'aide d'un papier Whatman et récupération du filtrat.

-Deuxième extraction (100ml méthanol /eau) macéré pendant 24h.

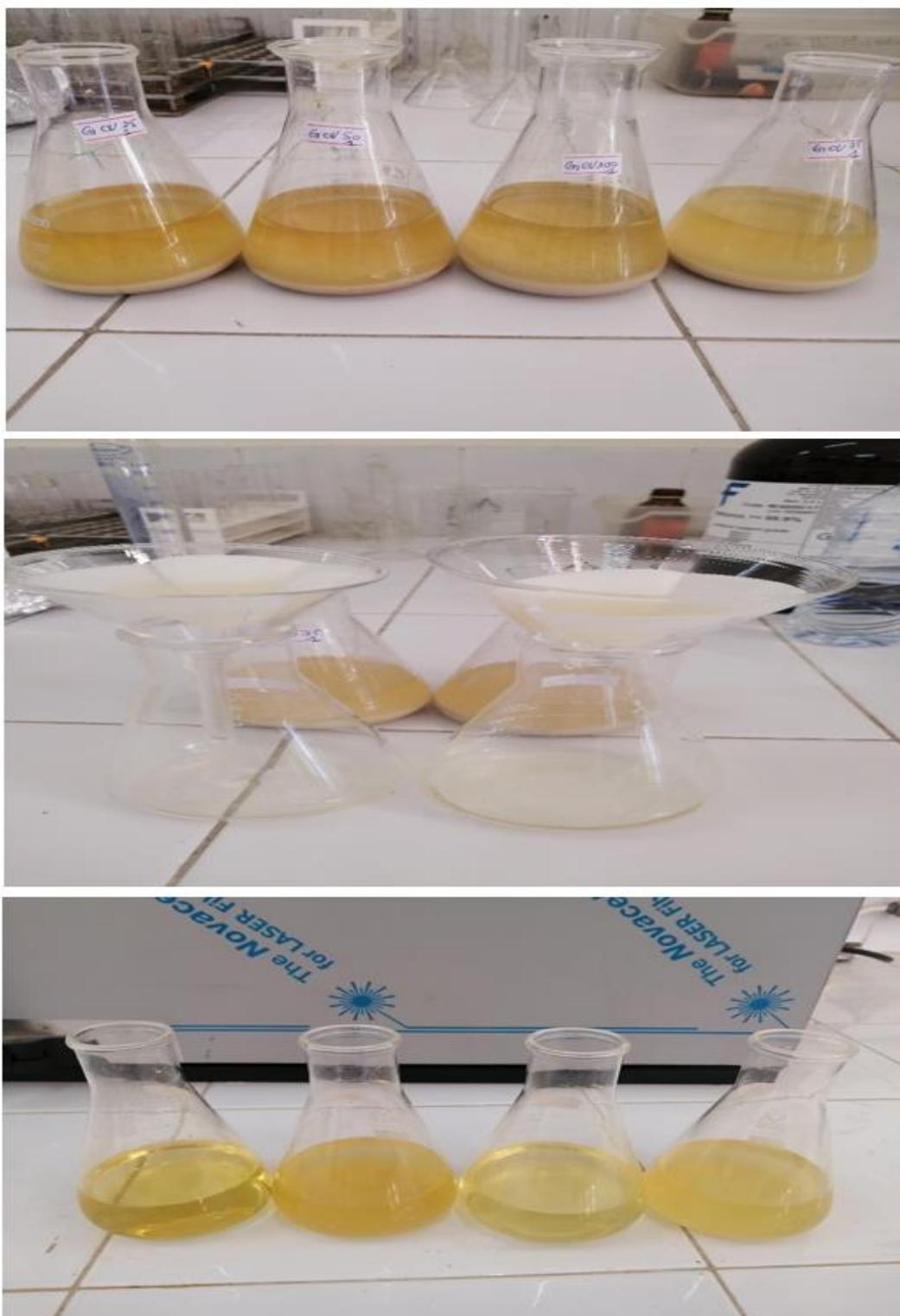
- Filtration du mélange.

-Evaporation du méthanol du filtrat à l'aide d'un rotavapor.

-Récupération de l'extrait.



**Figure 20** : Préparation du mélange poudre de champignon et solvants méthanol / eau (Photo originale) .



**Figure 21** : Filtration du mélange (Photo originale) .



**Figure 22** : Evaporation du méthanol du filtrat à l'aide d'un rotavapor. (Photo originale).



**Figure 23** : Récupération des extraits après évaporation. (Photo originale)

### III.3. Dosage de quelques métabolites secondaires

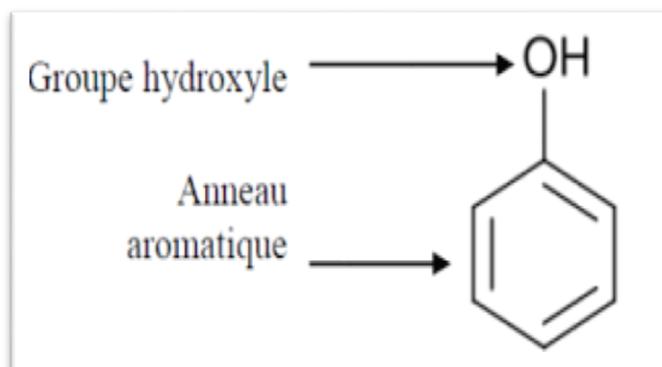
Dans le but de déterminer la teneur en composés phénoliques des extraits, deux protocoles ont été suivis afin de doser les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes.

#### III.3.1 Réactifs utilisés

- Acide gallique
- Folin-Ciocalteu
- Carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )
- Chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ )
- Nitrite de sodium ( $\text{NaNO}_2$ )
- Hydroxyde de sodium ( $\text{NaOH}$ )
- DPPH: 2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl
- Eau distillé  $\text{H}_2\text{O}$
- Ethanol  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$
- Méthanol  $\text{CH}_3\text{OH}$
- Acide ascorbique
- Catéchine

#### III.3.2 Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols ou composés phénoliques, sont des molécules spécifiques du règne végétal qui appartiennent à leur métabolisme secondaire (Apak *et al.*, 2007).



**Figure 24:** Structure de base des polyphénols (Manallha, 2012).

Le dosage des polyphénols totaux a été déterminé par spectrophotométrie, dont l'absorption maximale est à 765 nm (Enneb *et al.*, 2015).

### **III.3.2 .1 Principe**

Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait.

Le réactif de Folin Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ), en milieu alcalin oxyde les phénols en ions phénolates , et réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (**Ribéreau et al, 1968**).

Le principe de dosage des phénols totaux repose sur les capacités réductrices des complexes ioniques polymériques formés à partir des acides phosphomolybdiques et phosphotungstique (réactif de Folin-Ciocalteu) par les composés phénoliques . Il en résulte la formation d'un complexe bleu qui accompagne l'oxydation des composés phénoliques et qui est stabilisé par l'addition de carbonate de sodium ( $Na_2CO_3$ ).

### **III.3.2.2 Préparation du réactif de Folin-ciocalteu**

Pour préparer le réactif de Folin-ciocalteu, 9ml d'eau distillé ont été ajouté à 1 ml de réactif de Folin-ciocalteu.

### **III.3.2 .3 Protocole**

Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par **Singleton et Ross, (1965)** avec quelques modifications.

Dans des tubes à hémolyse en verre, un volume de 100  $\mu$ l de chaque extrait a été ajouté, avec un mélange de 0,5 ml de réactif Folin-Ciocalteu, l'ensemble est incubé à température ambiante pendant 5 minute, puis en ajoute 400  $\mu$ l d'une solution de carbonate de sodium à 7,5 %. Les tubes sont conservés pendant 30 min le dosage a été répété trois fois afin de calculer une moyenne des densités optique mesurées.

La lecture de l'absorbance a été réalisée au spectrophotomètre UV-visible à une longueur d'onde de 765 nm contre un blanc constitué de 100  $\mu$ l d'eau distillée, 500  $\mu$ l de réactif Folin-Ciocalteu, et 400  $\mu$ l de la solution de carbonate de sodium.

Les teneurs en polyphénols totaux de chaque extrait ont été déterminées à partir de la courbe d'étalonnage tracée en utilisant l'acide gallique comme standard.

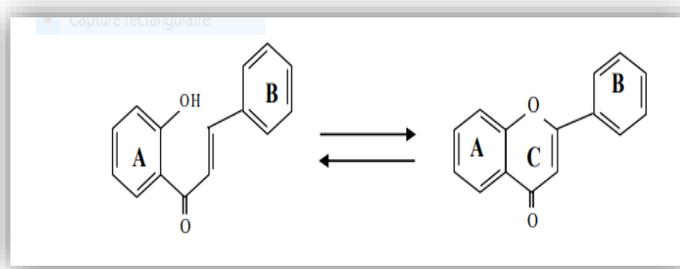
**Tableau 6** : Dosage des polyphénols totaux.

|   | La gamme d'étalon (acide gallique) |     |     |     |      |       |       |      |     |      |       | Extraits<br>mg/ml |
|---|------------------------------------|-----|-----|-----|------|-------|-------|------|-----|------|-------|-------------------|
| [Acide<br>gallique]<br>µg/ml                      | Blanc                              | 500 | 250 | 125 | 62.5 | 31.25 | 15.62 | 7.81 | 3.9 | 1.95 | 0.976 |                   |
| Acide<br>gallique<br>(ml)                         | -                                  | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1  | 0.1   | 0.1   | 0.1  | 0.1 | 0.1  | 0.1   | -                 |
| ED (ml)   | 0.1                                | -   | -   | -   | -    | -     | -     | -    | -   | -    | -     | -                 |
| Extraits<br>(ml)                                  | -                                  | -   | -   | -   | -    | -     | -     | -    | -   | -    | -     | 0.1               |
| RFC (ml)  | 0.5                                | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5  | 0.5   | 0.5   | 0.5  | 0.5 | 0.5  | 0.5   | 0.5               |
| <b>Agitation et incubation<br/>t= 5 min</b>       |                                    |     |     |     |      |       |       |      |     |      |       |                   |
| Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub><br>(ml)<br>(7.5%) | 0.4                                | 0.4 | 0.4 | 0.4 | 0.4  | 0.4   | 0.4   | 0.4  | 0.4 | 0.4  | 0.4   | 0.4               |
| <b>Incubation<br/>t= 30 min</b>                   |                                    |     |     |     |      |       |       |      |     |      |       |                   |
| <b>Mesure de l'absorbance à 765 nm</b>            |                                    |     |     |     |      |       |       |      |     |      |       |                   |

### III.3.3 Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes peuvent jouer des rôles d'antioxydants et sont considérés comme des micronutriments importants (Nijveldt *et al.*, 2001).

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux. Ces composés ont une structure de base formée de 2 noyaux benzéniques A et B reliés par un noyau C qui est un hétérocycle pyranique (Ghestem *et al.*, 2001). Les flavonoïdes peuvent agir de différentes façons dans les processus de régulation du stress oxydant (Curtay *et Robin.*, 2000).



**Figure 25:** Structure de base des flavonoïdes (Heller et Forkmann, 1993).

### III.3.3 .1 Principe

Le principe de la méthode de dosage des flavonoïdes est basé sur l'oxydation de ces flavonoïdes par le chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ), elle entraîne la formation d'un complexe brunâtre qui absorbe à 510 nm. La comparaison de l'absorbance observée à celle obtenue par un étalon de catéchine de concentration connue permet d'évaluer la teneur totale en flavonoïdes.

### III.3.3.2 Protocole

Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par **Zhishen et al., (1999)** avec quelques modifications. Dans des tubes à hémolyse en verre, un volume de 250  $\mu\text{l}$  de chaque extrait a été ajouté, plus 1 ml d'eau distillée et 75  $\mu\text{l}$  de  $\text{NaNO}_2$  à 5 %, après 6 minutes, un volume de 75  $\mu\text{l}$  d' $\text{AlCl}_3$  à 10 % a été ajouté. Après 6 minutes, 500  $\mu\text{l}$  de  $\text{NaOH}$  à 4% et 600  $\mu\text{l}$  d'eau distillée ont été additionnés puis les tubes sont conservés pendant 30 min. Les essais ont été réalisés trois fois pour chaque extrait. L'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 510 nm contre un blanc constitué de 1250  $\mu\text{l}$  d'eau distillée +75  $\mu\text{l}$  de  $\text{NaNO}_2$  +75  $\mu\text{l}$  d' $\text{AlCl}_3$  +500  $\mu\text{l}$  de  $\text{NaOH}$  et 600  $\mu\text{l}$  d'eau distillée.

Le cathéchine a été utilisée comme standard de référence pour l'établissement de la courbe d'étalonnage. Des solutions filles ont été préparées à partir de la solution mère à différentes concentrations comprises entre 500 et 0,976  $\mu\text{g/ml}$ .

**Tableau 7:** Dosage des flavonoïdes.

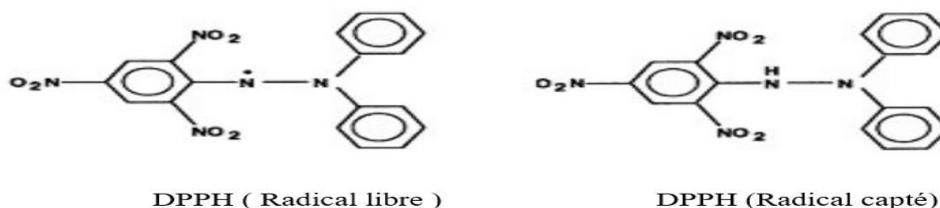
|   | La gamme d'étalon (Cathéchine) |      |      |      |      |       |       |      |      |      |       |      | Extraits<br>1mg /ml |
|---|--------------------------------|------|------|------|------|-------|-------|------|------|------|-------|------|---------------------|
| [ Cathéchine]<br>µg/ml  | Blanc                          | 500  | 250  | 125  | 62.5 | 31.25 | 15.62 | 7.81 | 3.9  | 1.95 | 0.976 |      |                     |
| Cathéchine<br>( µl)   | -                              | 250  | 250  | 250  | 250  | 250   | 250   | 250  | 250  | 250  | 250   | -    |                     |
| Extrait (µl)  | -                              | -    | -    | -    | -    | -     | -     | -    | -    | -    | -     | 250  |                     |
| ED (µl)   | 1250                           | 1000 | 1000 | 1000 | 1000 | 1000  | 1000  | 1000 | 1000 | 1000 | 1000  | 1000 |                     |
| NaNO2 (µl)  | 75                             | 75   | 75   | 75   | 75   | 75    | 75    | 75   | 75   | 75   | 75    | 75   |                     |
| <b>1<sup>ère</sup> incubation pendant 6 min à température ambiante</b>              |                                |      |      |      |      |       |       |      |      |      |       |      |                     |
| AlCl3 (µl)  | 75                             | 75   | 75   | 75   | 75   | 75    | 75    | 75   | 75   | 75   | 75    | 75   |                     |
| <b>2<sup>ème</sup> incubation pendant 6 min à température ambiante</b>              |                                |      |      |      |      |       |       |      |      |      |       |      |                     |
| NaOH (µl)   | 500                            | 500  | 500  | 500  | 500  | 500   | 500   | 500  | 500  | 500  | 500   | 500  |                     |
| ED (µl)   | 600                            | 600  | 600  | 600  | 600  | 600   | 600   | 600  | 600  | 600  | 600   | 600  |                     |
| <b>3<sup>ème</sup> incubation à l'obscurité pendant 30 min<br/>Lecture à 510 nm</b> |                                |      |      |      |      |       |       |      |      |      |       |      |                     |

### III.3.4 Recherche de l'activité antioxydante des extraits

Différents tests ont été utilisés pour évaluer l'activité antioxydante des extraits de *Pleurotus ostreatus*, parmi les tests les plus souvent utilisés, le test de DPPH (2,2- diphenyl-1-picryl-hydrazyl).

#### III.3.4.1 L'activité anti radicalaire par DPPH

Le DPPH, 2,2'- Diphényl-1 -picrylhydrazyl, est un radical libre stable soluble dans le méthanol ou l'éthanol et de couleur violacée qui absorbe à 517nm . En présence de composés anti-radicalaires, ce radical est réduit et la couleur violette disparaît rapidement pour donner une couleur jaune pâle (Sanchez et al., 2002) (figure 26).



**Figure 26 :** Structure de DPPH libre et sa forme réduite (Roginsky et Lissi, 2005).

### III.3.4.2 Principe

En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette se réduit en 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine de couleur jaune. Cette couleur est l'indicateur du pouvoir antioxydant d'un échantillon par sa capacité à piéger le radical libre et se traduit par une diminution de l'absorbance à 517 nm (Bozin *et al.*, 2008).

### III.3.4.3 Préparation de la solution DPPH

Une quantité de 6 mg de poudre de DPPH a été dissoute dans 250 mL d'éthanol pour avoir une concentration finale de 60  $\mu$ M.



**Figure 27** : Solution DPPH (Photo originale)

### III.3.4.4 Protocole

Le protocole expérimental suivi pour étudier l'activité du piégeage du radical libre DPPH est celui décrit par Blois (1958) avec quelques modifications.

Après la préparation des dilutions ou des concentrations différentes des extraits (16 mg /4 ml d'eau distillé) , on prend 375  $\mu$ l de chaque extrait et de chaque concentration qu'on met dans un tube à essais et on additionne 1125  $\mu$ l de la solution de DPPH contre un control négatif contenant de l'éthanol au lieu de l'extrait. On prépare aussi le blanc qui contient 375  $\mu$ l de chaque extrait et 1125  $\mu$ l d'éthanol pour calibrer le spectrophotomètre. Les mélanges réactionnels sont immédiatement agités avant d'être placés pendant 30 min à l'obscurité et à

température ambiante du laboratoire. L'absorbance a été mesurée à 517 nm en utilisant un spectrophotomètre UV/V. Chaque test est répété trois fois.

Une courbe étalon est réalisée à partir d'une gamme de concentration d'acide ascorbique.

Le pourcentage de réduction du radical libre DPPH est exprimé par la formule suivante :

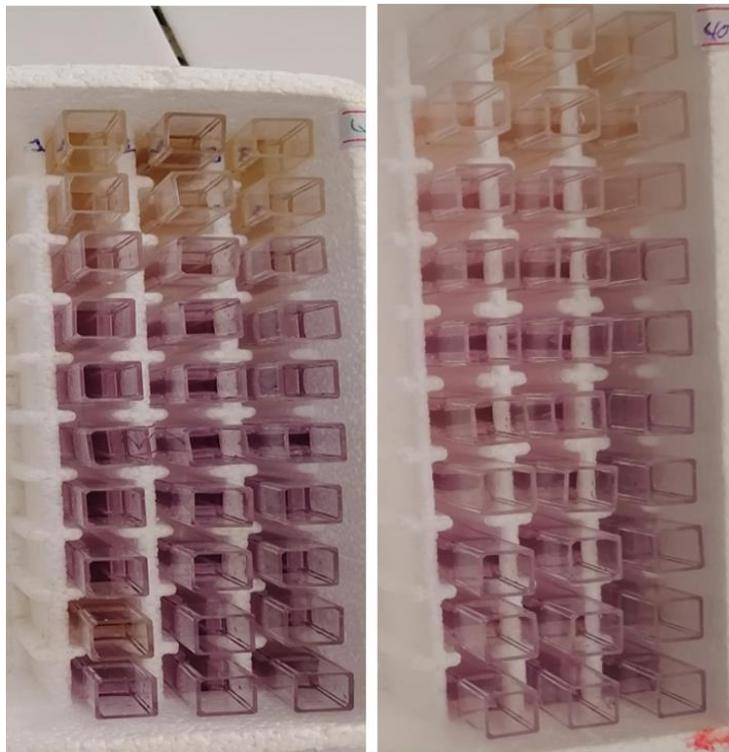
$$PI = [(A0 - A1)/A0] \times 100$$

Avec :

**PI**: pourcentage d'inhibition.

**A0** : absorbance du control (sans échantillon).

**A1** : Absorbance de l'échantillon testé.



**Figure 28** : Changement de couleur du mélange DPPH et extrait après incubation à température ambiante du laboratoire. (Photo originale)

## ✓ *Résultats et discussion*



### IV.1 Rendement d'extraction

Le rendement des extraits secs sont présentés dans les **tableaux 8, 9, et 10**.

**Tableau 8 :** Rendement (en %) des extraits des champignons cultivé sur différents mélange de grignon d'olive avec la paille.

| Grignon<br>D'olive | 1 <sup>ère</sup> récolte |              |             |              | 2 <sup>ème</sup> récolte |              |              |             | 3 <sup>ème</sup> récolte |             |             |              |
|--------------------|--------------------------|--------------|-------------|--------------|--------------------------|--------------|--------------|-------------|--------------------------|-------------|-------------|--------------|
|                    | 100%                     | 75%          | 50%         | 25%          | 100%                     | 75%          | 50%          | 25%         | 100%                     | 75%         | 50%         | 25%          |
|                    | <b>29.78</b>             | <b>27.94</b> | <b>29.1</b> | <b>27.04</b> | <b>31.2</b>              | <b>41.84</b> | <b>36.94</b> | <b>19.8</b> | <b>38.1</b>              | <b>36.7</b> | <b>33.1</b> | <b>29.38</b> |

**Tableau 9 :** Rendement (en %) des extraits des champignons cultivé sur différents mélange de noix d'olive avec la paille.

| Noix<br>D'olive | 1 <sup>ère</sup> récolte |              |              |              | 2 <sup>ème</sup> récolte |              |              |              |
|-----------------|--------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------------------|--------------|--------------|--------------|
|                 | 100%                     | 75%          | 50%          | 25%          | 100%                     | 75%          | 50%          | 25%          |
|                 | <b>36.12</b>             | <b>29.28</b> | <b>26.52</b> | <b>26.48</b> | <b>44.68</b>             | <b>35.92</b> | <b>33.52</b> | <b>31.44</b> |

**Tableau 10 :** Rendement ( en %) des extraits des champignons cultivé sur la paille.

| Paille | 1 <sup>ère</sup> récolte | 2 <sup>ème</sup> récolte | 3 <sup>ème</sup> récolte |
|--------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
|        | <b>25.48</b>             | <b>23.68</b>             | <b>23.68</b>             |

### IV.2 Dosage des polyphénols totaux

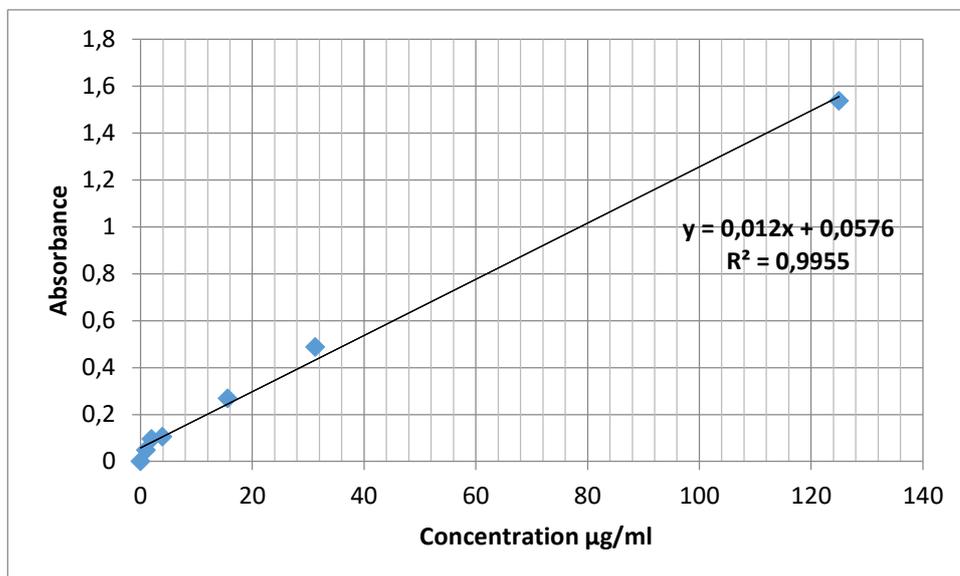
Le dosage des polyphénols totaux (PPT), l'une des méthodes les plus anciennes conçue pour déterminer la teneur en polyphénols est celle où on utilise le réactif de Folin Ciocalteu qui est réduit, lors de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène.

La coloration produite, dont l'absorption maximum à 765 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux.

La quantité des polyphénol totaux a été rapporté en microgramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche ( $\mu\text{g EAG/g MS}$ )et déterminé par l'équation:

$$y = 0,012x + 0,0576 \text{ Avec } R^2 = 0,9955 .$$

La courbe d'étalonnage représentée dans la figure montre une linéarité de l'absorbance de l'acide gallique en fonction des concentrations.



**Figure 29** : Courbe étalon de l'acide gallique.

Les **tableaux 11,12 et 13** présentent les valeurs des concentrations en polyphénols totaux obtenues des extraits hydro-méthanolique des champignons de *Pleurotus ostreatus* ayant poussé sur deux différent substrat grignon et noix d'olive avec différents pourcentage de mélange avec la paille (25% ; 50% ; 75% et 100%) avec un témoin de culture sur 100% paille.

**Tableau 11** : Teneur en PPT des champignons cultivé sur différents mélange de grignon d'olive avec la paille (en mg EAG/g MS).

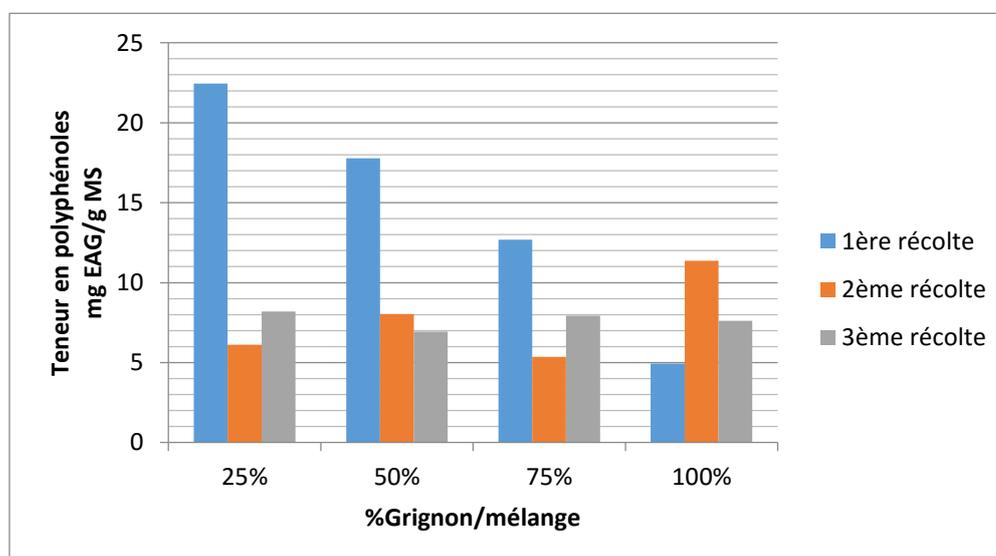
|                          | Pourcentage du grignon d'olive |       |       |       |
|--------------------------|--------------------------------|-------|-------|-------|
|                          | 25%                            | 50%   | 75%   | 100%  |
| 1 <sup>ère</sup> récolte | 22,44                          | 17,77 | 12,69 | 4,94  |
| 2 <sup>ème</sup> récolte | 6,11                           | 8,03  | 5,36  | 11,36 |
| 3 <sup>ème</sup> récolte | 8,19                           | 6,94  | 7,94  | 7,61  |

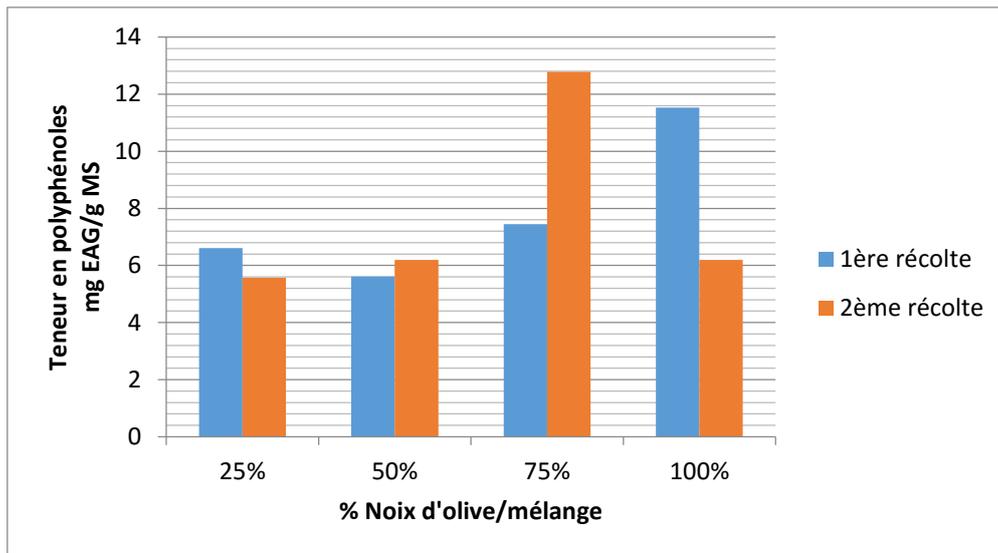
**Tableau 12 :** Teneur en PPT des champignons cultivé sur différents mélange de noix d'olive avec la paille (mg EAG/g MS).

|                          | Pourcentage de noix d'olive |      |       |       |
|--------------------------|-----------------------------|------|-------|-------|
|                          | 25%                         | 50%  | 75%   | 100%  |
| 1 <sup>ère</sup> récolte | 6,61                        | 5,61 | 7,44  | 11,53 |
| 2 <sup>ème</sup> récolte | 5,57                        | 6,19 | 12,78 | 6,19  |

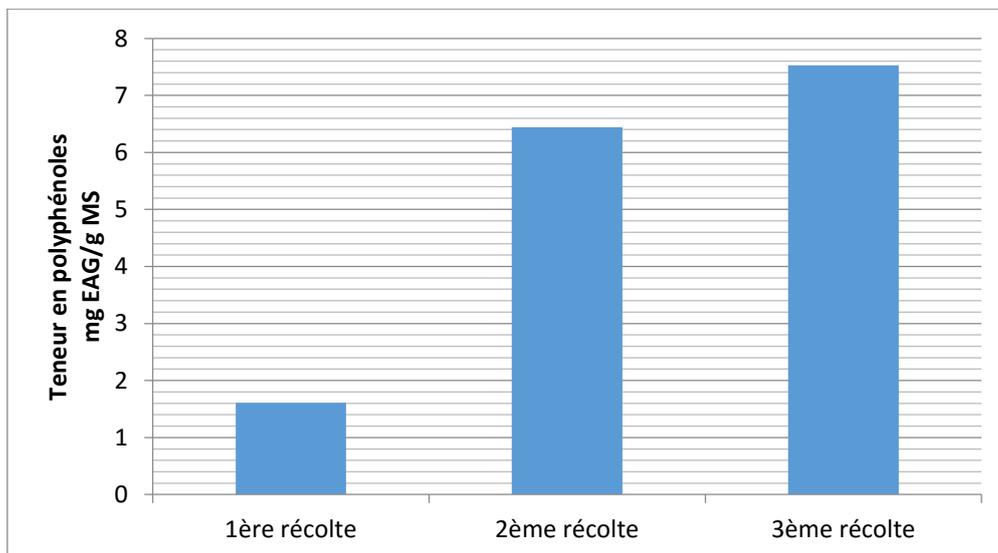
**Tableau 13 :** Teneur en PPT des champignons cultivé sur la paille (mg EAG/g MS).

|               | 1 <sup>ère</sup> récolte | 2 <sup>ème</sup> récolte | 3 <sup>ème</sup> récolte |
|---------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Teneur en PPT | 1,61                     | 6,44                     | 7,53                     |

**Figure 30:** Teneur en PPT des champignons cultivé sur différents mélange de grignon d'olive avec la paille (mg EAG/g MS).



**Figure 31:** Teneur en PPT des champignons cultivé sur différents mélange de noix d'olive avec la paille (mg EAG/g MS).



**Figure 32:** Teneur en PPT des champignons cultivé sur la paille (mg EAG/g MS).

Les polyphénols ont été reporté comme étant le composant antioxydant majeurs des champignons, alors que pour les autres antioxydants se trouvent en quantité inférieure. (**Barros et al,2007 ; Chiu et al ,1998 ; Barros et al 2008**)

La quantité des polyphénols présente dans les champignons cultivés dans un mélange de grignon d'olive sont : 22,44 ; 17,77 ; 12,69 ; 4,94 mg EAG/g MS pour les concentrations respectives de 25 ; 50 ; 75 et 100% de grignons d'olive par apport au paille pour la première récolte.

Pour le mélange de 25 et 75% de grignons d'olives la teneur en polyphénols diminue dans la 2<sup>ème</sup> récolte en enregistrant des teneurs de l'ordre de 6,11 et 5,36 mg EAG/g MS et

augmente un peu plus dans la 3<sup>ème</sup> récolte pour atteindre 8,19 et 7,94 mg EAG/g MS alors que pour le mélange de 50 et 100% la teneur continue à diminuer pour la 2<sup>ème</sup> avec des teneurs de 8,03 ; 11,36 mg EAG/g MS et la 3<sup>ème</sup> avec 6,94 ; 7,61 mg EAG/g MS.

Pour les champignons cultivés dans les noix d'olive la teneur en polyphénols est de 6,61 ; 5,61 ; 7,44 ; 11,53 mg EAG/g MS pour les mélanges de 25 ; 50 ; 75 et 100% respectivement pour la 1<sup>ère</sup> récolte et 5,57 ; 6,19 ; 12,78 ; 6,19 mg EAG/g MS respectivement pour les mêmes pourcentages de mélange de la 2<sup>ème</sup> récolte.

Pour le champignon cultivé sur la paille et qui est considéré comme témoin la teneur en polyphénols et de l'ordre de 1,61 ; 6,44 ; 7,53 mg EAG/g MS pour la 1<sup>ère</sup>, 2<sup>ème</sup> et la 3<sup>ème</sup> récolte.

On compare les résultats obtenus sur les différents mélanges du substrat on trouve que les meilleurs teneurs sont celles de la 1<sup>ère</sup> récolte du grignon en premier pour le 25% (avec un taux 22,44 mg EAG/g MS) suivi par le 50% (avec 17,77 mg EAG/g MS) et 75% (avec 12,69 mg EAG/g MS). Par contre les extraits des champignons cultivés sur la paille ont donné les teneurs en polyphénols les plus faibles surtout pour la première récolte qui a donné une teneur de 1,61 mg EAG/g MS.

L'augmentation de la teneur en polyphénols dans les échantillons (d'une récolte ou d'un substrat à une autre) s'explique par la libération des composants par hydrolyses (enzymes des souches) ou par la richesse du substrat en composants actifs. La diminution s'explique par l'épuisement du substrat en composants actifs. (**Tribathi et Gaur, 2004 ; Gasecka et al, 2015 ; Zied et al 2018 ; Munk et al, 2015**)

Dans un travail réalisé par **Wong et al.(2013)**, la teneur la plus élevée de composés phénoliques totaux était détectée chez *Pleurotus eryngii* et *Pleurotus florida* avec des teneurs respectives de  $3,57 \pm 0,14$  et  $3,72 \pm 0,02$  mg EAG/g MS. Comparés avec d'autres espèces de champignons comestibles comme *Hypsizygus tessulatus*  $3,14 \pm 0,31$  mg EAG/g MS et *Flammulina velutipes* avec  $3,14 \pm 0,31$  mg et  $0,90 \pm 0,10$  mg EAG/g MS.

La teneur en polyphénols dépend du type d'échantillon, du solvant et de la température utilisée pour l'extraction.

La teneur en polyphénols la plus élevée dans l'extrait alcoolique de *P. ostreatus* était  $(11,46 + 0,05)$  mg/g (**Al-Jubori et al., 2016**).

**Aganga & Mosase, (2001)** ont également montré que plusieurs facteurs peuvent influencer sur la teneur en composés phénoliques. Parmi ces facteurs :

- les facteurs climatiques, géographiques
- la période de récolte
- le stade de développement et le degré de maturation
- le patrimoine génétique
- la durée de stockage
- la méthode d'extraction et la méthode de quantification des composés d'intérêt biologique

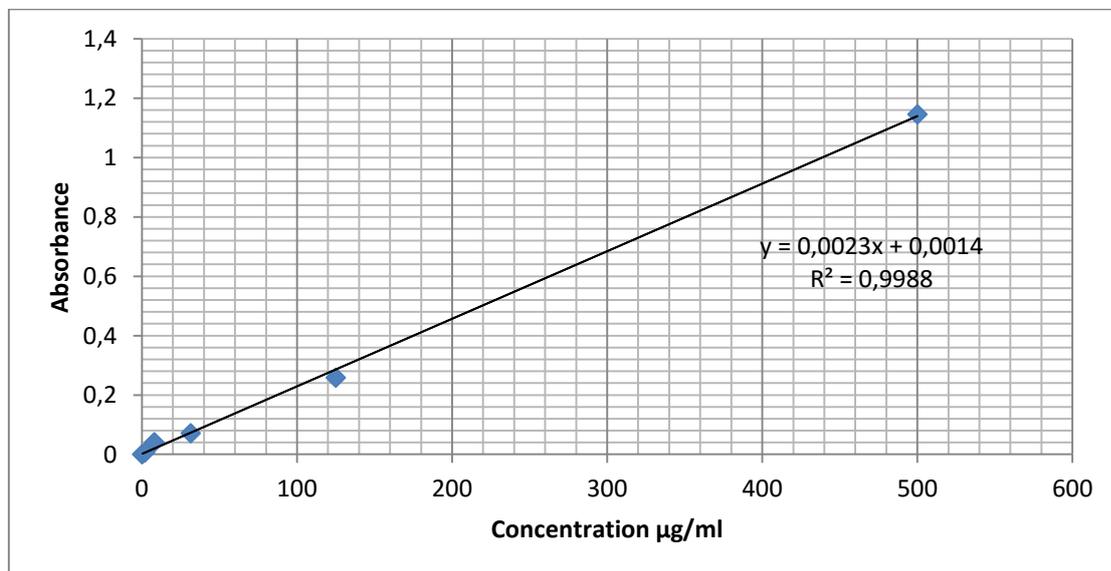
### IV.3 Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des molécules très importantes, qui proviennent du métabolisme végétal. Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode  $AlCl_3$  en utilisant comme standard la cathéchine.

Les quantités des flavonoïdes ont été rapportées en microgramme d'équivalent de cathéchine par gramme de matière sèche ( $\mu g$  EC/g MS) et déterminé par l'équation :

$$y = 0.0023 x + 0.0014 \text{ avec } R^2 = 0,9988.$$

La courbe d'étalonnage représentée dans la figure montre une linéarité de l'absorbance de cathéchine en fonction des concentrations.



**Figure 33 :** Courbe d'étalonnage de la catéchine.

Les **tableaux 14, 15 et 16** présentent les valeurs des concentrations en flavonoïdes totaux obtenues par l'extraction hydrométhanolique des poudres de champignons de *Pleurotus ostreatus* ayant poussé sur deux différents substrat grignon et noix d'olives avec

différents pourcentage de mélange avec la paille (à savoir 25 ; 50 ; 75 et 100%) avec un témoin de cette cultures qui est de la paille seule (100%).

**Tableau 14** : Teneur en FT des champignons cultivé sur différents mélange de grignon d'olive avec la paille (mg EC/g MS).

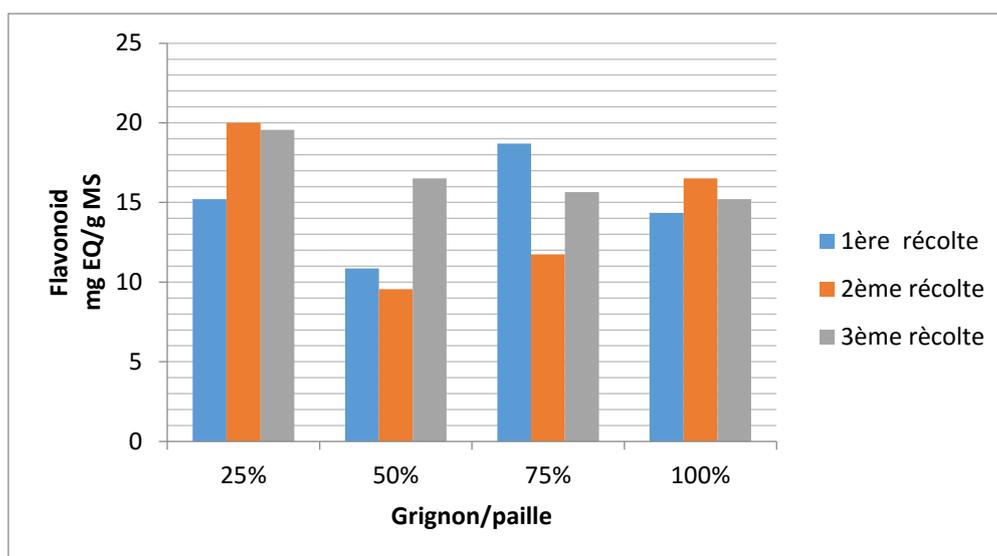
|                          | Pourcentage du grignon d'olive |       |       |       |
|--------------------------|--------------------------------|-------|-------|-------|
|                          | 25%                            | 50%   | 75%   | 100%  |
| 1 <sup>ère</sup> récolte | 15,22                          | 10,87 | 18,69 | 14,35 |
| 2 <sup>ème</sup> récolte | 20,00                          | 9,56  | 11,74 | 16,52 |
| 3 <sup>ème</sup> récolte | 19,56                          | 16,52 | 15,65 | 15,22 |

**Tableau 15** : Teneur en FT des champignons cultivé sur différents mélange de noix d'olive avec la paille (mg EC/g MS).

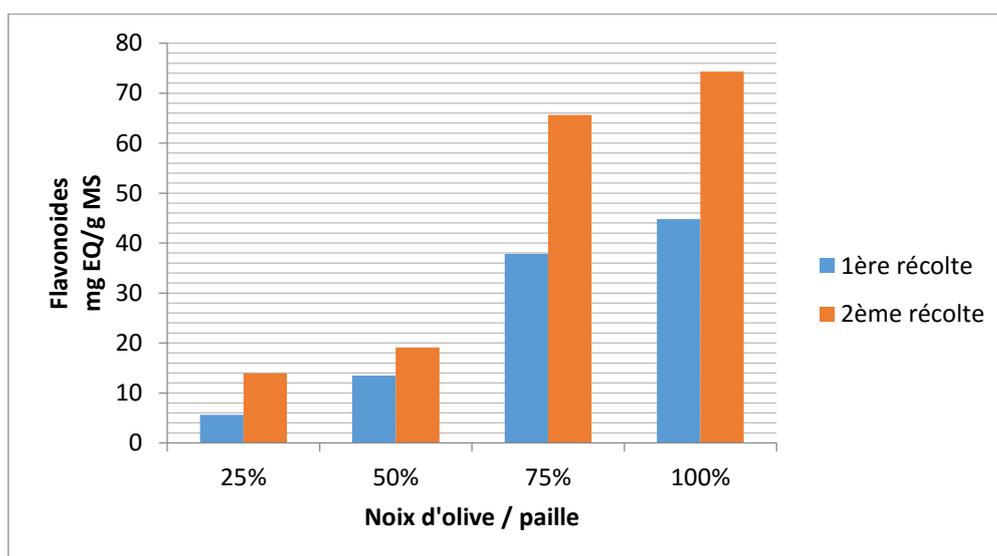
|                          | Pourcentage de noix d'olive |       |       |       |
|--------------------------|-----------------------------|-------|-------|-------|
|                          | 25%                         | 50%   | 75%   | 100%  |
| 1 <sup>ère</sup> récolte | 5,65                        | 13,48 | 37,82 | 44,78 |
| 2 <sup>ème</sup> récolte | 13,91                       | 19,13 | 65,65 | 74,35 |

**Tableau 16** : Teneur en FT des champignons cultivé sur la paille (mg EC/g MS).

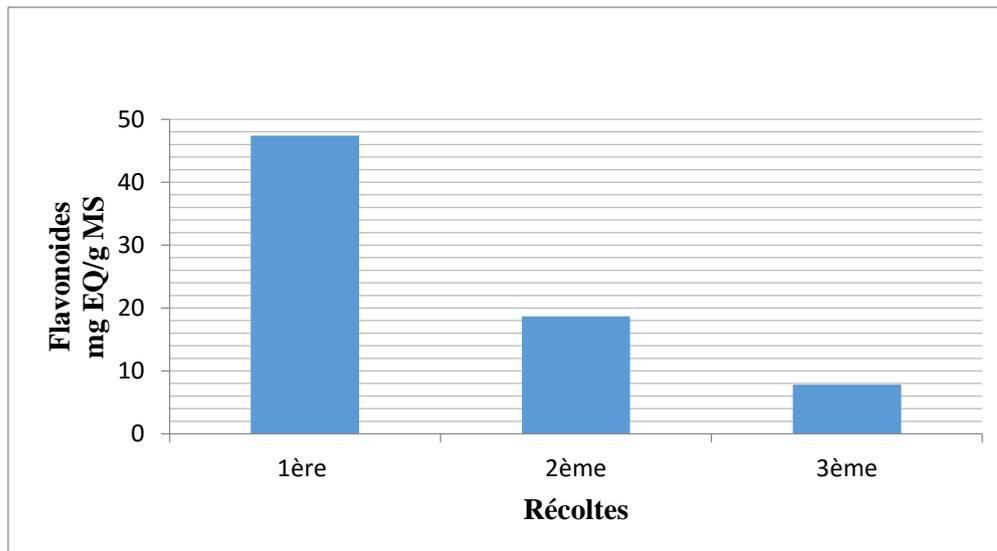
|                     | 1 <sup>ère</sup> récolte | 2 <sup>ème</sup> récolte | 3 <sup>ème</sup> récolte |
|---------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| <b>Teneur en FT</b> | 47,39                    | 18,69                    | 7,825                    |



**Figure 34:** Teneur en FT des champignons cultivé sur différents mélange de grignon d'olive avec la paille (mg EC/g MS).



**Figure 35:** Teneur en FT des champignons cultivé sur différents mélange de noix d'olive avec la paille (mg EC/g MS).



**Figure 36:** Teneur en FT des champignons cultivé sur la paille (mg EC/g MS).

Pour le substrat de grignon d'olives le mélange de 25% a la meilleur teneur avec augmentation d'une récolte à une autre 15,22 ; 20,00 et 19,56  $\mu\text{g EC/g MS}$  respectivement pour la 1<sup>ère</sup>, 2<sup>ème</sup> et la 3<sup>ème</sup> récolte.

Pour les mélanges 50% et 75% qui ont enregistré des teneurs respectives de 10,87 et 18,69  $\mu\text{g EC/g MS}$  pour la 1<sup>ère</sup> récolte mais cette teneur a diminué dans la 2<sup>ème</sup> récolte et cela en enregistrant des teneurs en Flavonoïdes totaux de l'ordre de 9,56 et 11,74  $\mu\text{g EC/g MS}$  par contre nous avons enregistré une augmentation à la 3<sup>ème</sup> récolte en ayant des teneurs de 16,52 et 15,65  $\mu\text{g EC/g MS}$  ce qui est l'inverse pour les mélanges de 25 et 100%.

Pour les noix d'olives la 2<sup>ème</sup> récolte représente les meilleurs teneur en flavonoïdes avec une augmentation de la fraction du noix par rapport à celle de la paille. Cette teneur passe de 5,65, 13,48, 37,82 et 37,82  $\mu\text{g EC/g MS}$  pour la 1<sup>ère</sup> récolte à 13,91, 19,13, 65,65 et 74,35  $\mu\text{g EC/g MS}$  dans la 2<sup>ème</sup> récolte pour les concentrations respectives de 25 ; 50 ; 75 et 100% de noix d'olive dans son mélange avec la paille.

Les concentrations des flavonoïdes dans la paille diminuent de plus que la moitié en passant d'une récolte à une autre 47,39 ; 18,69 et 7,825  $\mu\text{g EC/g MS}$  respectivement pour chaque récolte (1<sup>ère</sup>, 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> récolte).

**Wong et al.(2013)** ont trouvé une teneur de flavonoïdes  $0,48 \pm 0,04$  et  $0,17 \pm 0,02$  mg EC/g MS respectivement pour *Pleurotus eryngii* et *Pleurotus florida*, et ces teneurs étaient nettement inférieurs à ceux enregistrés pour d'autres champignons à savoir *Auricularia polytricha* ( $6,95 \pm 0,14$  mg EC/g MS) et *Hypsizygus tessulatus* ( $1,04 \pm 0,10$  mg EC/g MS).

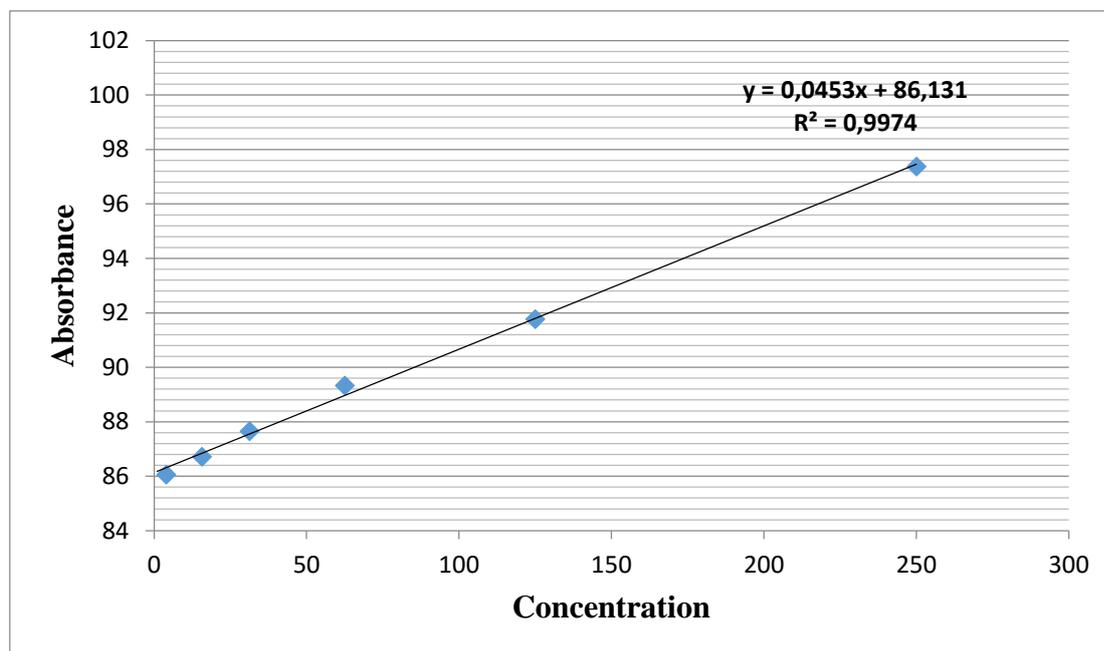
Dans le travail réalisé par **Bag et al. (2015)** la teneur des flavonoïdes dans les extraits aqueux de carpophore de *P. ostreatus* ayant poussés sur le marc de café ( $0,133 \pm 0,042$  mg EC/g MS) est faible par rapport à nos résultats. De même, l'extrait de *P. ostreatus* ayant poussé sur un mélange de substrats a montré aussi de faibles teneurs en FVT et ceci en enregistrant des teneurs de  $0,798 \pm 0,060$   $\mu\text{g}$  EC/g MS.

#### IV.4 Activité antioxydante

L'activité antioxydante est mesurée à l'aide du DPPH (2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl) de couleur violette, qui, en présence d'un antioxydant dit piègeur de radicaux libres, se réduit en 2,2- Diphényle-1-picryl hydrazine de couleur jaune ce qui provoque la diminution de l'absorbance mesurée à une longueur d'ondes de 517nm.

Les résultats de pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH calculés selon la formule citée dans la partie matériels et méthodes et ils sont représentés par des graphes.

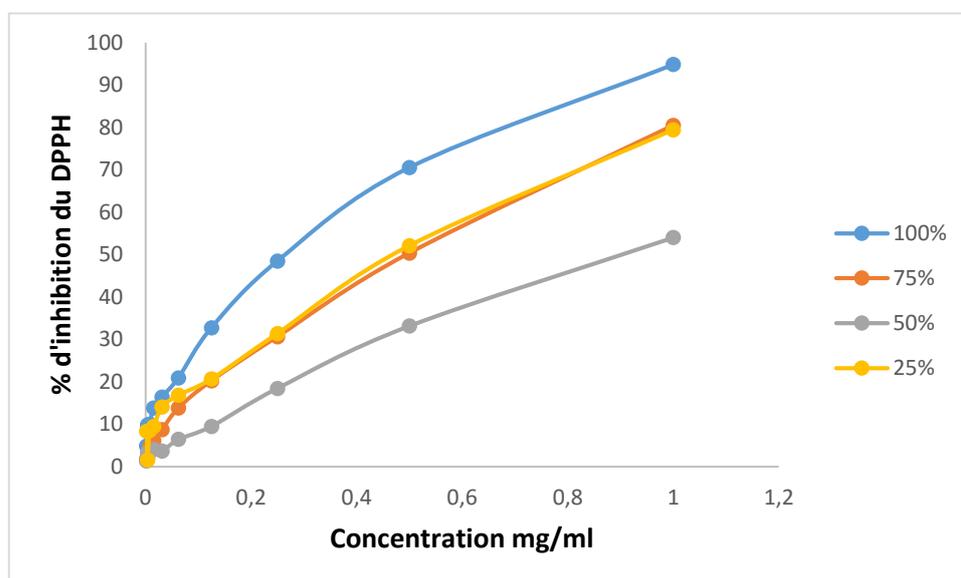
La **figure 37** représente la courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique en fonction des concentrations.



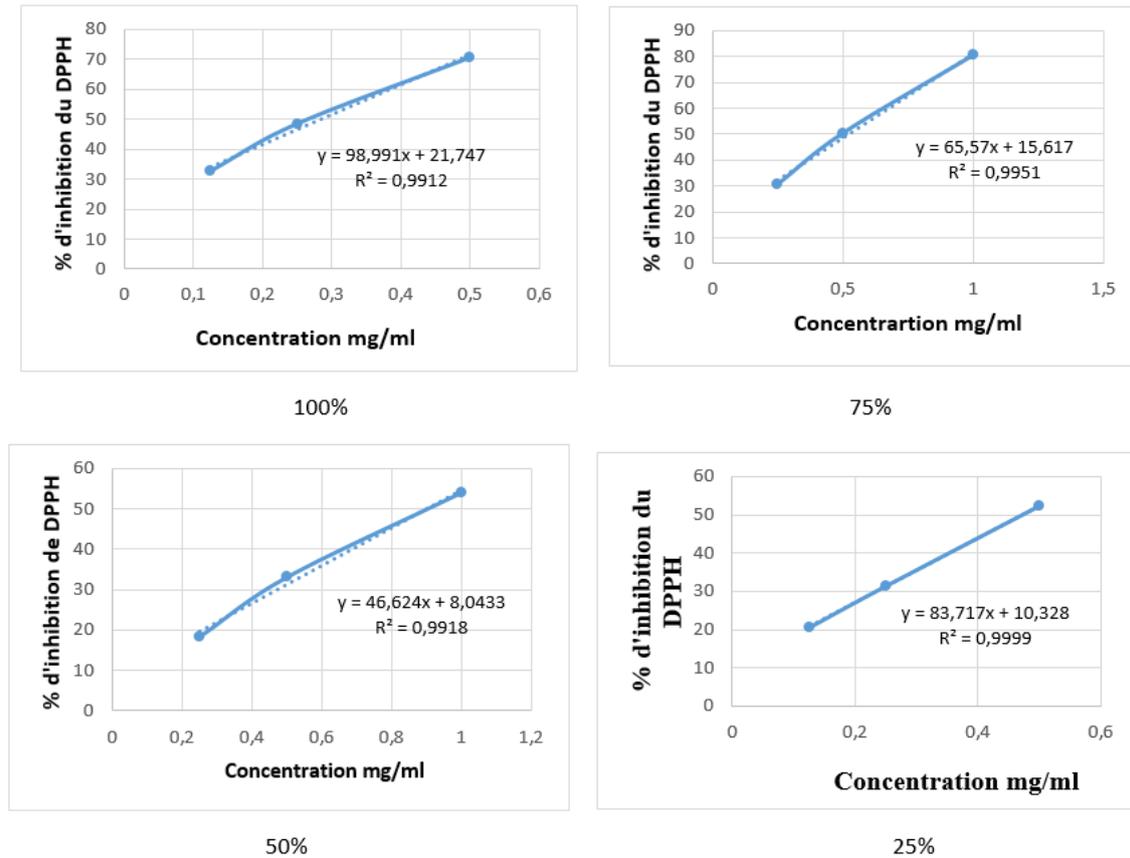
**Figure 37 :** Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique.

L'activité antioxydante des extraits est exprimée en  $IC_{50}$ . Athamena (2009) définit  $IC_{50}$  comme étant la concentration efficace d'un composé qui cause la perte de 50% de l'activité du radical DPPH.

Les pourcentages d'inhibition du radical DPPH par l'extrait des champignons cultivé sur mélange de grignon d'olive à différents pourcentage avec de la paille, sont représentés dans les **figures 38, 40 et 42** et les valeurs d'IC<sub>50</sub> sont représentés dans les **figures 39, 41 et 43**.

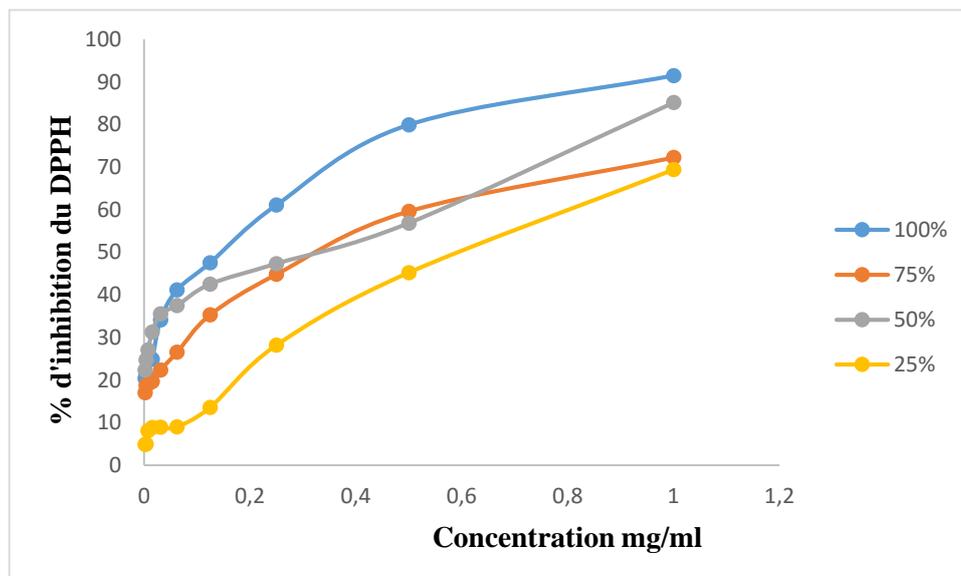


**Figure 38 :** Pourcentage d'inhibition du DPPH par l'extrait de la 1<sup>ère</sup> récolte de *Pleurotus ostreatus* cultivé sur un mélange de grignon d'olive et de la paille.

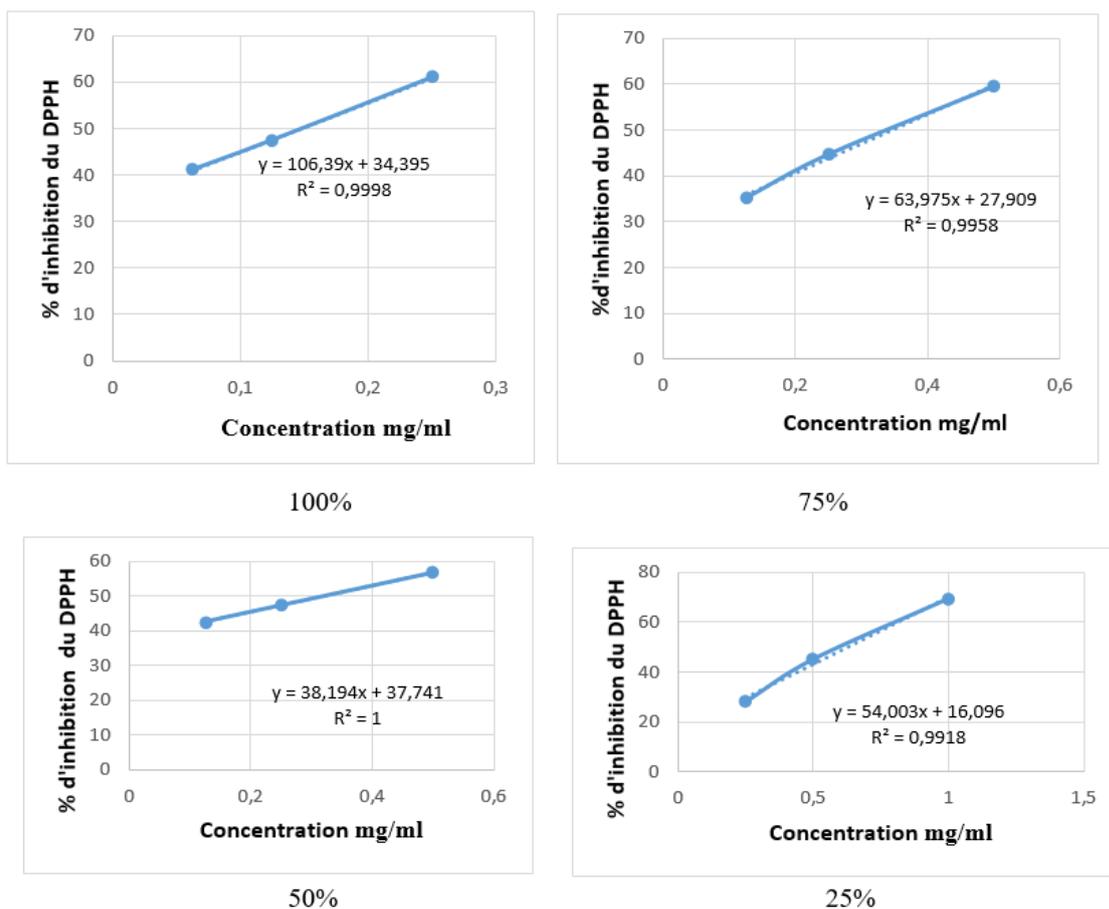


**Figure 39 :** Valeurs des  $IC_{50}$  de la première récolte de *P. ostreatus* cultivé sur des mélanges de grignon d'olive à différents pourcentage.

Les valeurs d' $IC_{50}$  mélange de grignon d'olive à différente pourcentage et paille pour la 1<sup>ère</sup> récolte sont : 0,2854, 0,5243, 0,8998 et 0,4738 mg/ml respectivement pour 100, 75, 50 et 25%.

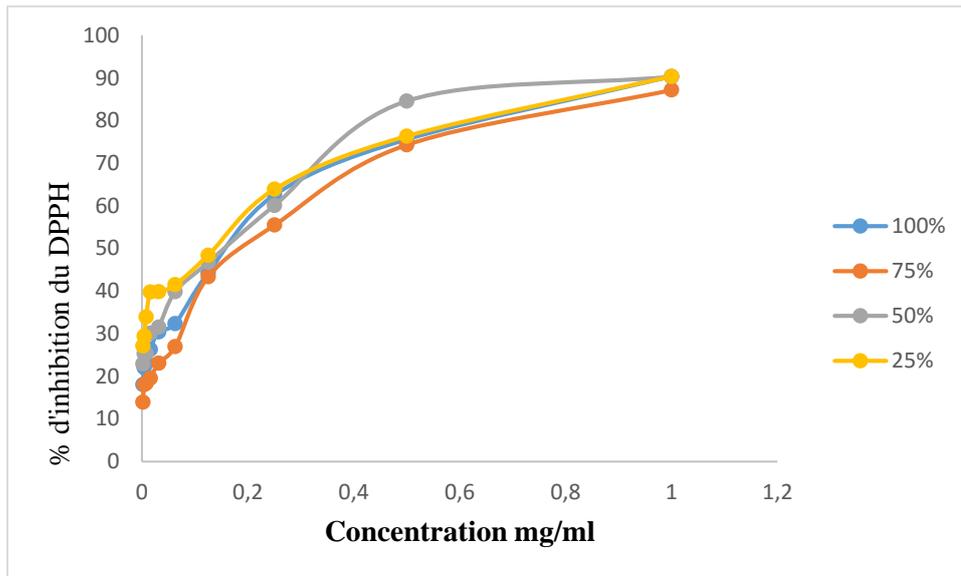


**Figure 40 :** Pourcentage d'inhibition du DPPH par l'extrait de la 2<sup>ème</sup> récolte de *Pleurotus ostreatus* cultivé sur mélange de grignon d'olive et de la paille.

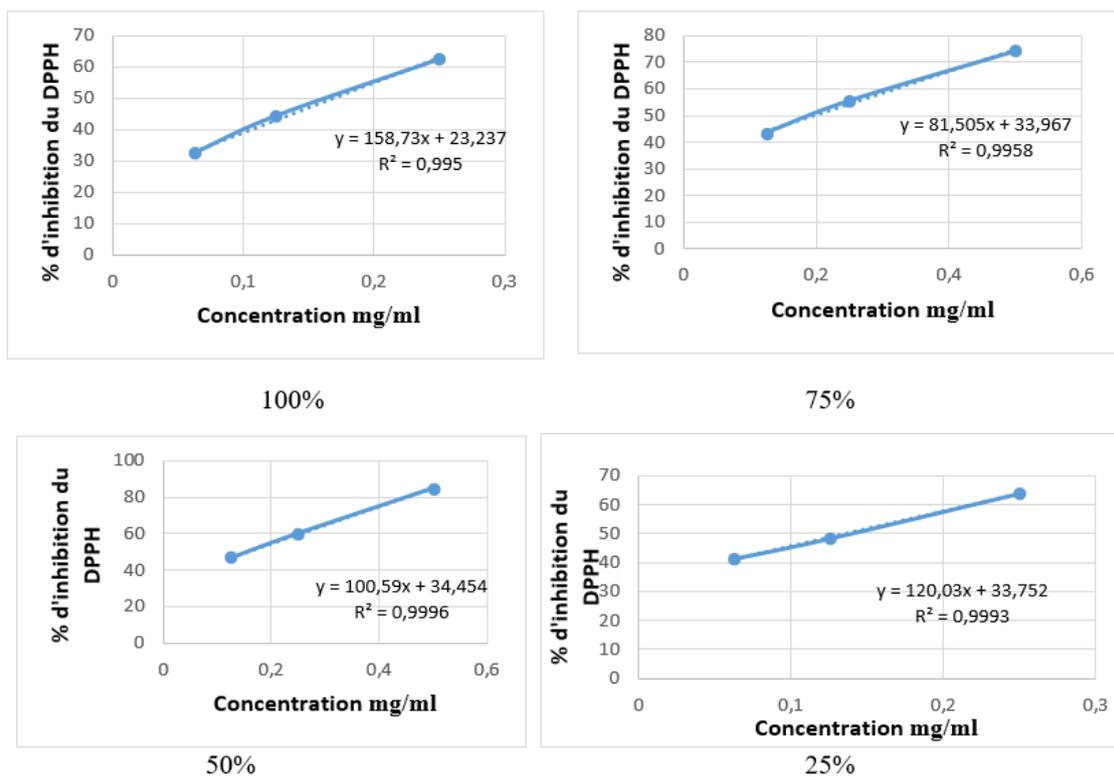


**Figure 41 :** Valeurs d'IC<sub>50</sub> de la 2<sup>ème</sup> récolte de *P. ostreatus* cultivé sur des mélanges de grignon d'olives à différents pourcentages.

Les valeurs d'IC<sub>50</sub> des mélanges de grignon d'olive à différents pourcentages avec de la paille pour la 2<sup>ème</sup> récolte sont de 0,1466, 0,3453, 0,3209 et de 0,6278 mg/ml respectivement pour 100, 75, 50 et 25%.



**Figure 42 :** Pourcentage d'inhibition du DPPH par l'extrait de la 3<sup>ème</sup> récolte de *Pleurotus ostreatus* cultivé sur mélange de grignon d'olive et de la paille.



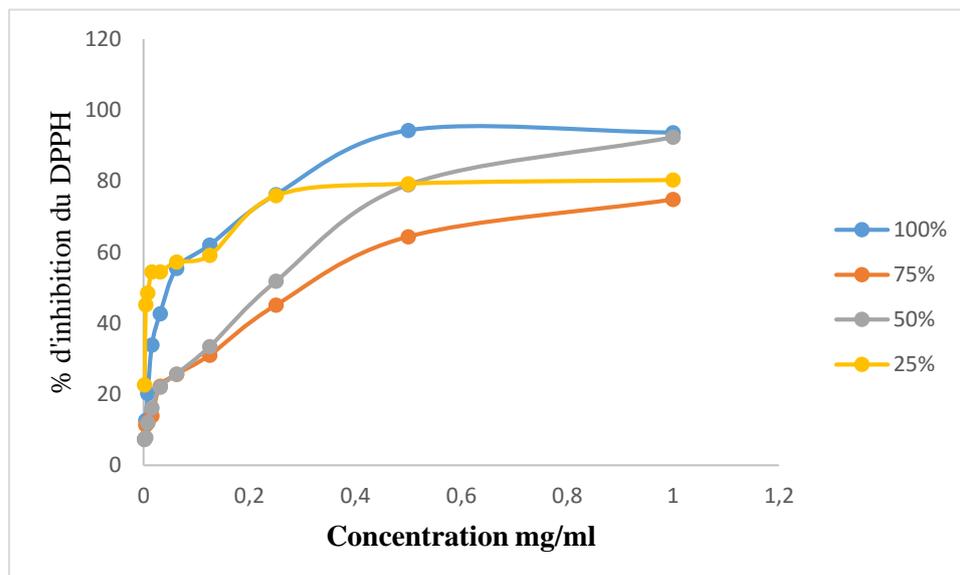
**Figure 43 :** Valeurs des IC<sub>50</sub> de la 3<sup>ème</sup> récolte de *P. ostreatus* cultivé sur des mélanges de grignon d'olive à différents pourcentage.

Les valeurs des  $IC_{50}$  de la 3<sup>ème</sup> récolte des pleurotes cultivés sur des mélanges de grignon d'olive à différents pourcentages avec la paille sont de 0,1686, 0,1967, 0,1545 et 0,1353 mg/ml respectivement pour 100, 75, 50 et 25%.

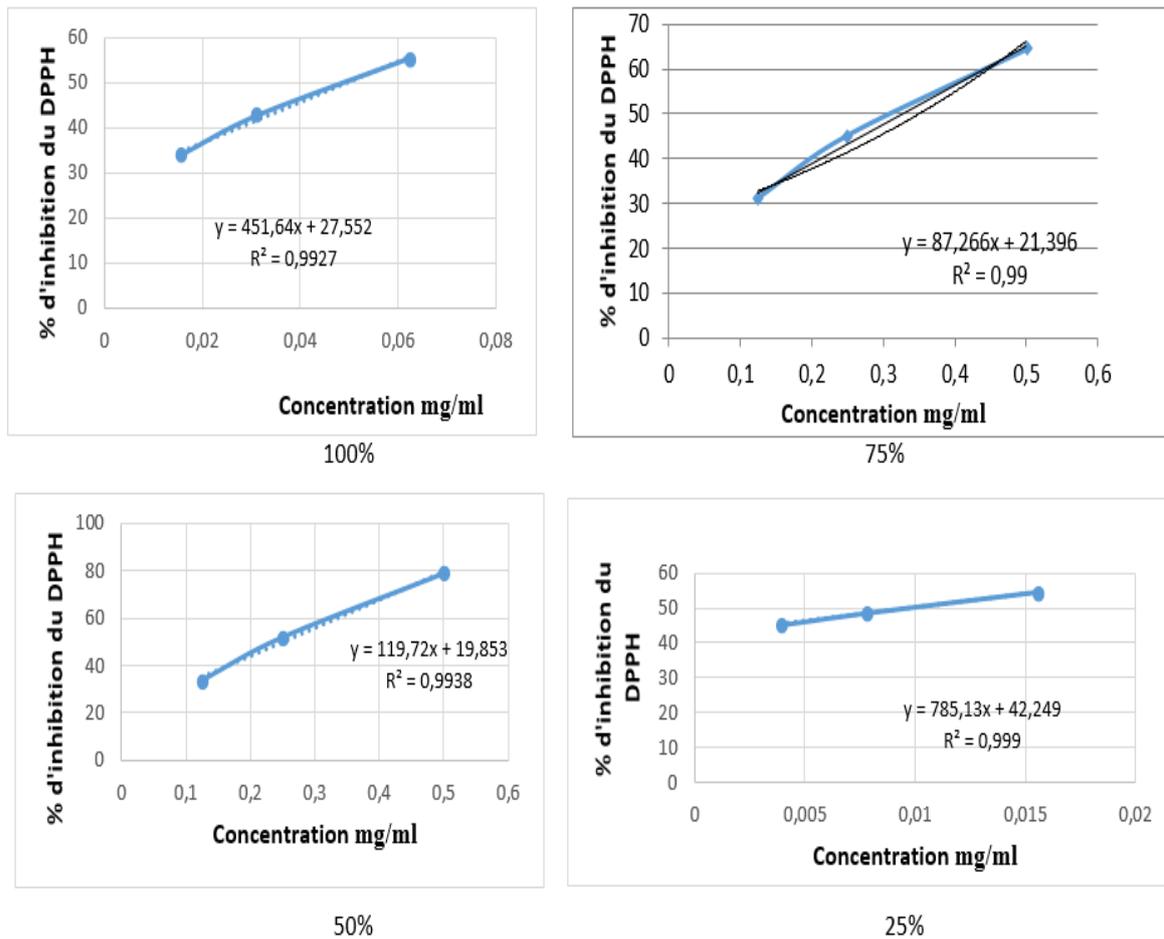
Pour le substrat grignon d'olive le mélange 100% (1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> récolte) est riche en antioxydants ce qui est traduit par un bon pourcentage de piégeage du radical de DPPH en atteignant une hauteur de 91%.

Pour ce qui est de la 1<sup>ère</sup> récolte des concentrations de 75 et 25% ont une activité antioxydante identique. Par contre les concentrations de 75, 50 et 25% de 2<sup>ème</sup> récolte ont donné une activité décroissante. Les quatre pourcentages de la troisième récolte, ont presque donné les mêmes pourcentages d'inhibitions du radical DPPH.

Les pourcentages d'inhibition du radical DPPH par l'extrait des champignons cultivés sur un mélange de noix d'olive à différents pourcentage avec la paille, sont représentés dans les **figures 44 et 46** et valeurs les  $IC_{50}$  sont représentées dans les **figures 45,47**.

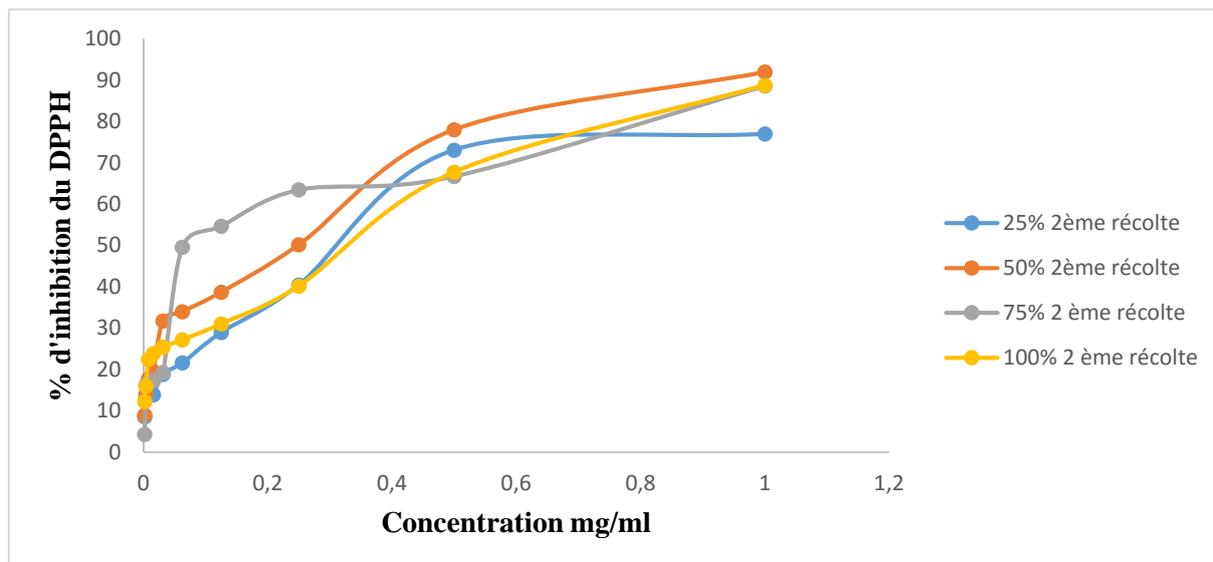


**Figure 44 :** Pourcentage d'inhibition du DPPH par l'extrait de la 1<sup>ère</sup> récolte de *Pleurotus ostreatus* cultivé sur mélange de noix d'olive et de la paille.

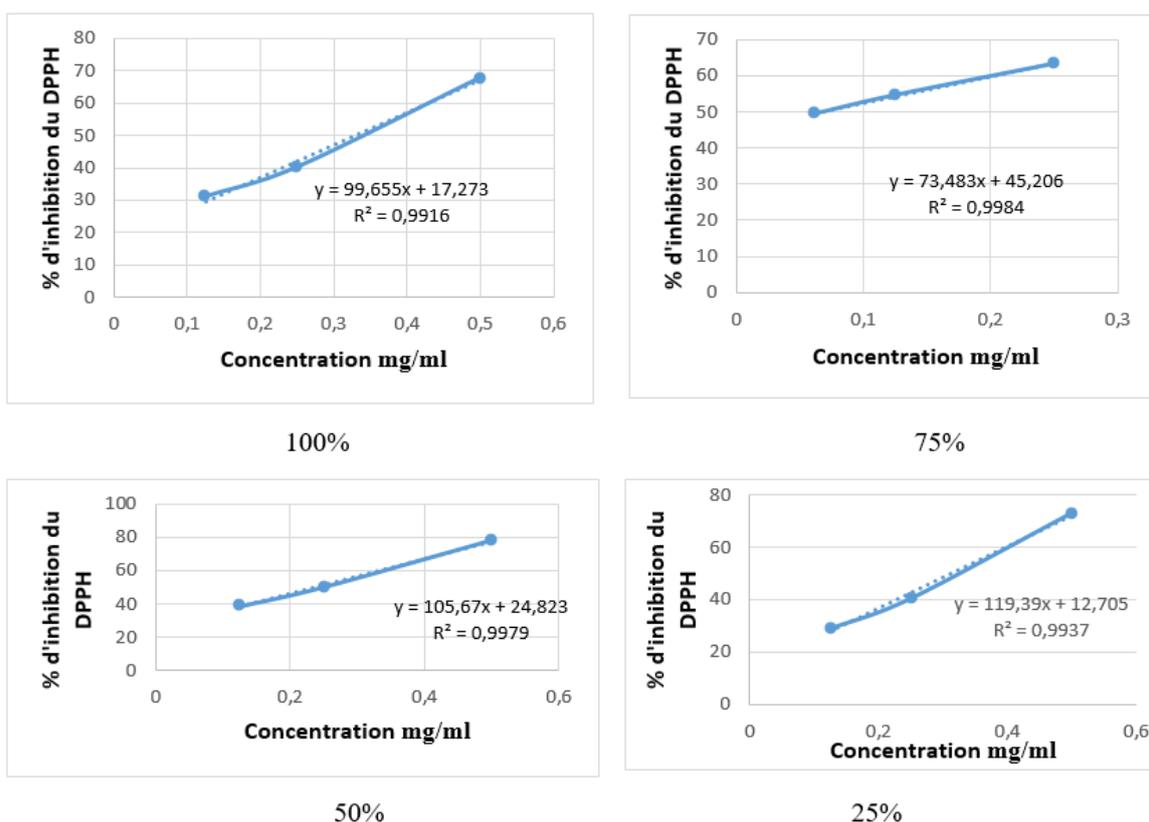


**Figure 45 :** Valeurs des IC<sub>50</sub> de la première récolte de *P. ostreatus* cultivé sur des mélanges des noix d'olive à différents pourcentage.

Les valeurs des IC<sub>50</sub> des mélanges de noix d'olive à différente pourcentage et de la paille pour la 1<sup>ère</sup> récolte sont de 0,0497, 0,3277, 0,2518 et 0,0098 mg/ml respectivement pour 100, 75, 50 et 25%.



**Figure 46 :** Pourcentage d'inhibition du DPPH par l'extrait de la 2<sup>ème</sup> récolte de *Pleurotus ostreatus* cultivé sur des mélanges des noix d'olive à différents pourcentage.



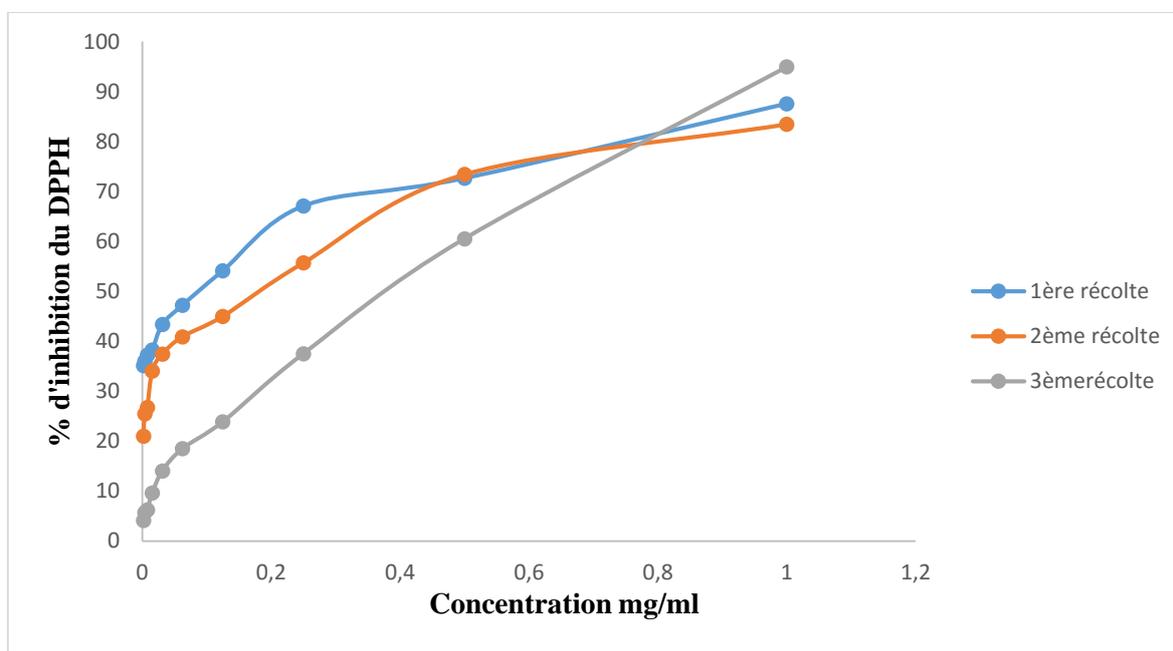
**Figure 47 :** Valeurs des IC<sub>50</sub> de la 2<sup>ème</sup> récolte de *P. ostreatus* cultivé sur des mélanges des noix d'olive à différents pourcentage.

Les valeurs d'IC<sub>50</sub> mélange de noix d'olive à différent pourcentage et paille pour la 2<sup>ème</sup> récolte sont : 0,3284, 0,0652, 0,2382 et 0,3123 mg/ml respectivement pour 100, 75, 50 et 25%.

Pour le substrat noix d'olive 1<sup>ère</sup> récolte figure 44 nous remarquons que 100% il a une grande valeur d'inhibition c'est-à-dire riche en antioxydants ensuite 50%, 25% et 75%.

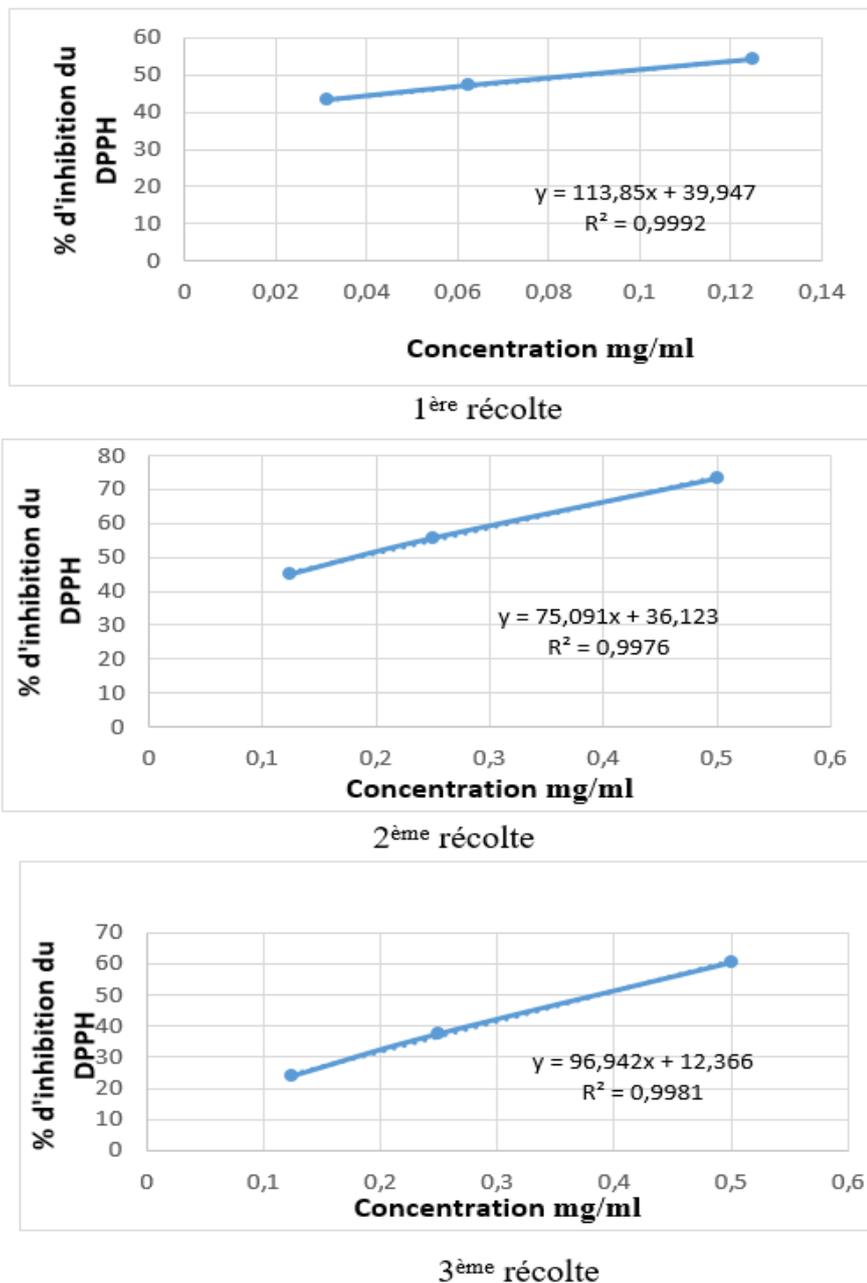
Pour la 2<sup>ème</sup> récolte la valeur la plus élevée est enregistrée pour le pourcentage 50% ensuite 100% et 75% puis 25% a donné la valeur minimale.

Les pourcentages d'inhibition du radical DPPH par l'extrait des champignons poussé sur 100% paille, sont représentés dans la figure 48 et valeurs d'IC<sub>50</sub> sont représentées dans la figure 49.



**Figure 48 :** Pourcentage d'inhibition du DPPH par les extraits a 1<sup>ère</sup>, 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> récolte de *Pleurotus ostreatus* cultivé sur de la paille.

Pour le substrat de paille l'efficacité de la 3<sup>ème</sup> récolte a été nettement supérieure à piéger le radical DPPH suivie par la 1<sup>ère</sup> récolte et la 2<sup>ème</sup> récolte a été classé en dernière position.



**Figure 49 :** Valeurs des IC<sub>50</sub> des trois récoltes des *P. ostreatus* cultivé sur de la paille.

Les valeurs d'IC<sub>50</sub> de champignon cultivé sur la paille sont : 0.0883 ; 0.1848 ; 0.3882 mg/ml respectivement pour la 1<sup>ère</sup>, 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> récolte.

En Comparant les résultats d'inhibition du radical DPPH des différents substrats (grignon et noix d'olive) avec de la paille nous avons remarqué que les extraits de *Pleurotus ostreatus* cultivé sur le grignon d'olive quel que soit de la 1<sup>ère</sup>, 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> récolte ont démontré un

pourcentage d'inhibition du radical DPPH plus élevé que ceux de la paille. Nous avons remarqué aussi que l'extraits de la première récolte de *Pleurotus ostreatus* cultivé sur noix d'olive a presque la même valeur d'inhibition du radical DPPH que celle de la 3<sup>ème</sup> récolte de la paille, et de même entre la 2<sup>ème</sup> récolte des noix d'olives et la 1<sup>ère</sup> récolte de la paille.

Dans une étude menée par **Chirinang et Intarapichet (2009)** sur deux espèces de pleurotes, ils ont trouvé une activité antioxydante plus élevée de *P. ostreatus* par une IC<sub>50</sub> de 11,56 mg/ml que celle de *P. sajor-caju* 13,38 mg/ml et même l'extrait éthanolique de *P. ostreatus* a également exercé une activité supérieure à celui de *P. sajor-caju* et ceci en enregistrant des IC<sub>50</sub> respectives de 31,75 et 58,44 mg/ml.

✓ *Conclusion*

Cette étude a porté sur l'étude de quelques métabolites secondaires et de l'activité antioxydante, des extraits d'une souche locale de *P. ostreatus*, utilisée pour valoriser 3 résidus agricoles, le grignon d'olive, les noix d'olive et la paille de blé.

L'étude quantitative des polyphénols totaux par la méthode de dosage à l'aide du réactif de Folin-Ciocalteu, dosage des flavonoïdes totaux à l'aide du réactif  $AlCl_3$ , les champignons cultivé sur différents mélange de grignon d'olive avec la paille représente les teneurs les plus élevés en polyphénols, les champignons cultivé sur différents mélange de noix d'olive avec la paille contiennent une grande quantité de flavonoïdes. Le potentiel anti-radicalaire des extraits a été mesuré par la méthode DPPH, et les résultats ont montré que ces extraits ont une bonne activité.

Le champignon *P. ostreatus*, poussé sur différents résidus agricoles est plus riche en antioxydants que celui cultivé sur la paille.

La culture du pleurote sur des résidus agricoles est un bel exemple d'une double efficacité, la première est la valorisation des sous-produits de l'agroalimentaires et la seconde l'obtention de champignons riches en antioxydants naturels.

Sachant que de nombreux déchets agricoles sont disponibles dans notre pays, il faut les exploiter afin de cultiver cette espèce de champignon à moindre prix et la rendre la plus disponible possible.

Cette étude ouvre de nombreuses perspectives dont parmi nous citons :

- Faire des tests antibactériens des extraits.
- compléter ces résultats par d'autres tests complémentaires.
- Identifier les molécules actives du Pleurote en relation avec ces substrats de culture et vérifier leurs activités in vitro et in vivo.
- Travailler avec d'autres solvants d'extraction.
- Lancer des tests sur d'autres types de champignons

✓ *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.
- **Ajmia Chouchene.** Etude expérimentale et théorique de procédés de valorisation de sous-produits oléicoles par voies thermique et physico-chimique. *Alimentation et Nutrition*. Université de Haute Alsace - Mulhouse, 2010. Français
- **Al-Jubori, M., Hassan, A. A., & Al-Bahrani, R. (2016).** Evaluation of antioxidant for *Agaricus bisporus* and different strains of *Pleurotus ostreatus*. *Iraqi J Sci*, 57, 316-324.
- **Apak R., Güçlü K., Demirata B., Özyürek M., Çelik S., Bektaşoğlu B., Berker K. And Özyurt D. (2007).** Comparative evolution of various total antioxidant capacity assays Artaud Monique. L'olivier et ces contributions dans la prévention et le traitement du syndrome métabolique, 06-07.
- **Argenson C., Régis S., Jourdain, J.M. et Vaysse P., 1999 .** L'olivier. Ed. Centre technique interprofessionnel des fruits et légumes , 204 p.
- **Athamena S. 2009.** Etude quantitative des flavonoïdes des graines de *Cuinumcyminum* les feuilles de *Rosmarinus officinalis* et l'évaluation de l'activité biologique. Mém . de magister : Biochimie Appliquée. Faculté des Sciences de l'Université El-HADJ LAKHDAR Batna.
- **Azbar N., Bayram A., Filibeli A., Muezzinoglu A., SENGUL F. et OZER A. 2004.** *A Review of Waste Management Options in Olive Oil Production*. Ed. Taylor & Francis. Journal: *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* Volume 34, Number 3 / May-June 2004. Page: 209-247.
- **Bag G.C, Grihanjali D.P, Bhaigyabati T. 2015.** Assessment of total flavonoid content and antioxidant activity of methanolic rhizome extract of three *hedychium* species of manipur valley. *International Journal of Pharmaceutical sciences Review and Research*. vol. 30, no 28, p.154-159.
- **Barron, G. 1999.** *Mushrooms of Ontario and Eastern Canada* : 1-336. Lone Pine Publishing, Vancouver.
- **Barros L, Falcão S, Baptista P, Freire C, Vilas-Boas M, Ferreira ICFR (2008)** Antioxidant activity of *Agaricus* sp. Mushrooms by chemical, biochemical and electrochemical assays. *Food Chem* **111**, 61–6.

- **Barros L, Ferreira M-J, Queirós B, Ferreira ICFR, Baptista P (2007)** Total phenols, ascorbic acid, carotene and lycopene in Portuguese wild edible mushrooms and their antioxidant activities. *Food Chem* **103**, 413–9.
- **Benhayoun G. et Lazzerie Y.** 2007. L'olivier en Méditerranée Du symbole à l'économie. Ed. L'harmattan. 135p
- **Bennai, D., Taftist, D., Zedek, S., Abdellaoui, R., Boukhiar, A., & Benamara, S. (2019).** Analyse préliminaire du processus traditionnel de production d'huile d'olives appliqué dans certaines régions de Kabylie (nord algérien).
- **Benyahia N. et Zein K. 2003.** Analyse des problèmes de l'industrie de l'huile d'olive et solutions récemment développées.
- **Blandeau E.2012.** *Etat des lieux du potentiel anticancéreux de neuf champignons macroscopiques*. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie: Département de pharmacie d'Anger.
- **Blois, M. S. (1958).** Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, *181*(4617), 1199-1200.
- **Boa, E. R. (2006).** Champignons comestibles sauvages : vue d'ensemble sur leur importance pour les populations (vol. 17). Food and Agriculture Org.
- **Boskou, D. 2008.** Olive oil: minor constituents and health. Taylor & Francis Group. 248p.
- **Bouchet P., Guignard J.L., Pouchus Y.F., Villard J., 2005** – Les champignons. Mycologie fondamentale et appliquée. Ed. Masson. 2 ème édition. 191 p.
- **B. Bozin, N. Mimica-Dukic, I. Samojlik, A. Goran and R. Igic,** Phenolics as antioxydants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae), *Food Chemistry*, *111*: (2008) P. 925-929.
- **Carlile, M. & Watkinson, S. C. (1989).** The Fungi. Academic Press, London.
- **Cheung PCK. (2008)** Mushroom as functional foods. John Wiley and Sons .
- **Chirinang, P., & Intarapichet, K. O. (2009).** Amino acids and antioxidant properties of the oyster mushrooms, *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju*. *Science Asia*, *35*(2009), 326-331.
- **Chiu SW, Chan YH, Law SC, Cheung KT, Moore D (1998)** Cadmium and manganese in contrast to calcium reduce yield and nutritional values of the edible mushroom *Pleurotus pulmonaries*. *Mycol Res* **102**, 449–57.

- **Christian de Carné Carnavalet** , Agriculture biologique une approche scientifique 2<sup>ème</sup> édition.
- **C.O.I. 2011** : Conseil Oléicole International : Norme commerciale applicable aux huiles d'olive et aux huiles de grignons d'olive.
- **Constantin M.J.** ATLAS DES CHAMPIGNONS : COMESTIBLES ET VENENEUX Edité par LIBRAIRIE GENERALE DE L'ENSEIGNEMENT, 1941.
- **Courtecuisse R. et Duhem B., 2000** – Guide des champignons de France et d'Europe. Ed. Delachaux et Niestlé. 476 p.
- **Cronquist A. et Takhtadzhi a ñ A. L., 1981.** An integrated system of classification of flowering plants. Columbia university press.
- **Deepalakshmi, K., & Mirunalini, S. (2014).** Assessment of in vitro antioxidant and antimicrobial properties of cultivated *Pleurotus ostreatus*: An edible mushroom. *Free Radicals and Antioxidants*, 4(2), 27-32.
- **Deepalakshmi, K., & Sankaran, M. (2014).** *Pleurotus ostreatus*: an oyster mushroom with nutritional and medicinal properties. *Journal of Biochemical Technology*, 5(2), 718-726.
- **De Casas R.R., Besnard G., Schönswetter P., Balaguer L. et Vargas P.,2006.** Extensive gene flow blurs phylogeographic but not phylogenetic signal in *Olea europaea* L. *Theoretical and Applied Genetics*, 113(4), 575-583.
- **Delmas, J., 1989,** Les champignons et leur culture. Culture actuelle et potentielle des champignons supérieurs, La Maison Rustique, Paris, 969 p.
- **Després, J. (2012).** *L'univers des champignons*. Les Presses de l'Université de Montréal.
- **Díaz-Godínez and C. Sánchez, G. (2002).** In situ digestibility and nutritive value of maize straw generated after *Pleurotus ostreatus* cultivation. *Canadian journal of animal science*, 82(4), 617-619.
- **D.S.A. 2010.** Statistiques agricoles: l'oléiculture. D.S.A. Batna.
- **Ducomet, V. (1907).** *Recherches sur le développement de quelques champignons parasites à thalle subcuticulaire* (No. 4). Impr. Guillemin et Voisin.
- **Enneb H., Belkadhi A., Cheour F. & Ferchichi A. (2015).** Comparaison des composés phénoliques et du pouvoir antioxydant de la plante de henné (*Lawsonia inermis* L.). *Journal of New Sciences, Agriculture and Biotechnology* 20 (2), 788-793.
- **Fiestas Ros de Ursinos, J.A., Borja R. (1992)** Use and traetement of olive mill wastewater : Current situation and prospects in Spain. *Grasas y Aceites*. 2:101-106.

- **Garcia-Ibañes P., Sáchez M., Cabanillas A. (2006)** Thermogravimetric analysis of oliveoil residue in air atmosphere. *Fuel Processing Technology* **87**, 103-107.
- **Ghestem A., Seguin E., Paris M. and Orecchioni A.M. (2001).** Le préparateur en pharmacie dossier 2èmeEd TEC&DOC. (cited in Djemai Zoueglache S, 2008). Paris. pp 275.
- **Gigon, F., & Le Jeune, R. (2010).** Huile d'olive, *Olea europaea* L. *Phytothérapie*, 8(2), 129-135.
- **Green, P. S., Wickens, G. E., Tan, K., Mill, R. R., & Elias, T. S. (1989).** The *Olea europaea* complex. The Davis and Hedge Festschrift.
- **Heller W, Forkmann G. The flavonoids. Advances in research since 1986.** In Harborne JB. Secondary Plant Products. Encyclopedia of plant physiology. Ed. Chapman & Hall, London, 1993, 399-425.
- **Hermeso M, Uceda M,Garcia A,Morales J ,Ferias LY,Fernandez A (1991).**Elaboracion de aceite de oliva decalidad.5/91Apuntes.Junta de andalucia .Consejeria.
- **Johnson, NC; Graham, JH; Smith, FA (1997).** "Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism–parasitism continuum". *New Phytologist*. **135 (4)**
- **J.Zhishen, T.Mengcheng, W.Jianming, "The determination of flavonoid contents inmulberry and their scavenging effects on superoxide radicals" J Food Chem,1999, Vol. (64),page : 555.**
- **knudsen henning et petersen. jen h.les champignons dans la nature. France.(2005).**delachaux la niestlé.p307.
- **Lambert M. 1993 - L'olivier et la préparation des olives en provence.** Ed. SCEP, Nice, 57p.
- **L. Munk, A. K. Sitarz, D. C. Kalyani, J. D. Mikkelsen, and A. S. Meyer, "Can laccases catalyze bond cleavage in lignin?," *Biotechnol. Adv.*, vol. 33, no. 1, pp. 13–24, 2015.**
- **Lutzoni F; et al. (2004).** "Assembling the fungal tree of life: progress, classification, and evolution of subcellular traits". *American Journal of Botany*. **91 (10)**.
- **Madelin, T. M. (1994).** Fungal aerosols: a review. *Journal of aerosol science*, 25(8), 1405-1412.
- **Manallah A. (2012).** Activités antioxydant et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea* L. Mémoire de Magister, Université Ferhat Abbas- sétif, 87p.

- **Mansour-Benamar M.2016.***Valorisation des résidus agricoles par la culture de deux souches de champignons comestibles de genre pleurotus.*Thèse.D.E.S.B : Biologie végétale : Faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques.
- **Maziero, R., Bononi, V. L., & Capelari, M. (1992).** Cultivo e produtividade de *Pleurotus ostreatus* var. Florida em Mogi das Cruzes, SP, Brasil. Sao Paulo: Hoehnea
- **Monika Gasecka<sup>1</sup> · Miroslaw Mleczek<sup>1</sup> · Marek Siwulski<sup>2</sup> · Przemyslaw Niedzielski<sup>3</sup> 2015** Phenolic composition and antioxidant properties of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii* enriched with selenium and zinc ,DOI 10.1007/s00217-015-2580-1
- **Mueller, G. M., & Schmit, J. P. (2007).** Fungal biodiversity: what do we know? What can we predict?. *Biodiversity and conservation*, 16(1), 1-5
- **Muzzalupo, I. 2012.** Olive Germplasm: The Olive Cultivation, Table Olive and Olive Oil Industry in Italy. Botanical Description. Books on Demand. 24-32.
- **Nefzaoui A. (1984)** Importance de la production oléicole et des sous-produits de l'olivier. *In* : Etude de l'utilisation des sous-produits de l'olivier en alimentation animale en Tunisie.
- **Nefzaoui, A.(1991).** Valorisation des sous -produits de l'olivier. Options Méditerranéennes. Série A. Séminaires Méditerranéens, p:101- 108.
- **Nefzaoui ,A . et Zidani, M .,1988.** Les sous produits de l'olivier (Eds . Ministère de l'Agriculture , Tunisie ) ,136 pp.
- **Nijveldt R.J.,Van Nood .E.,Van Hoorn.D.E.C.,Van Norren K., et VanLeeuwen .P.A.M.(2001).**Flavonoids :a review of probable mechanisms of action and potential applications . *American journal of clinical nutrition* ,74 :418-425.
- **Oei, P., & Nieuwenhuijzen, B. V. (2005).** *La culture des champignons à petite échelle: pleurotes, shiitakes et auriculaires.* Agromisa/CTA.
- **Oreopoulou V. et RUSS W. 2007.** *Utilization of By-Products and Treatment of Waste in the Food Industry.* Springer Science&Business Media, 316p.
- **Pathak R, Joshi N, Dwivedi RR (2009)** Eco-friendly production of *Agaricus bisporus* (linge) imbach (white button mushroom). *Nat Sci* 6:57–60
- **Patouillard, N. (1887).** *Les Hyménomycètes d'Europe: Anatomie générale et classification des champignons supérieurs* (Vol. 1). P. Klincksieck.
- **Pegler, 1987,** « The edible Mushroom of Zambia KEW BULL”, in MUSHROOM NEWSTELLER for the tropics, edition international.

- **Raven P. H., Johnson G. J., Mason K. A., Losos J. B., Singer S. S., 2011.** Biologie. 2ème édition. Ed. De Boeck, Bruxelles, 1406p.
- **Ribéreau-Gayon J., Peynaud E., Sudraud P., Ribéreau-Gayon P., 1968.** Sciences et techniques du vin. Tome 1. *Edition Dunod. Paris.* 671p.
- **Roginsky, V., & LISSI, E. A., 2005-** Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food chemistry*, 92(2), 235-254.
- **Romani, A., Pinelli, P., Cantini, C., Cimato, A., & Heimler, D. (2006).** Characterization of Violetto di Toscana, a typical Italian variety of artichoke (*Cynara scolymus* L.). *Food Chemistry*, 95(2), 221-225.
- **Roussos, S., Perraud-Gaime, I., Lakhar, H., Aouidi, F., Labrousse, Y., Belkacem, N., & Artaud, J. (2009).** Valorisation biotechnologique des sous produits de l'olivier par fermentation en milieu solide.
- **Royse, D. J. 1997.** Specialty mushrooms: consumption, production and cultivation. *Rev. Mex. Mic.* 13: 1–11.
- **Sanchez A., Ysunza F., Beltran-Garcia M. J. & Esqueda M. (2002).** Biodegradation of viticulture wastes by *Pleurotus*: a source of microbial and human food and its potential use in animal feeding. *Agric. Food Chem.* **50**, 2537-2542.
- **Sansoucy R. 1984.** Utilisation des sous-produits de l'olivier en alimentation animale dans le bassin Méditerranéen *étude FAO production et santé animales.* Rome.
- **Senn-Irlet B., Egli S., Boujon C., Kuchler H., Küffer N., Neukom H-P., Roth J-J., 2012.** Protéger et favoriser les champignons. Notice pour le praticien (49), Birmensdorf, Suisse, 12p.
- **Talbi. H, Boumaza. A, El-mostafa. K, Talbi. J, Hilali A. (2015).** Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physicochimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigellasativa* L. (Evaluation of antioxidant activity and physico-chemical composition of methanolic and aqueousextracts of *Nigellasativa* L.). *Mater. Environ. Sci.* 6 (4), p 1111-1117
- **Thaung M. M., 2007.** A preliminary survey of macromycetes in Burma. *Australasian Mycologist*, 26 (1): 16- 36.
- **Tripathi BN, Gaur JP (2004)** Relationship between copper- and zinc-induced oxidative stress and proline accumulation in *Scenedesmus* sp. *Planta* 219:397–404. doi:10.1007/s00425-004-1237-2.

## Références bibliographiques

- **Uceda M., Hermoso, M., Frías, L. 1989.** Factores que influyen en la calidad del aceite de oliva. 1º Simposio Científico-Técnico- Expoliva. Jaén.
- **Veillet, S. (2010).** *Enrichissement nutritionnel de l'huile d'olive: Entre Tradition et Innovation* (Doctoral dissertation, Université d'Avignon).
- **V.L.Singleton, J.R.Rossi,** "Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic – phosphothungstic acid" *Am. J. Enol. Vitic*,1965, Vol. (16), page : 144.
- **Wong, F. C., Chai, T. T., Tan, S. L., & Yong, A. L. (2013).** Evaluation of bioactivities and phenolic content of selected edible mushrooms in Malaysia. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 12(6), 1011-1016.
- **Zied, D.C., Caitano, C.E.C., Pardo-gimenez, A. & Dias, E.S. (2018)** Using of Appropriated Strains in the Practice of Compost Supplementation for *Agaricus subrufescens* Production. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 2, 1–8.

## Résumé

*Pleurotus ostreatus* est un champignon comestible du genre *Pleurotus* de la famille des *Pleurotaceae*, appartenant aux Basidiomycètes. Aujourd'hui il est cultivé sur divers résidus agricoles et agro-industriels. Le dosage des polyphénols totaux (PPT) par la méthode du Folin-Ciocalteu des extraits obtenus par une macération hydrométhanolique de la poudre des échantillons de *Pleurotus ostreatus* ayant poussé sur trois substrats, mélange de grignon d'olive à différents pourcentage avec la paille, mélange des noix d'olive à différents pourcentage avec la paille et des champignons cultivés uniquement sur la paille de blé, a révélé que le résidu de culture de grignon d'olive à différents pourcentage avec la paille a été enrichi en PPT en premier le 25% (22,44 mg EAG/g MS) suivi par le 50% (17,77 mg EAG/g MS) et 75% (12,69 mg EAG/g MS). La teneur des flavonoïdes totaux (FT), estimée à l'aide de la méthode de AlCl<sub>3</sub> montre que la 2<sup>ème</sup> récolte de champignon cultivé sur mélange des noix d'olive à différents pourcentage avec la paille représente le meilleur teneur en flavonoïdes avec une augmentation de la fraction de noix par rapport à celle de la paille. L'activité antioxydante a été mesurée à l'aide du test de piégeage du DPPH, le potentiel antioxydant le plus important est celui du noix d'olive à la concentration de 100% et qui a donné une IC<sub>50</sub> de 0,04 mg/ml.

**Mots clés :** *Pleurotus ostreatus*, substrats de culture, polyphénols totaux, flavonoïdes totaux , activité antioxydante.

## Summary

*Pleurotus ostreatus* is an edible mushroom of the genus *Pleurotus* of the family *Pleurotaceae*, belonging to the Basidiomycetes. Today it is grown on various agricultural and agro-industrial residues. The determination of total polyphenols (PPT) by the Folin-Ciocalteu method of extracts obtained by hydromethanolic maceration of the powder of *Pleurotus ostreatus* samples having grown on three substrates, mixture of olive pomace at different percentages with straw, mixture of olive nuts at different percentages with straw and mushrooms grown only on wheat straw, revealed that the olive pomace culture residue has different percentage with the straw was enriched in TP first the 25% (22.44 mg EAG/g DM) followed by the 50% (17.77 mg EAG/ g DM) and 75% (12.69 mg EAG/g DM). The content of total flavonoids (TF), estimated using the AlCl<sub>3</sub> method shows that the 2nd harvest of mushroom grown on a mixture of olive nuts has different percentages with the straw represents the best content of flavonoids with an increase of the fraction of nuts compared to that of straw.

The antioxidant activity was measured using the DPPH trapping test, the most important antioxidant potential is that of olive nut at a concentration of 100% and which gave an IC<sub>50</sub> of 0.04 mg / ml .

**Key words:** *Pleurotus ostreatus*, culture substrates, total polyphenols, total flavonoids, antioxidant activity.

## المخلص

*Pleurotus ostreatus* هو فطر صالح للأكل من عائلة Pleurotaceae ، وينتمي إلى Basidiomycetes. اليوم يزرع على مختلف المخلفات الصناعية الزراعية.

تحديد البوليفينول الكلي (PPT) بواسطة طريقة Folin-Ciocalteu للمستخلصات التي تم الحصول عليها عن طريق الاستخلاص المائي لمسحوق عينات *Pleurotus ostreatus* بعد أن نمت على ثلاث ركائز ، خليط من ثقل الزيتون له نسب مختلفة مع القش ، خليط من نواة الزيتون بنسب مختلفة مع القش والفطر المزروع فقط على قش القمح ، أظهر أن بقايا زراعة ثقل الزيتون لها نسبة مختلفة مع القش تم إثرائه في PPT أولاً بنسبة 25% (22.44 مغ EAG / غ MS) تليها 50% (17.77 مغ EAG / غ MS) و 75% (12.69 مغ EAG / غ MS).

يوضح محتوى الفلافونويد الكلي (FT) ، المقدر باستخدام طريقة AlCl<sub>3</sub> ، أن الحصاد الثاني للفطر المزروع على خليط من نواة الزيتون له نسب مختلفة مع القش يمثل أفضل محتوى من مركبات الفلافونويد مع زيادة النسبة مقارنة مع القش. تم قياس النشاط المضاد للأوكسدة باستخدام DPPH ، وأهم مضادات الأوكسدة المحتملة هي تلك الموجودة في نواة الزيتون بتركيز 100% والتي أعطت IC<sub>50</sub> , 0.04 مغ / مل.

**الكلمات المفتاحية:** *Pleurotus ostreatus* ، ركائز الزراعة ، مجموع البوليفينول ، مجموع الفلافونويد النشاط المضاد للأوكسدة.