

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la

Recherche Scientifique



Université Constantine 1 Frères Mentouri  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة قسنطينة 1 الاخوة منتوري  
كلية علوم الطبيعة والحياة

**قسم : Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire**

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie

N° d'ordre :

N° Série :

Intitulé :

---

**Etude mycochimique et évaluation de l'activité antioxydante *in vitro*  
et de l'activité antibactérienne du champignon comestible *Laetiporus  
sulphureus* d'Algérie**

---

**Présenté par :** MERGHID Douaa

**Le :** 21/06/2025

HALIMI Sara

**Jury d'évaluation :**

**Présidente :** Dr OUELBANI R. (MCB- Université Constantine 1 Frères Mentouri).

**Encadrant :** Dr TOUMI M.E.S. (MCB - Université Constantine 1 Frères Mentouri).

**Examinatrice :** Dr KHELALFA K. (MCB- Université Constantine 1 Frères Mentouri).

**Année universitaire 2024 - 2025**

## **Remerciements**

*Nous commençons tout d'abord par exprimer notre profonde gratitude à Dr. Toumi Mohammed Es-seddik. Son encadrement, ses conseils avisés et sa disponibilité constante ont été des phares qui ont éclairé notre parcours. Son soutien infaillible a été une source d'inspiration précieuse pour mener ce projet à bien. Nous tenons également à remercier l'ensemble des membres du jury pour leur présence et leur évaluation, un honneur qui nous est cher. Nos remerciements vont aussi aux enseignants et chercheurs du Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBT) pour leur accueil chaleureux, leur encadrement scientifique et leurs échanges enrichissants. Leur expertise et leurs conseils ont été d'un apport inestimable à l'aboutissement de ce travail.*

## *Dédicace*

*Je dédie ce mémoire à mes chers parents bien-aimés, Merci pour votre amour inconditionnel, votre patience et votre soutien sans faille. Vous êtes ma première source d'inspiration et de force. À tous ceux qui ont marché à mes côtés, qui m'ont tendu la main, offert un mot d'encouragement ou un sourire au bon moment, merci du fond du cœur. Votre présence a illuminé mon chemin. À mon cher oncle, qu'Allah lui fasse miséricorde, Ton soutien et ta foi en moi résonnent encore dans mon cœur. Même si tu n'es plus parmi nous, ton souvenir et tes encouragements continuent de me guider chaque jour.*

*Halîmî Sara*

## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail à ma chère  
maman, source d'amour inconditionnel,  
de prières silencieuses et de soutien  
constant.*

*À mon père, pour sa sagesse, sa patience  
et ses encouragements qui m'ont  
toujours guidée.*

*Et à ma sœur, pour sa présence  
réconfortante, ses mots doux et sa  
confiance en moi.*

*Merci de m'avoir toujours crue capable.*

*Merghid Douaa*



### *Liste des abréviations*

<b>ABTS</b>	Acide 2,2'- azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique
<b>Al<sub>3</sub></b>	Atome d'Aluminium
<b>AlCl<sub>3</sub></b>	Chlorure d'aluminium
<b>DPPH</b>	2,2-Dephenyl-1-picrylhydrazyl
<b>Ext-AcEt</b>	L'extrait à l'acétate d'éthyle
<b>Ext-Aq</b>	L'extrait aqueux
<b>Ext-Chl</b>	L'extrait chloroformique
<b>Ext-Hydro- MeOH)</b>	Extrait Hydrométhanolique
<b>FCR</b>	Réactif Folin-Ciocalteu
<b>FeCl<sub>3</sub></b>	Chlorure de fer
<b>FRAP</b>	Ferric ion Reducing Antioxidant Power
<b>FT</b>	Flavonoïdes totaux
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Peroxyde d'hydrogène
<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	Acide sulfurique
<b>IC<sub>50</sub></b>	Concentration Inhibitrice à 50 %
<b>K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub></b>	Persulfate de potassium
<b>MeOH</b>	Alcool méthylique (Méthanol)
<b>NH<sub>4</sub>OH</b>	Hydroxyde d'ammonium
<b>O<sub>2</sub></b>	Oxygène moléculaire
<b>OH<sup>•</sup></b>	Radical hydroxyle OH <sup>•</sup>
<b>PT</b>	Polyphénols totaux
<b>RFLP</b>	restriction fragment length polymorphism
<b>ROS</b>	Espèces réactives à l'oxygène
<b>SOD</b>	Enzyme superoxyde dismutase
<b>TCA</b>	Acide trichloroacétique

## *Listes des figures*

Figure	Légende	Page
1	L'équilibre entre le système pro-oxydant et les antioxydants	4
2	Origine des diverses espèces réactives de l'oxygène et des radicaux libres oxygénés impliqués en biologie	8
3	Schéma de classification des antioxydants et leurs principaux composés.	12
4	Structure de l'inaoside A(1), de 5'-S-methyl-5'-thioadenosine (2) (MTA (2)), de la nicotinamide (3) et de l'adénosine (4) extraits de <i>Laetiporus cremeiporus</i>	14
5	Champignon de genre <i>Laetiporus</i> : <i>Laetiporus cincinnatus</i> et <i>Laetiporus sulphureus</i>	17
6	Champignon Polyporus sulphur ( <i>Laetiporus sulphureus</i> (Bulliard) Murrill. (1920)) source d'image la base de données mycologiques	18
7	Chair de polypore soufré (polypores et genres rattachés	20
8	Répartition géographique de <i>L. sulphureus</i>	23
9	La structure de l'enzyme laccase produit par <i>Laetiporus sulphureus</i>	25
10	Composants antioxydants de <i>Laetiporus sulphureus</i> : Kaempférol (LF-3/3), Acide caféique (LF-3/4), Catéchine (LF-3/5), Acide gallique (LF-3/6), Acide 5-caféyl quinique (LF-3/7)	28
11	Champignon <i>Laetiporus sulphureus</i> sur le tronc d'un arbre d'eucalyptus	30

## *Liste des figures*

12	Évaporation du solvant à l'aide d'un évaporateur rotatif	31
13	Extractions liquide-liquide par des solvants de polarité croissante.	32
14	Mécanisme de la réaction entre le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) et un antioxydant	37
15	L'oxydation de l'ABTS en présence de persulfate de potassium ou d'ammonium par transfert d'électron. La molécule antioxydante peut alors neutraliser le radical formé en donnant un H <sup>+</sup>	39
16	Schéma du mécanisme proposé pour la formation du complexe Fe(II)-phénanthroline en présence d'un antioxydant.	40
17	Mécanisme réactionnel du test de FRAP	41
18	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	48
19	Courbe d'étalonnage de la rutine	49
20	Courbe de la variation du pourcentage d'inhibition du (DPPH <sup>•</sup> ) de extraits de <i>Laetiporus sulphureus</i> et le $\alpha$ -tocophérol (standard) en fonction de la variation de concentration.	53
21	Courbe de la variation du pourcentage d'inhibition du cation radical ABTS <sup>•+</sup> des extraits AcEt et n-but de <i>Laetiporus sulphureus</i> et le $\alpha$ -tocophérol (standard), en fonction de la variation de concentration	54
22	Test de phénanthroline des extraits AcEt, Aq et n-but de <i>Laetiporus sulphureus</i> et le $\alpha$ -tocophérol (standard)	56

### *Liste des figures*

23	Inhibition de la croissance de <i>Escherichia coli</i> vis-à-vis les extraits de <i>Laetiporus sulphureus</i> : acétate- éthyle (Ac), chloroforme (Chl), aqueux (Aq), n Butanol (n but).	59
24	Inhibition de la croissance de <i>Staphylocoques aureus</i> vis-à-vis les extraits de <i>Laetiporus sulphureus</i> : Acétate- éthyle (Ac), chloroforme (Chl), aqueux (Aq), n Butanol (n-but).	60
25	Inhibition de la croissance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> vis-à-vis les extraits de <i>Laetiporus sulphureus</i> : Acétate- éthyle (Ac), chloroforme (Chl), aqueux (Aq), n Butanol (n but).	60

## *Liste des tableaux*

Tableau	Titre	Page
1	Exemples champignons médicinales ont une activité antioxydante	15
2	Types du glycanes dans <i>Laetiporus sulphureus</i>	24
3	Les concentrations des minéraux dans <i>Laetiporus sulphureus</i>	26
4	Composition biologiques de <i>Laetiporus sulphureus</i>	27
5	Quelques métabolites secondaires du champignon <i>L. sulphureus</i> et ces activités biologiques	29
6	Rendement d'extraction des extraits	43
7	Résultats de screening chimique	44
8	Teneur en polyphénols et en flavonoïdes totaux des extraits de <i>Laetiporus sulphureus</i>	47
9	Activités antioxydantes des extraits de champignon <i>Laetiporus sulphureus</i> et l' $\alpha$ -Tocophérol	51
10	Activité antiradicalaire (DPPH•) des extraits du champignon <i>Laetiporus sulphureus</i>	52
11	Activité du piégeage du cation radical ABTS <sup>•+</sup> des extraits de champignon <i>Laetiporus sulphureus</i>	55
12	Test de phénanthroline des extraits de champignon <i>Laetiporus sulphureus</i>	57
13	Effet de concentrations croissantes des extraits de <i>Laetiporus sulphureus</i>	59

### Résumé

La présente étude a pour objectif de valoriser les propriétés médicinales des champignons en Algérie, à travers l'étude de l'espèce *Laetiporus sulphureus* souche TMES43. Pour cela, une analyse approfondie de la composition chimique a été réalisée, accompagnée d'une évaluation de son potentiel antioxydant et antimicrobien.

L'extraction de ces composés a été étudiée en utilisant des solvants chimiques, au premier temps via une extraction : solide-liquide par un système solvant constitué de méthanol/eau (80/20 v/v), suivie ensuite par une extraction liquide-liquide utilisant des solvants de polarité croissante : chloroforme, acétate d'éthyle, n-butanol. Le screening chimique a révélé la présence notable de métabolites secondaires, en particulier des polyphénols, des terpènes, ainsi que des alcaloïdes et des tanins, témoignant de la richesse en biomolécules de ce champignon.

L'évaluation des teneurs en composés phénoliques et flavonoïdes des extraits de *Laetiporus sulphureus* a révélé une variation significative selon le solvant utilisé. L'extrait acétate d'éthyle a présenté la concentration la plus élevée en polyphénols totaux, atteignant  $111,90 \pm 3,29 \mu\text{g EAG/mg}$  d'extrait. Le n-butanol, quant à lui, contenait également des polyphénols avec une teneur de  $5,52 \pm 11,12 \mu\text{g EAG/mg}$ . Concernant les flavonoïdes, le même extrait affichait la teneur la plus élevée  $29,8 \pm 0 \mu\text{g RE/mg}$  d'extrait, suivi par l'extrait aqueux avec  $7,21 \pm 0 \mu\text{g RE/mg}$  d'extrait. Les extraits chloroforme et butanol ont quant à eux montré des taux nuls en flavonoïdes.

L'évaluation de l'activité antioxydant in vitro des extraits de *Laetiporus sulphureus* à travers les tests DPPH•, ABTS•+, FRAP, phénanthroline a montré des différences significatives selon le solvant d'extraction. L'extrait à l'acétate d'éthyle s'est révélé le plus actif dans le test de piégeage du radical DPPH, avec une  $IC_{50}$  de  $314,1 \pm 9,23 \mu\text{g/mL}$  ;  $165,91 \pm 9,43 \mu\text{g/mL}$  pour le piégeage de cation ABTS, et pour le phénanthroline on a le n-butanol l'extrait majeur plus fort à  $C_{A0,5} < 3,125 \mu\text{g/mL}$ , concernant le test FEAP, une activité antioxydante faible a été constatée par rapport au témoin positif ( $\alpha$ -tocophérol). L'extrait acétate d'éthyle qui montre une inhibition par rapport aux autres extraits examinés. En effet, une zone d'inhibition de 18 mm a été observée contre *Staphylococcus aureus*, et pour *Pseudomonas aeruginosa* une zone de 15 mm.

**Mots clés:** *Laetiporus sulphureus*; potentiel antioxydant; l'activité antioxydant in vitro ; activités biologiques.

## Résumé

يهدف الغرض من هذه الدراسة إلى تعزيز الخواص الطبية للفطريات في الجزائر، من خلال دراسة الأنواع *Laetiportus sulphureus* سلالة TMES43. لهذا، تم إجراء تحليل في العمق للتكوين الكيميائي، مصحوبًا بتقييم لإمكاناته المضادة للأكسدة ومضادات الميكروبات.

تمت دراسة استخراج هذه المركبات باستخدام المذيبات الكيميائية، في البداية عن طريق الاستخراج: السائل الصلب بواسطة نظام المذيب يشكل الميثانول/الماء (20/80 حجم/حجم)، ثم يليه استخراج السائل- السائل باستخدام مذيبات عضوية ذات قطبية متزايدة: كلوروفورم ، أسيتات إيثيل و N-buanol .

كشف الفحص الكيميائي عن الوجود الملحوظ للمستقلبات الثانوية، وخاصة البوليفينول ، والتربينات ، وكذلك القلويدات والعفص ، التي تشهد على الثراء في الجزيئات الحيوية لهذه الفطريات، كشف تقييم المحتويات في مركبات الفينول والفلافونويد للمستخلصات من فطر *Laetiportus sulphureus* عن تباين كبير وفقًا للمذيبات المستخدمة. قدم مستخلص خلاصات أسيتات إيثيل أعلى تركيز في إجمالي البوليفينول، حيث وصل إلى  $111.90 \pm 3.29$  ميكروغرام من EAG/ملغ من المستخلص. من ناحية أخرى، احتوى N-butanol أيضًا على البوليفينول مع محتوى من  $11.12 \pm 5.52$  ميكروغرام EAG/mg، فيما يتعلق بالفلافونويدات، أظهر المستخلص نفسه أعلى محتوى  $0 \pm 29.8$  ميكروغرام من الاستخراج، متبوعًا بالاستخراج المائي مع  $0 \pm 7.21$  ميكروغرام. أظهرت مقتطفات الكلوروفورم واليوتانول معدلات الفلافونويد صفرية.

أظهرت تقييم نشاط مضادات الأكسدة في المختبر من المستخلصات من *Laetiportus sulphureus* من خلال اختبارات • DPPH ، • ABTS ، • FRAP ، الفينانثرولين اختلافات كبيرة وفقًا لمذيب الاستخراج. تبين أن مستخلص إيثيل أسيتات هو الأكثر نشاطًا في اختبار محاصرة جذر DPPH، مع  $9.23 \pm 314.1$  IC<sub>50</sub> ميكروغرام/مل؛  $165.91 \pm 9.43$  ميكروغرام/مل لمحاصرة ABTS الكاتيون ، وللفينانثرولين ، لدينا N-buanol ، وقد لوحظ استخراج رئيسي أقوى في  $C_{A0.5} < 3.125$  ميكروغرام/مل ، فيما يتعلق باختبار FAAP ، وقد لوحظ نشاط مضادات الأكسدة منخفضة مقارنة مع السيطرة الإيجابية (α-tocopherol). مستخلص أسيتات إيثيل الذي يظهر تثبيط مقارنة بالمستخلصات الأخرى التي تم فحصها. في الواقع، لوحظت منطقة تثبيط 18 ملم ضد المكورات العنقودية *Staphylococcus aureus*، و *Pseudomonas aeruginosa* بمنطقة قدرها 15مم.

**الكلمات المفتاحية:** *Laetiportus sulphureus*؛ القدرة المضادة للأكسدة؛ النشاط المضاد للأكسدة في المختبر؛ الأنشطة البيولوجية .

### Abstract

The purpose of this study aims to enhance the medicinal properties of fungi in Algeria, through the study of the species *Laetiporus sulphureus* strain TMES43. For this, an in -depth analysis of the chemical composition was carried out, accompanied by an evaluation of its antioxidant and antimicrobial potential.

The extraction of these compounds was studied using chemical solvents, at first via an extraction: solid-liquid by a solvent system constitutes methanol/water (80/20 V/V), then followed by liquid-liquid extraction using increasing polarity solvents: chloroform, ethyl acetate and n-Butanol. The chemical screening revealed the notable presence of secondary metabolites, in particular polyphenols, terpenes, as well as alkaloids and tannins, testifying to the richness in biomolecules of this fungus.

The evaluation of contents in phenolic and flavonoid compounds of the extracts from *Laetiporus sulphureus* revealed a significant variation according to the solvent used. Ethyl acetate extract presented the highest concentration in total polyphenols, reaching  $111.90 \pm 3.29$  µg EAG/mg of extract. The n-Butanol, on the other hand, also contained polyphenols with a content of  $5.52 \pm 11.12$  µg EAG/MG, concerning flavonoids, the same extract displayed the highest content  $29.8 \pm 0$  µg re/mg of extract, followed by the aqueous extract with  $7.21 \pm 0$  µg re/mg of extract. Chloroform and butanol extracts have shown zero flavonoid rates.

The evaluation of the in vitro antioxidant activity of extracts from *Laetiporus sulphureus* through tests of scavenging of DPPH• and ABTS•+, reducing power (FRAP) and phenanthroline has shown significant differences according to the extraction solvent. Ethyl acetate extract turned out to be the most active in the radical DPPH trapping test, with an IC<sub>50</sub> of  $314,1 \pm 9,23$  µg/ml;  $165,91 \pm 9,43$  µg/mL for the trapping of ABTS cation, and for phenanthroline we have the N-butanol the major extract stronger at C<sub>A0,5</sub> <3.125 µg/ml, concerning the FAAP test, a low antioxidant activity was observed compared to the positive control (α-Tocopherol). Ethyl acetate extract which shows an inhibition compared to other extracts examined. Indeed, an 18 mm inhibition area was observed against *Staphylococcus aureus*, and for *pseudomonas aeruginosa* a 15 mm area.

**Keywords:** *Laetiporus sulphureus*; antioxidant potential, in vitro antioxidant activity.



# Sommaire

## **Remerciements**

## **Dédicaces Résumés**

## **Liste des abréviations**

## **Liste des figures Liste**

## **des tableaux**

## **Introduction ..... 1**

## **Chapitre 1 : Stress oxydatif ..... 4**

### **1. Stress oxydatif ..... 4**

#### **1.1. Espèces réactives de l'oxygène (ERO) ..... 5**

##### **1.1.1. Espèces réactives libres d'oxygène (radicalaires) ..... 5**

##### **1.1.2. Mécanisme d'action des radicaux libres ..... 6**

##### **1.1.3. Les espèces réactives de l'oxygène non radicalaires ..... 7**

##### **1.1.4. Mécanisme d'action des radicaux libres ..... 6**

##### **1.1.5. Les espèces réactives de l'oxygène non radicalaires ..... 7**

#### **1.2. Mécanismes endogènes de production des espèces réactives de l'oxygène ..... 9**

### **2. Système antioxydant ..... 10**

#### **2.1. Les différents types des antioxydants ..... 10**

##### **2.1.1. Antioxydants Enzymatiques ..... 11**

##### **2.1.2. Antioxydants Non Enzymatiques ..... 11**

#### **2.2. Antioxydants et prévention des maladies ..... 12**

### **3. Champignons médicinales sources biologiques des molécules**

## Sommaire

---

antioxydantes.....	13
<b>Chapitre 2 : Champignon <i>Laetiporus sulphureus</i>, propriétés biologiques et médicinales.....</b>	<b>16</b>
1. Champignons de genre <i>Laetiporus</i> .....	16
2. Champignon <i>Laetiporus sulphureus</i> (Polypore soufré).....	17
2.1. Caractéristiques morphologiques et microscopiques .....	19
2.2. Taxonomie et classification .....	21
2.3. Mode de croissance .....	22
2.4. Habitat et distribution .....	22
3. Propriétés biochimiques et nutritionnelles de <i>L. sulphureus</i> .....	23
4. Propriétés biologique et pharmacologiques .....	27
5. Métabolites secondaires.....	28
<b>Matériels et méthodes.....</b>	<b>30</b>
1. Récolte et préparation de la matière fongique .....	30
2. Extraction des molécules bioactives.....	30
3. Calcul de rendement.....	32
4. Screening des principales classes chimiques .....	32
5. Analyse quantitative des substances bioactives .....	34
5.1. Dosage des polyphénols totaux (PT).....	34
5.2. Dosage des flavonoïdes totaux (FT).....	35
6. Détermination de l'activité antioxydante <i>in vitro</i> .....	36

## *Sommaire*

---

6.1. Activité antiradicalaire au DPPH •.....	36
6.2. Test de réduction du radical-cation ABTS • <sup>+</sup> .....	38
6.3. Test de phénanthroline.....	39
6.4. Test du pouvoir réducteur (FRAP).....	40
7. Test d'activité bactérienne .....	42
8. Analyse statistique.....	42
<b>Résultats et Discussion.....</b>	<b>43</b>
1. Rendement d'extraction.....	43
2. Screening chimique .....	44
3. Analyse quantitative des substances bioactives (polyphénols et flavonoïdes totaux).....	46
4. Evaluation d'activité antioxydante <i>in vitro</i> .....	51
4.1. Activité antiradicalaire Test de piégeage du DPPH• .....	51
4.2. Activité du piégeage du cation ABTS <sup>•+</sup> .....	53
4.3. Test pouvoir réducteur de fer (FRAP).....	55
4.4. Test de phénanthroline.....	55
5. Evaluation de l'activité antibactérienne de <i>Laetiporus sulphureus</i> .....	58
<b>Conclusion et Perspectives.....</b>	<b>62</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>64</b>
<b>Abstract</b>	

# Introduction

### **Introduction**

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont des molécules instables produites naturellement par les cellules vivantes, notamment au cours de la respiration cellulaire. Lorsqu'elles sont en excès ou mal contrôlées, elles peuvent provoquer un déséquilibre appelé stress oxydatif. Ce dernier est reconnu pour son implication dans de nombreuses maladies chroniques comme le cancer, les troubles cardiovasculaires, le diabète, ou encore les maladies neurodégénératives (**Valko *et al.*, 2007**). De ce fait, la maîtrise des radicaux libres représente un enjeu majeur pour la santé humaine.

Face aux inquiétudes croissantes liées à la toxicité potentielle des antioxydants synthétiques comme le BHA (Hydroxyanisole butylé) et le BHT (Hydroxytoluène butylé) (**Brewer, 2011**), l'attention des chercheurs se tourne de plus en plus vers des alternatives naturelles, à la fois efficaces et sans effets secondaires à long terme. Les champignons, au même titre que les plantes, apparaissent comme des sources prometteuses de composés bioactifs capables de neutraliser les effets néfastes du stress oxydatif.

Parmi ces ressources, les champignons comestibles et médicinaux suscitent un intérêt particulier. De nombreuses études ont mis en évidence leurs effets bénéfiques sur la santé, grâce à leurs propriétés antioxydantes marquées, ce qui en fait un champ de recherche en pleine expansion.

D'autant plus que les champignons médicinaux sont utilisés depuis des siècles dans diverses cultures à travers le monde, en raison de leurs propriétés biologiques uniques leur conférant un rôle potentiel dans le traitement de nombreuses maladies (**Ray *et al.*, 2024**). La richesse en composés tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les terpènes, ainsi que les vitamines C et E et les acides phénoliques (**Ferreira *et al.*, 2009 ; Heleno *et al.*, 2015**) permet aux champignons de jouer un rôle fondamental dans la lutte contre les radicaux libres. Ils

## *Introduction*

---

contribuent également au renforcement des mécanismes naturels de défense de l'organisme, ce qui leur confère une place de choix en recherche pharmaceutique et nutritionnelle.

Dans ce contexte, le présent travail vise à évaluer le potentiel antioxydant du champignon *Laetiporus sulphureus* souche TMES43 d'Algérie, en examinant la relation entre son activité biologique et sa composition chimique. Ce projet s'inscrit dans le cadre d'une démarche de valorisation des ressources naturelles exploitables dans les domaines de la santé et de l'agroalimentaire.

Ce travail se divise en deux grandes parties, une présentation bibliographique et une étude expérimentale. La partie bibliographique comprend deux chapitres, le premier présente quelques notions essentielles sur le stress oxydatif, le deuxième chapitre expose les propriétés biologiques de l'espèce étudiée «*Laetiporus sulphureus*», notamment l'activité antioxydante, sans négliger d'autres activités biologiques, avec l'exposition des travaux scientifiques réalisés à travers le monde.

La partie expérimentale de ce travail décrit le profil chimique du champignon, la méthode d'extraction employée, ainsi que les analyses qualitatives menées à travers un screening phytochimique. Elle comprend également la quantification des composés bioactifs, essentiellement : les polyphénols et les flavonoïdes, issus des différents extraits, ainsi que l'évaluation *in-vitro* de leurs activités biologiques, incluant les propriétés antioxydantes et antibactériennes.

La présentation et l'interprétation des résultats constituent la part la plus essentielle et la plus déterminante du mémoire, structurée en plusieurs parties, chacune étant dédiée à l'analyse d'une activité biologique spécifique. Enfin, une conclusion générale synthétisant les principales contributions de cette étude et proposant des perspectives de recherche futures.

## ***Introduction***

---

Dans ce cadre, les objectifs spécifiques consistent à analyser qualitativement les composés phytochimiques, à déterminer les substances bioactives (polyphénols et flavonoïdes), ainsi qu'à étudier in-vitro les activités antioxydantes et antibactérienne.

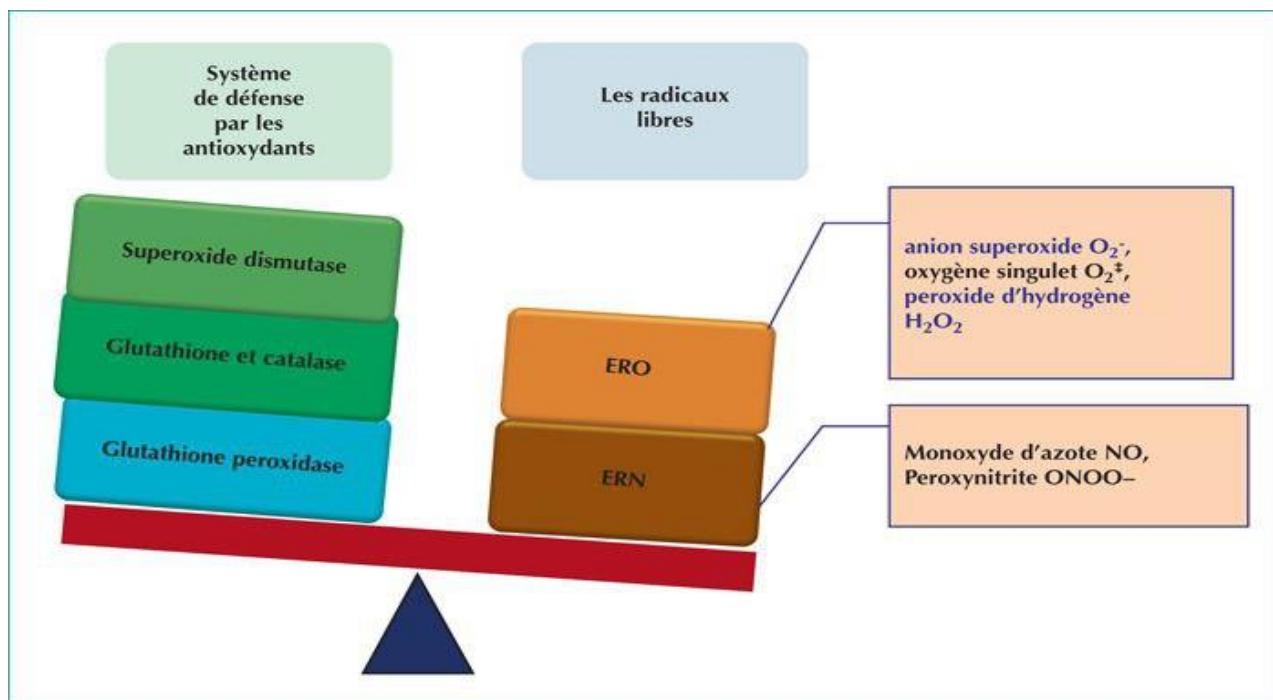


# Chapitre 1 : Stress oxydatif

### 1. Stress oxydatif

Les réactions d'oxydation sont des processus naturels et indispensables au bon fonctionnement des cellules, car elles jouent un rôle clé dans le métabolisme cellulaire, contribuant à maintenir l'équilibre cellulaire et à synthétiser des molécules essentielles. Toutefois, un dérèglement de ces réactions peut entraîner des dysfonctionnements cellulaires, conduisant à ce que l'on appelle le stress oxydatif (**Baraka, 2015**) (**Figure 1**).

Le stress oxydatif résulte d'un déséquilibre entre la production d'espèces pro-oxydantes et les mécanismes de défense antioxydante. Ce déséquilibre peut être causé soit par une production excessive de radicaux libres et d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), soit par une altération des systèmes de protection cellulaire. Les études biologiques ont révélé le rôle crucial des intermédiaires oxygénés, aussi appelés radicaux libres, dans les processus physiologiques ainsi que leurs effets néfastes sur les cellules (**Baraka, 2015**).



**Figure 1:** L'équilibre entre le système pro-oxydant et les antioxydants (**Belaich *et al*, 2015**).

### **1.1. Espèces réactives de l'oxygène (ERO)**

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO), sont des molécules chimiquement instables contenant un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui les rend hautement réactives. Elles peuvent interagir avec divers constituants cellulaires, notamment les lipides, les protéines et l'ADN, provoquant ainsi des dommages oxydatifs (**Halliwell et Gutteridge, 2015**). Parmi les principales ERO, on retrouve l'anion superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ), le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), le radical hydroxyle ( $OH^{\bullet}$ ) et l'oxygène singulet ( $^1O_2$ ) (**Sies, 2020**). Bien qu'elles soient souvent associées à des effets délétères, elles jouent également un rôle essentiel dans la signalisation cellulaire et les réponses immunitaires.

#### **1.1.1. Espèces réactives libres d'oxygène (radicalaires)**

- Radical superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ )

Il est le résultat de la réduction monovalente de l'oxygène, c'est-à-dire de l'ajout d'un électron à la molécule  $O_2$ . Cette réaction se produit principalement dans les mitochondries au cours de la respiration cellulaire. Un autre site majeur de production est constitué par les polynucléaires neutrophiles, qui exploitent ces espèces réactives de l'oxygène (ERO) dans leur activité phagocytaire. De plus, en situation de stress (sepsis, ischémie...), certaines enzymes telles que la NADPH-oxydase et la xanthine-oxydase peuvent générer des radicaux superoxydes (**Guillot, 2016**).

- Radical perhydroxyle ( $HO_2^{\bullet}$ )

Ce radical se forme par protonation du radical superoxyde en milieu acide ( $pH < 4,8$ ). Il présente une réactivité plus élevée que le superoxyde, en raison de son potentiel standard d'oxydoréduction plus important et de ses constantes de vitesse plus élevées, notamment vis-à-vis des acides gras polyinsaturés (acides linoléique, linolénique et arachidonique) (**Guillot, 2016**).

- Radical hydroxyle ( $\text{OH}^\bullet$ )

Considéré comme le radical libre le plus toxique, le radical hydroxyle ne possède aucun rôle physiologique connu. Dans la chaîne respiratoire mitochondriale, le peroxyde d'hydrogène peut réagir avec des ions métalliques (fer ou cuivre) via la réaction de Fenton, (un processus d'oxydation avancé conduisant à la formation du radical hydroxyle). Ce radical est l'un des oxydants les plus puissants existant dans la nature, juste après le fluor (Guilloty, 2016).

- Radical peroxyde  $\text{ROO}^\bullet$

Les radicaux peroxydes peuvent être générés par la radiolyse ou l'irradiation de solvants tels que l'éthanol ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ ), entraînant la formation de radicaux de type  $\text{CH}_3\text{CH}(\text{O}_2)\text{OH}$  (Guilloty, 2016).

### 1.1.2. Mécanisme d'action des radicaux libres

Les radicaux libres, ou espèces réactives de l'oxygène (ERO), exercent leurs effets biologiques en induisant des réactions d'oxydation au sein des biomolécules. Leur forte réactivité leur permet de capter des électrons provenant des lipides, des protéines et de l'ADN, entraînant ainsi des altérations structurales et fonctionnelles qui peuvent compromettre l'intégrité cellulaire (Figure 2) (Halliwell et Gutteridge, 2015).

- Peroxydation lipidique

Le radical hydroxyle ( $\text{OH}^\bullet$ ) et superoxyde ( $\text{O}_2^\bullet$ ) interagissent avec les acides gras insaturés présents dans les membranes cellulaires, entraînant la formation de peroxydes lipidiques. Cette réaction provoque une rigidification membranaire, une altération de la perméabilité cellulaire et une perte de fonctionnalité, qui conduisent ensuite à l'apoptose ou à la nécrose cellulaire (Sies, 2020).

- Oxydation des protéines

Les résidus d'acides aminés, notamment ceux riches en soufre comme la cystéine et la méthionine, sont particulièrement vulnérables aux attaques des radicaux libres. Cette oxydation peut induire des modifications de la structure protéique, altérer l'activité enzymatique et favoriser la formation d'agrégats protéiques dysfonctionnels (**Stadtman, 1992**).

- Altération de l'ADN

Les radicaux libres peuvent engendrer des lésions au niveau de l'ADN, notamment des cassures simple ou double brin, ainsi que des modifications des bases nucléotidiques. Ces dommages induisent à des mutations génétiques, des altérations dans l'expression génétique et favorisent le développement de pathologies comme le cancer, les maladies génétiques (**Sies, 2020**).

- Modulation des voies de signalisation cellulaire

En plus de leurs effets délétères, les ERO participent à la régulation de nombreuses voies de signalisation, notamment celles impliquées dans le stress cellulaire et l'inflammation, telles que la voie NF- $\kappa$ B. Une production excessive de radicaux libres peut entraîner une activation chronique de ces voies, favorisant ainsi des processus inflammatoires persistants et contribuant au développement de maladies chroniques (**Schieber et Chandel, 2014**).

### **1.1.3. Les espèces réactives de l'oxygène non radicalaires**

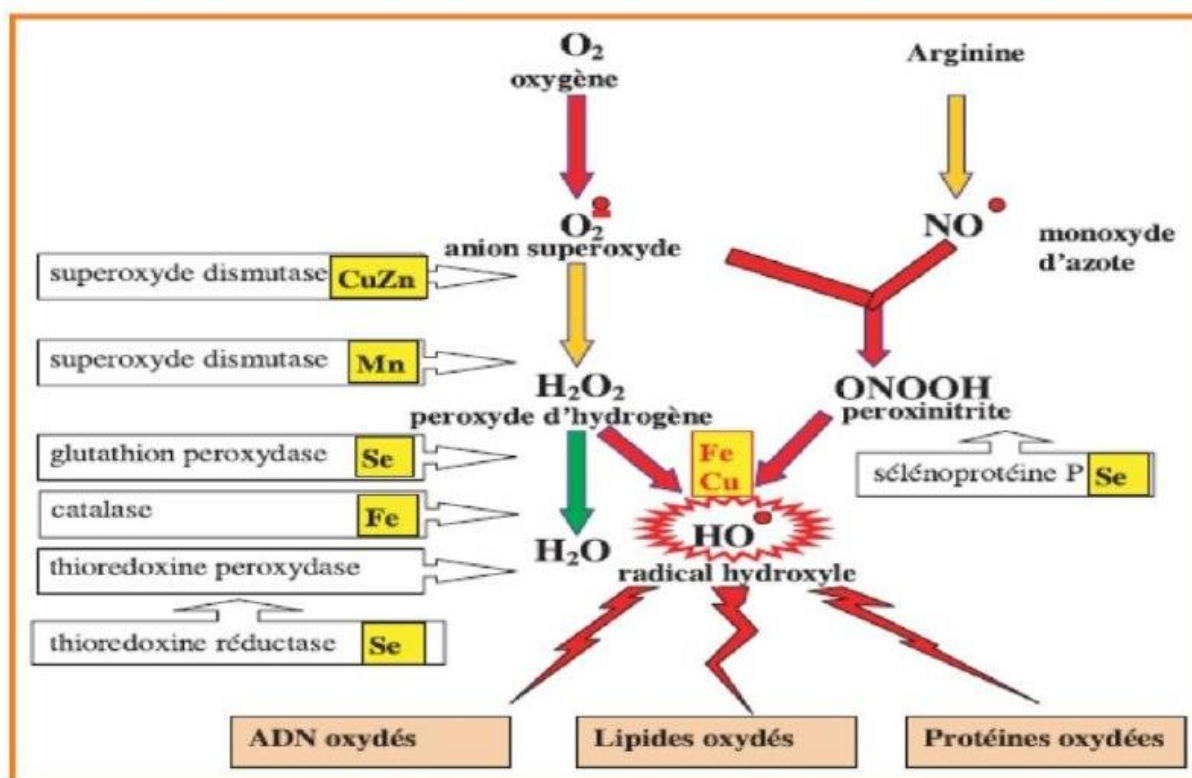
- Peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ )

Le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) est une molécule dérivée de l'oxygène, formée principalement par la dismutation de l'anion superoxyde ( $O_2^{\cdot -}$ ). Ce processus peut se produire spontanément ou être catalysé par l'enzyme superoxyde dismutase (SOD), qui accélère la conversion de deux molécules de superoxyde en peroxyde d'hydrogène et en oxygène moléculaire ( $O_2$ ).

## Chapitre 1 : Stress oxydatif

Au niveau cellulaire, le  $\text{H}_2\text{O}_2$  est métabolisé par plusieurs enzymes antioxydantes, principalement la catalase et la glutathion peroxydase. La catalase catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène en eau ( $\text{H}_2\text{O}$ ) et en oxygène, tandis que la glutathion peroxydase réduit  $\text{H}_2\text{O}_2$  en eau en utilisant le glutathion réduit (GSH) comme cofacteur. Ces mécanismes jouent un rôle clé dans la protection des cellules contre l'accumulation excessive de  $\text{H}_2\text{O}_2$ , qui pourrait sinon perturber l'homéostasie redox.

Toutefois, lorsque ces systèmes enzymatiques de détoxification sont altérés ou dépassés, la concentration de  $\text{H}_2\text{O}_2$  peut augmenter de manière significative, contribuant ainsi à l'apparition d'un stress oxydatif. Bien que le peroxyde d'hydrogène ne soit pas un radical libre à proprement parler, il constitue un précurseur important dans la formation d'espèces réactives plus dangereuses. En présence de métaux de transition tels que le fer ( $\text{Fe}^{2+}$ ) ou le cuivre ( $\text{Cu}^+$ ),  $\text{H}_2\text{O}_2$  peut subir des réactions de Fenton ou d'Haber-Weiss, générant ainsi le radical hydroxyle.



**Figure 2 :** Origine des diverses espèces réactives de l'oxygène et des radicaux libres oxygénés impliqués en biologie (Favier, 2003).

### **1.2. Mécanismes endogènes de production des espèces réactives de l'oxygène**

Dans l'organisme, plusieurs processus physiologiques sont à l'origine de la génération des espèces réactives de l'oxygène. On distingue principalement trois voies endogènes.

- La chaîne de transport des électrons mitochondriale

La respiration cellulaire, qui permet la production d'ATP, est une source majeure de ROS. Lors du transfert des électrons dans la chaîne mitochondriale, une petite proportion d'oxygène moléculaire est réduite de manière incomplète, conduisant à la formation d'anions superoxydes ( $O_2^-$ ). Ces derniers peuvent être convertis en peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et, sous certaines conditions, en radicaux hydroxyles ( $OH^\bullet$ ) extrêmement toxiques (**Murphy, 2009**).

- L'explosion respiratoire des cellules phagocytaires

Les cellules immunitaires, telles que les neutrophiles et les macrophages, produisent intentionnellement des ROS lors des réponses inflammatoires. Ce mécanisme, appelé "flambée oxydative", est médié par l'enzyme NADPH-oxydase, qui convertit l'oxygène en anion superoxyde. Par ailleurs, la myéloperoxydase (MPO) catalyse la transformation du peroxyde d'hydrogène en acide hypochloreux ( $HOCl$ ), un agent oxydant puissant impliqué dans l'élimination des pathogènes (**Bedard et Krause, 2007**).

- L'activité des enzymes oxydases

Outre la mitochondrie et les cellules immunitaires, certaines enzymes métaboliques contribuent également à la production de ROS. C'est le cas des oxydases du cytochrome P450, de la xanthine oxydase et des flavoprotéines, qui génèrent des espèces réactives au cours des réactions d'oxydation dans divers tissus. Bien que ces enzymes soient essentielles au métabolisme, leur dérégulation peut engendrer un stress oxydatif excessif, favorisant ainsi des altérations cellulaires et tissulaires (**Halliwell et Gutteridge, 2015**).

### **2. Système antioxydant**

Face aux agressions des ERO, la cellule vivante développe des mécanismes pour le maintien de la concentration de ces espèces réactives. Ces mécanismes dépendent du système antioxydant qui constitue un ensemble de biomolécules antioxydantes endogènes (enzymes) et exogènes (vitamines et oligo-éléments) (**Figure 3**).

Ce système antioxydant agit en synergie pour maintenir l'équilibre redox cellulaire, en empêchant l'accumulation excessive de radicaux libres. Il comprend des enzymes spécifiques, des vitamines, des protéines et des oligo-éléments, formant une barrière protectrice qui préserve l'intégrité des membranes cellulaires, des lipides, des protéines et même de l'ADN. Un bon fonctionnement de ce mécanisme de défense est donc indispensable pour prévenir l'apparition de nombreuses pathologies liées au stress oxydatif (**Pincemail, 2003**).

#### **2.1. Les différents types des antioxydants**

Les organismes vivants disposent de systèmes antioxydants endogènes (enzymatiques) ou exogènes (non enzymatiques), capables de neutraliser les espèces chimiques réactives. Ces mécanismes de protection restent toutefois insuffisants pour éliminer intégralement ces espèces réactives et prévenir complètement les lésions oxydatives au niveau des cellules, des tissus et des organes (**Ishibashi, 2013**). C'est pourquoi l'apport d'antioxydants exogènes, non enzymatique principalement issus de l'alimentation, s'avère essentiel pour compléter et renforcer cette défense naturelle.

Le mécanisme de défense antioxydant repose sur plusieurs types de molécules, ont été initialement catégorisés en trois groupes distincts selon leur manière d'agir :

- Les antioxydants primaires agissent en bloquant la production de substances oxydantes.
- Les antioxydants secondaires fonctionnent comme des "pièges" pour les molécules réactives, appelées ROS (espèces réactives de l'oxygène).



- Les antioxydants tertiaires interviennent pour réparer les molécules qui ont déjà subi des dommages dus à l'oxydation (**Vona *et al.*, 2021**).

Actuellement, la classification des antioxydants tend à se simplifier en deux catégories principales :

### **2.1.1. Antioxydants Enzymatiques**

Constituent la première ligne de défense face aux radicaux libres. Ils catalysent leur transformation en produits inoffensifs. Ces molécules protéiques sont indispensables pour maintenir un contrôle strict sur les concentrations d'espèces oxydantes. Les principales enzymes sont : superoxyde dismutase (SOD), catalase, glutathion peroxydase (GPx), thiorédoxine réductase, hème oxygénase et peroxyrédoxine, ainsi que d'autres enzymes intervenant dans la réduction des ERO et dans le maintien de l'équilibre redox cellulaire.

### **2.1.2. Antioxydants Non Enzymatiques**

Ils complètent l'action des enzymes en neutralisant directement les radicaux libres, fournis par l'alimentation ou les suppléments. Selon **Pincemail,(2003)** et **Azlina *et al.*, (2014)**, on distingue :

- Les vitamines antioxydantes

Vitamine C (acide ascorbique), vitamine E (tocophérol), vitamine A (bêta-carotène).

- Les Oligo-éléments Antioxydants

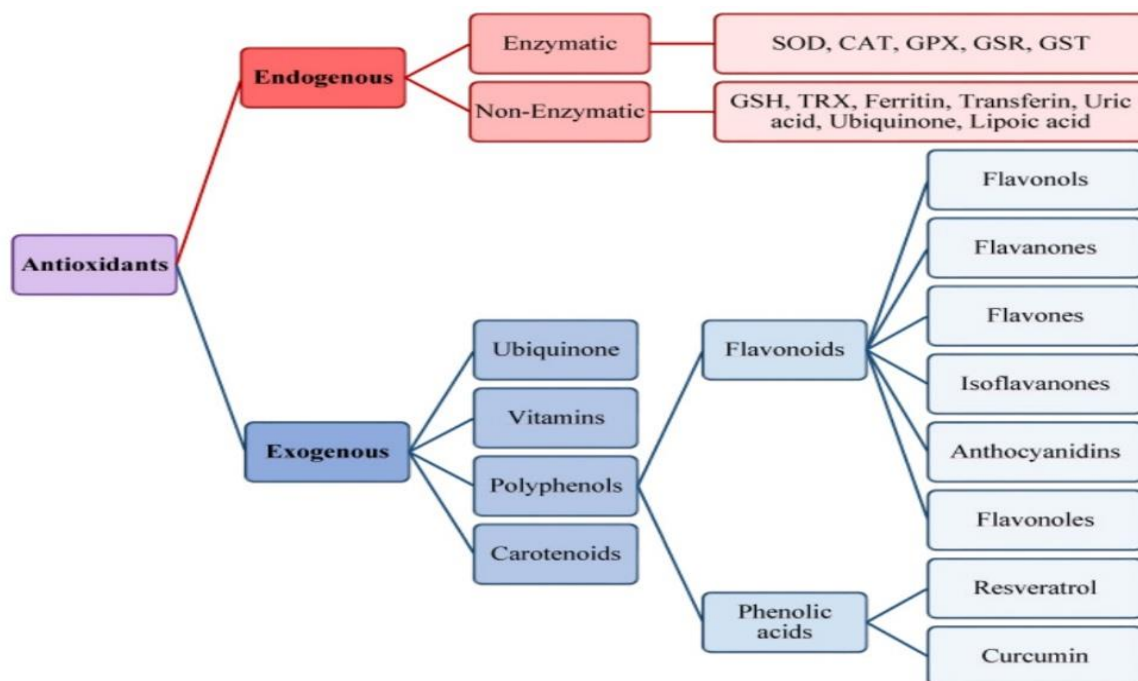
Les enzymes antioxydantes dépendent de la présence de certains oligo-éléments :

Sélénium : Cofacteur essentiel des glutathion peroxydases.

Zinc et cuivre : Nécessaires au bon fonctionnement de la superoxyde dismutase (Cu, Zn-SOD).

- Autres petites molécules antioxydantes

Les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins. Chacune de ces molécules joue un rôle spécifique dans la neutralisation soit par donner des électrons aux des radicaux libres ou par l'inhibition de la peroxydation lipidique.



**Figure 3 :** Schéma de classification des antioxydants et leurs principaux composés (Vona *et al.*, 2021).

### 2.2. Antioxydants et prévention des maladies

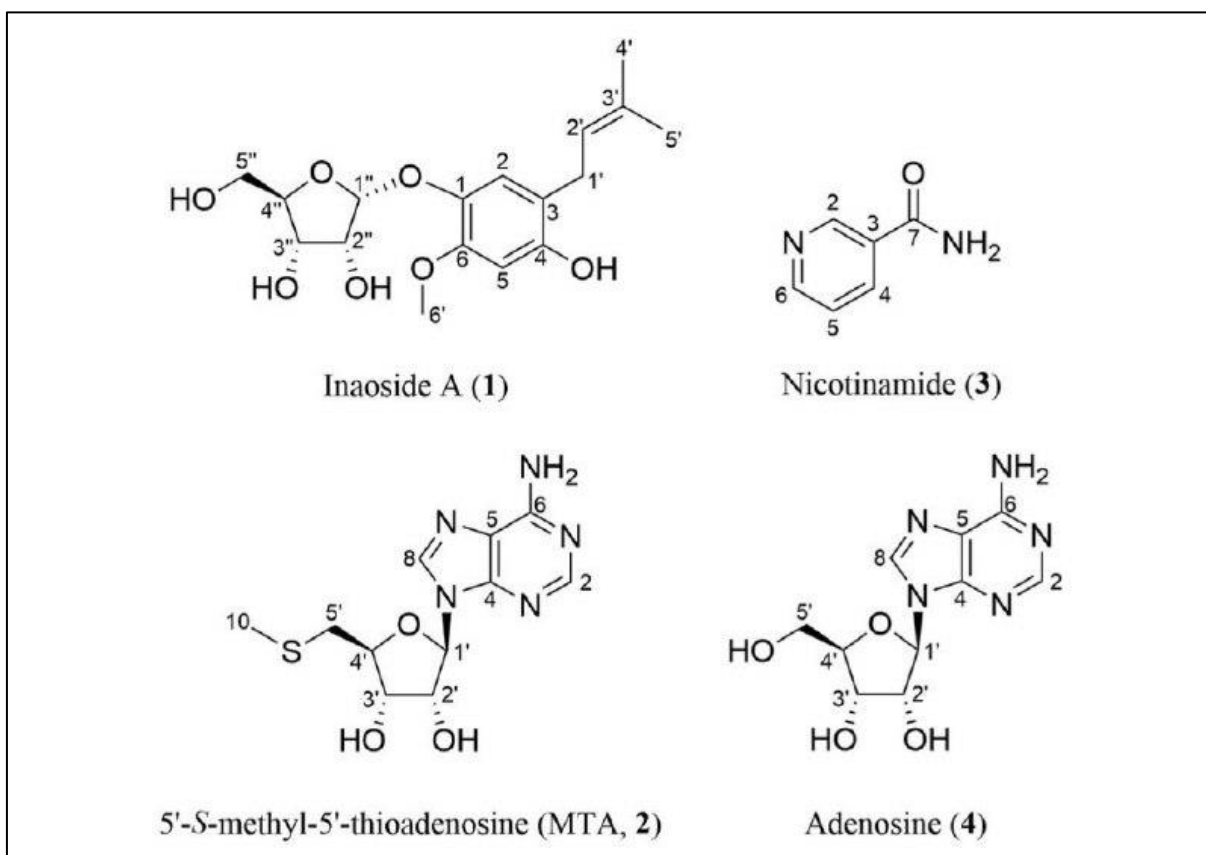
De nombreuses études épidémiologiques ont démontré que les individus ayant un faible statut antioxydant (faible taux sanguin de vitamines A, C, E, par exemple) présentent un risque accru de développer des maladies cardiovasculaires, des cancers ou d'autres pathologies chroniques. Une alimentation équilibrée, riche en fruits, légumes et sources naturelles d'antioxydants, constitue la meilleure stratégie préventive. Dans certains cas, une supplémentation sous contrôle médical peut être recommandée pour renforcer ce mécanisme de défense (Pincemail, 2003; Vona *et al.*, 2021).

### **3. Champignons médicinales sources biologiques des molécules antioxydantes**

Les champignons médicinaux sont l'une des sources naturelles, les plus importantes utilisées par l'homme depuis des siècles dans de nombreuses cultures à travers le monde, en particulier dans la médecine traditionnelle chinoise et japonaise. Ils possèdent des propriétés biologiques uniques qui les rendent bénéfiques pour traiter une large gamme de maladies et de conditions de santé, grâce à leur capacité à améliorer l'immunité, lutter contre les inflammations, traiter les tumeurs, réguler les niveaux de sucre et de cholestérol dans le sang, ainsi qu'à promouvoir la santé du foie et du système digestif (**Beelman R.B., et al., 2019**)

Parmi les plus connus, nous avons : *Ganoderma lucidum* connu sous le nom de Reishi ou Lingzhi, est largement utilisé dans la médecine traditionnelle asiatique. Il possède de nombreuses propriétés biologiques intéressantes, grâce à leur richesse en polyphénols, polysaccharides, terpénoides, protéines, acides gras, nucléotides, stérols, stéroïdes, et vitamines, qui permettent d'induire plusieurs activités bénéfiques tel que l'immunomodulation et la stimulation de réponse immunitaire naturelle ainsi que la mitogénèse, l'hépatoprotection et de réduire la pression artérielle et à diminuer le taux de cholestérol, et la protection contre les microbes pathogènes (**Figure 4**), (**Ray et al., 2024 ; Kebaili F.F., et al., 2021 ; Ahmed M.F., 2018**).

Le champignon *Laetiporus cremeiporus*, représente une espèce médicinale très riche en composés bioactifs. Un nouveau composé phénolique antioxydant nommé l'inaoside-A (1), ainsi que deux autres : 5'-S-méthyl-5'-thioadenosine (MTA, 2) et l'adénosine (4) ont été isolés à partir de ce champignon (**Figure 4**). L'inaoside-A a montré une capacité intéressante à piéger les radicaux libres, tandis que le MTA et l'adénosine sont connus pour leurs propriétés anti-inflammatoires, leurs implications dans la régulation des signaux cellulaires, et leurs potentiels effets sur les récepteurs neuronaux tels que les récepteurs de la dopamine D2 (**Kawamura et al., 2024**).



**Figure 4 :** Structure de l'inaoside A(1) , de 5'-S-methyl-5'-thioadenosine (2) (MTA (2)) ,de la nicotinamide (3) et de l'adénosine (4) extraits de *Laetiporus cremeiporus* (**Kawamura et al., 2024**).

L'étude de **Sun et Zahou (2014)** a révélé que le mycélium fermenté de *Polyporus umbellatus* possède une activité immunostimulante et antimicrobienne notable, probablement attribuée à la présence de polysaccharides bioactifs. Cette observation suggère que la consommation de ce champignon pourrait avoir des effets bénéfiques sur la santé humaine et la réduction des radicaux libres.

## Chapitre 1 : Stress oxydatif

**Tableau 1:** Exemples champignons médicinales ont une activité antioxydantes.

Extrait	Pays	Espèces	Méthode	IC <sub>50</sub> (µg/mL)	Références	
Acétate d'éthyle	Algérie	<i>Ganoderma lucidum</i>	DPPH	25,51±0,24	<b>Kebaili et <i>al.</i>, 2021</b>	
			ABTS	10,06±0,13		
			GOR	15,46±0,48		
			FRAP	22,36±0,30		
			CUPRC	21,36±0,04		
			Phénanthroline	12,87±0,26		
MeOH- eau		<i>Cyclocybe cylindracea strain TMES42</i>	DPPH	582.67±19.48	<b>Toumi ME, <i>et al.</i>, 2025</b>	
			ABTS	275.42±23.26		
			FRAP	234.48±8.09		
Acétate d'éthyle			DPPH	409.67±1.24		
			ABTS	82.50±5.82		
			FRAP	115.18±22.02		
Inde	<i>Laetiporus versisporus</i>		DPPH	5.24		<b>Farzana et <i>al.</i>, 2022</b>
MeOH- eau	Asie de l'Est		<i>Laetiporus cremeiporus</i>			79.85±2.85

## Chapitre 2 : Champignon *Laetiporus sulphureus*, propriétés biologiques et médicinales

## ***Chapitre 2 : Champignon *Laetiporus sulphureus*, propriétés biologiques et médicinales***

---

### **1. Champignons de genre *Laetiporus***

*Laetiporus* est un genre cosmopolite de champignons basidiomycètes de la famille des Fomitopsidaceae ; C'est un groupe important de champignons lignicoles responsables de la pourriture cubique brune sur les feuillus et les conifères (**Figure 5**). Certaines espèces sont aussi reconnues comme pathogènes forestiers ou champignons possèdent des propriétés médicinales (**Song et al., 2018**).

Ce genre possède une distribution mondiale, allant des zones boréales aux zones tropicales, avec quinze espèces reconnues, dont trois en Chine. En Amérique du Nord, la distinction des espèces repose sur des critères morphologiques, de compatibilité sexuelle, de RFLP (restriction fragment length polymorphism) de l'ADN ribosomique, ainsi que sur des données écologiques et biogéographiques. *L. sulphureus* y regroupe six sous espèces distinctes.

En Europe, *L. montanus* a été identifié comme espèce distincte, adaptée aux conifères en altitude. En Asie de l'Est, trois espèces ont été confirmées sur les bases de données moléculaires et morphologiques. De plus, une nouvelle espèce, *L. caribensis*, a été décrite dans la région des Caraïbes. Les études taxonomiques récentes en Chine ont permis la découverte de plusieurs espèces nouvelles de ce groupe (**Song et al., 2014**).

## Chapitre 2 : Champignon *Laetiporus sulphureus*, propriétés biologiques et médicinales



**Figure 5 :** Champignon de genre *Laetiporus* : *Laetiporus cincinnatus* et *Laetiporus sulphureus* (source FUNGIWOMAN, site web : <https://fungiwoman.com/pages/laetiporus-sulphureus-chicken-of-the-woods> FUNGIWOMAN)

### 2. Champignon *Laetiporus sulphureus*/ Polypores soufré

*Laetiporus sulphureus*, couramment appelé polypores soufré ou poulet des bois (**Figure 6**), est un champignon saprophyte et parasite appartenant à un groupe de basidiomycètes, de la famille des polypores. Il se caractérise par une couleur jaune soufre, aux fructifications de grande taille, charnu et savoureuse.

Il est un champignon comestible aux stades de développement plus jeunes. En vieillissant, ses fructifications se dessèchent et durcissent, devenant impropres à des fins culinaires. Il est largement répandu à travers le monde et apprécié depuis des générations pour ses qualités gustatives (**Khatua et al., 20 17**).



## ***Chapitre 2 : Champignon *Laetiporus sulphureus*, propriétés biologiques et médicinales***

---

Grâce à son odeur unique et à sa texture particulière, *L. sulphureus* est employé depuis longtemps dans les traditions culinaires orientales comme un aliment nutritif. En plus de la nourriture, les corps fructifères constituent une source de composés bioactifs : les polysaccharides, les acides laetiporiques, la beauvéricine, les lectines ainsi que les triterpènes pourraient s'avérer intéressants dans le domaine des nutraceutiques et des produits pharmaceutiques (par exemple, traitements antitumoraux, anti-VIH, immunomodulateurs et hypocolesterolemiques (Adamska, 2023, Toumi *et al.*, 2021 ; Hwang *et al.*, [2008](#); Radic *et al.*, [2009](#); Turkoglu *et al.*, [2007](#)).

De plus, il représente une source biologique riche en glycanes de type  $\alpha$ -(1  $\rightarrow$  3)-D-glycane : environ 88% de la matière sèche par comparaison avec les autres champignons qui se caractérisent par de 9 à 46 % (Grün *et al.*, [2003](#) ; Pleszczyńska, M *et al.*, 2013)



**Figure 6 :** Champignon Polyporus sulphur (*Laetiporus sulphureus* (Bulliard) Murrill (1920))  
source d'image la base de données mycologiques (MycoDB sur le site web : [mycodb.fr/fiche.php?genre=Laetiporus&espece=sulphureus&numphoto=11&source=search&filter=&numfiche=0](http://mycodb.fr/fiche.php?genre=Laetiporus&espece=sulphureus&numphoto=11&source=search&filter=&numfiche=0)).

## *Chapitre 2 : Champignon *Laetiporus sulphureus*, propriétés biologiques et médicinales*

---

### **2.1. Caractéristiques macro (morphologique) et microscopiques du champignon**

#### *Laetiporus sulphureus*

En mycologie, plusieurs critères sont très cruciaux dans la détermination ou l'indentification de l'espèce. L'identification des caractéristiques morphologiques et microscopiques est un paramètre important pour différencier entre les champignons toxiques et les autres comestibles.

Dans le cas de *Laetiporus sulphureus*, l'observation morphologique permet de la différencier par rapport aux autres polypores, y compris certaines espèces toxiques. Selon les données mycologiques de la base de données MycoDB ([www.mycodb.fr](http://www.mycodb.fr)), et **Buyck et Polèse. (2013)** ; **Volk. (2015)**, ce champignon est connu par les caractéristiques suivantes :

- Fructifications (basidiome) : de grande taille, robustes et d'un jaune doré éclatant, présentant une texture humide et une forme en plateau peuvent atteindre plusieurs kilos.
- Chapeau : de diamètre de 7 à 30 cm. constitue de plusieurs chapeaux superposés en tuiles, à la surface veloutée formant un amas soudé en forme de coussinet et en grande nombre, et de couleur jaune pâle à jaune soufre ou orangé, avec une surface mate et veloutée, et une marge ondulée.
- Face inférieure : constitue de pores, présentant une teinte jaune soufre lumineuse.
- Pores : de couleur jaune soufre vif, très fins (3 à 5 mm de diamètre) qui pâlit avec l'âge.
- Spores : Spores largement ovoïdes à ellipsoïdes, lisses, à paroi mince, hyalines , 5,5-7 x 3,5-5 µm
- Chair : jaune, charnue, succulente et tendre à l'état frais, puis elle se décolore et devient coriace et cassante à un stade avancé (**Figure 7**).

## ***Chapitre 2 : Champignon *Laetiporus sulphureus*, propriétés biologiques et médicinales***

---

- **Pied** : le pied est absent, bien qu'une base atténuée latérale puisse être présente. Il est de la même couleur que le chapeau.
- **Texture** : Ce champignon comestible possède une texture fibreuse qui rappelant celle du poulet, ce qui lui vaut son nom anglais de "Chicken mushroom".
- **Odeur** : L'odeur de *Laetiporus sulphureus* est rapportée comme étant d'intensité variable, oscillant entre des nuances agréables et modérément plaisantes (**Petrovic *et al.*, 2013**).

Ses corps fructifères sont organisés en grappes et peuvent être assez volumineux, comprenant de 5 à 50 individus, avec une biomasse humide atteignant quelques kilogrammes. Ils sont annuels et présentent une consistance variant de spongieuse coriace. Leur surface supérieure est caractérisée par une coloration orange vif, et leur diamètre peut atteindre 40 cm (**Khatua *et al.*, 2017 ; Petrović *et al.*, 2014**).



**Figure 7** : Chair de polypore soufré (polypores et genres rattachés - [ConnaitreLaNature.com](https://connaitrelanature.com/fr/rb/61245/polypores-et-genres-rattaches). (s. d.). <https://connaitrelanature.com/fr/rb/61245/polypores-et-genres-rattaches>).

## ***Chapitre 2 : Champignon *Laetiporus sulphureus*, propriétés biologiques et médicinales***

---

### **2.2. Taxonomie et classification**

La taxonomie fongique a connu un tournant majeur avec le passage de la classification traditionnelle, fondée sur la morphologie, à une approche phylogénétique moléculaire. Cette transition, marquée par l'usage de marqueurs génétiques et d'analyses phylogénétiques, a permis de revoir les délimitations des genres, notamment chez les polypores, un groupe bien connu de basidiomycètes lignicoles.

Historiquement, la classification reposait sur le type de pourriture du bois (blanche ou brune) et la structure hyphale. Des genres comme *Postia*, *Antrodia* et *Fomitopsis* étaient définis selon ces critères. Cependant, ces bases morphologiques ont montré leurs limites. Les études moléculaires récentes ont révélé la polyphylie de *Fomitopsis*, suscitant des débats sans conclusions taxonomiques claires.

Bien que certains auteurs aient proposé des reclassements familiaux, la conciliation entre données génétiques et matérielles anciennes reste complexe, entraînant une phylogénie instable et des implications importantes pour la conservation des champignons. (**Spirin et al., 2024**)

Classification hiérarchique (INPN, [https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/43216/tab/taxo](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/43216/tab/taxo) consulté le 6 mars 2025)

Domaine : Biota Endl. (D. Don)

Règne : Fungi (**Moore R.T, 1980**).

Sous-Règne : Dikarya Hibbett ; (**James et Vilgalys, 2007**).

Phylum : Basidiomycota (**Moore R.T, 1980**).

Ordre : Polyporales (**Gäum, 1926**).

Famille : Polyporaceae Fr. (ex **Corda, 1839**).

## ***Chapitre 2 : Champignon *Laetiporus sulphureus*, propriétés biologiques et médicinales***

---

Genre : *Laetiporus* (**Murrill, 1904**).

Espèce : *Laetiporus sulphureus* (Bull.) (**Murrill, 1920**).

### **2.3. Mode de croissance**

*L. sulphureus* est une espèce parasitaire saprophyte qui attaque le cœur des arbres, provoquant une pourriture cubique. Le bois de cœur prend une teinte brun rougeâtre, se fissure et finit par s'effriter (**Buyck et Polèse, 2013**). Un arbre infecté par cette espèce subit généralement un affaiblissement irréversible, le conduisant inévitablement à la mort.

L'espèce se développe de manière solitaire ou en groupes de plusieurs chapeaux compacts, imbriqués serrés, fusionnés latéralement, voire en rosette. Attention à la confusion : selon **Buyck et Polèse. (2013)**, l'espèce polypore *Phaeolus schweinitzii* peut présenter des teintes similaires à celles de *L. sulphureus*, mais il pousse exclusivement au pied des résineux et possède un pied central, ce qui le distingue du Polypore soufré.

### **2.4. Habitat et distribution**

Il pousse sur du bois mort ou vivant de feuillus, parfois de conifères et d'arbres fruitiers (**Volk, 2015**). Cette espèce est largement répandue en Europe, en Asie et en Amérique du Nord (**Figure 8**), où le genre *Laetiporus* a été décrit pour la première fois par le mycologue américain William Murrill, en 1920 (**Petrović et al., 2014**).

Selon **Buyck et Polèse (2013)**, la saison de croissance du *Laetiporus sulphureus* s'étend du printemps à l'automne. Les températures douces et l'humidité modérée favorisent son développement rapide.



## Chapitre 2 : Champignon *Laetiporus sulphureus*, propriétés biologiques et médicinales



**Figure 8 :** Répartition géographique de *L. sulphureus*. (Source : Inventaire national du patrimoine naturel (INPN), disponible en ligne sur [https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/43216/tab/carte](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/43216/tab/carte)).

### 3. Propriétés biochimiques et nutritionnelles de *L. sulphureus*

*Laetiporus sulphureus* est un champignon comestible présentant une richesse importante en composés bioactifs et nutriments essentiels.

#### ➤ Glucides

Les glucides représentent 50 à 65 % du poids sec (dry weight : DW) de *L. sulphureus*, ce qui en fait le principal constituant de ce champignon. Parmi eux, plusieurs types de sucres ont été identifiés. (Jovana Petrovic *et al.*, 2013). Ces glucides sont des sources d'énergie facilement assimilables et jouent un rôle important dans le métabolisme cellulaire.

- Tréhalose : 4 g/100 g DW (source de réserve fongique)
- Mannitol : 3,54 g/100 g DW (polyol aux propriétés diurétiques)
- Fructose : 0,46 g/100 g DW

## ***Chapitre 2 : Champignon *Laetiporus sulphureus*, propriétés biologiques et médicinales***

-Glycanes : Polypore soufré contient des polysaccharides de type  $\alpha$  et  $\beta$ , possédant des activités biologiques importantes (Tableau 2).

**Tableau 2:** Types du glycanes dans *Laetiporus sulphureus*

Type	Structure	Activité biologique	Référence
$\alpha$	linéaire	Immunomodulation	(Wasser, 2017)
$\beta$	Polysaccharides ramifiés	Antitumorale et immuno-stimulante	(Zhang <i>et al.</i> , 2021)

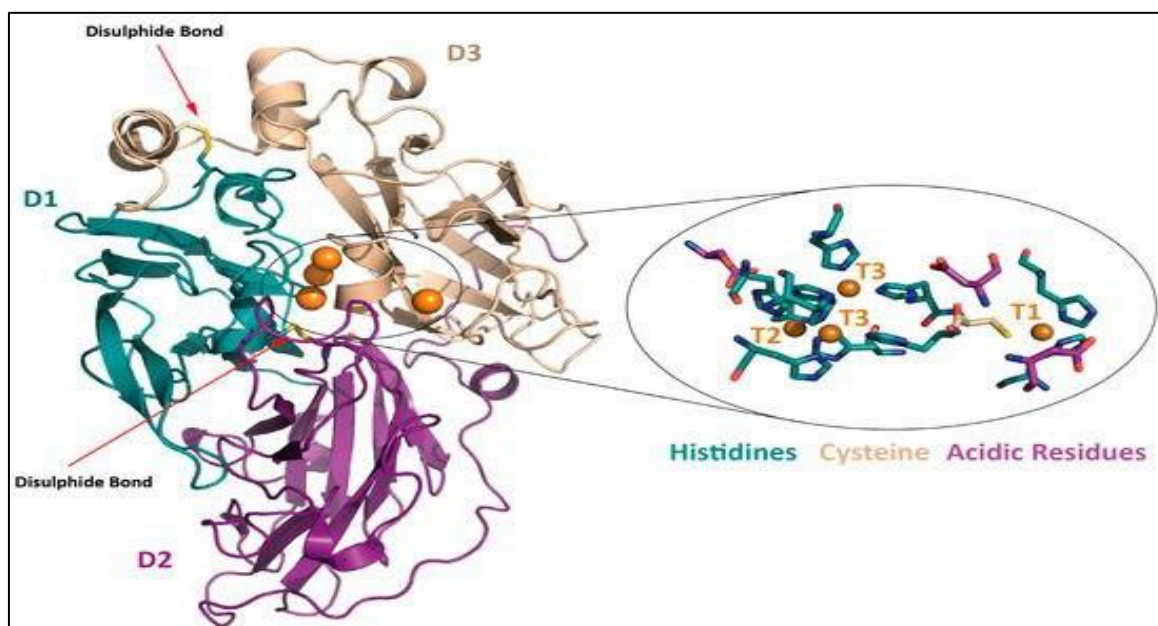
### ➤ **Protéines et acides aminés**

*Laetiporus sulphureus* est une source intéressante de protéines, avec des concentrations variant entre 10,61 et 21 g/100 g DW, selon la provenance et les conditions de culture. Il contient plusieurs acides aminés essentiels, notamment :

- Histidine
- Isoleucine.
- Leucine.
- Lysine.
- Méthionine.
- Thréonine.

Ces acides aminés jouent un rôle fondamental dans la synthèse des protéines, la réparation cellulaire et le bon fonctionnement du métabolisme humain (Kalač, 2019)

Il est capable aussi de produire l'enzyme laccase (**Figure 9**) qui utilisées en biorestauration (Janusz *et al.*, 2017)



**Figure 9 :** la structure de l'enzyme laccases produit par *Laetiporus sulphureus* (Aza & Camarero, 2023)

Selon l'étude menée par **Toumi *et al.*, (2024)** *Laetiporus sulphureus* contient des lectines, des protéines ayant des propriétés biologiques importantes qui contribuent à plusieurs fonctions physiologiques, notamment la régulation de l'immunité et l'induction de la mitogénèse.

#### ➤ **Lipides et acides gras**

Généralement les champignons sont pauvres en lipides, Polypore soufré présente une teneur en matières grasses comprise entre 1,23 et 2,96 g/100 g DW. La composition en acides gras est dominée par les acides gras polyinsaturés (AGPI), qui représentent 64,14 % de la fraction lipidique totale. Les principaux acides gras identifiés sont :

- Acide linoléique (63,27 %) – Oméga-6.
- Acide oléique (14,52 %) – Oméga-9.
- Acide palmitique (11,68 %) – Saturé.

Cette composition confère des propriétés hypocholestérolémiantes et anti-inflammatoires bénéfiques pour la santé cardiovasculaire (**Khatua *et al.*, 2017**).



## ***Chapitre 2 : Champignon *Laetiporus sulphureus*, propriétés biologiques et médicinales***

---

### **➤ Fibres alimentaires**

Les fibres alimentaires sont un autre constituant important de *L. sulphureus*, avec des teneurs comprises entre 4,12 et 7,15 g/100 g DW. Ces fibres jouent un rôle crucial dans le transit intestinal et la régulation du taux de glucose sanguin.

### **➤ Minéraux et oligo-éléments**

Ce champignon est une source significative de **macro et micro- minéraux**, indispensables au bon fonctionnement de l'organisme (**Tableau 3**). Les teneurs varient en fonction des conditions environnementales et du substrat de croissance. Ces minéraux participent à de nombreux processus physiologiques, tels que le métabolisme énergétique, la formation osseuse et la régulation enzymatique.

**Tableau 3:** Les concentrations des minéraux dans *Laetiporus sulphureus* (**Khatua et al., 2017**).

<b>Minéraux</b>	<b>Concentration (mg/100 g DW)</b>
Calcium (Ca)	76,5 – 2170
Phosphore (P)	56 – 489
Magnésium (Mg)	100,1 – 380
Sodium (Na)	20,99 – 80
Potassium (K)	1,85 – 600
Fer (Fe)	2,86 – 130
Zinc (Zn)	0,12 – 5,65
Manganèse (Mn)	0,035 – 0,518
Cuivre (Cu)	0,014 – 0,972

## ***Chapitre 2 : Champignon *Laetiporus sulphureus*, propriétés biologiques et médicinales***

### **4. Propriétés biologiques et pharmacologiques**

Le champignon *Laetiporus sulphureus* possède un large éventail de propriétés biologiques et pharmacologiques qui en font un organisme d'intérêt thérapeutique. Il a démontré une activité antioxydante remarquable, grâce à sa capacité à piéger les radicaux libres, ce qui contribue à la protection des cellules contre le stress oxydatif et à la prévention de maladies dégénératives (**Fatima et al., 2022**). En parallèle, ce champignon présente une activité antimicrobienne significative contre plusieurs souches pathogènes, suggérant un potentiel en tant qu'agent antibactérien et antifongique naturel (**Petrovic et al., 2014**).

D'autres études ont mis en évidence ses propriétés anticancéreuses, notamment sa capacité à induire l'apoptose dans les cellules tumorales, ce qui le rend intéressant dans la recherche contre le cancer (**Jovanovic et al., 2023**). En outre, il manifeste également une activité anti-inflammatoire, bien que les mécanismes moléculaires précis restent encore à approfondir (**Sinangolou et al., 2014**). Ces effets bénéfiques sont en grande partie attribués à la présence de métabolites secondaires bioactifs tels que les composés phénoliques, flavonoïdes, et terpénoïdes, qui jouent un rôle clé dans ses propriétés médicinales (**Tableau 4**).

**Tableau 4:** Composition biologiques de *Laetiporus sulphureus* dans d'autres études.

<b>Molécules</b>	<b>Radicaux libres</b>	<b>IC50 (µg/ml)</b>	<b>Pourcentage d'inhibition</b>	<b>Références</b>
Polyphénols	DPPH	20-50	70-90% (100µg/ml)	<b>Klaus et al., 2013</b>
Enzymes antioxydantes	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	80-120	60-80% (200µg/ml)	<b>Younis et al., 2019</b>
Alcaloïdes	NO <sub>2</sub>	100-150	50-70% (150µg/ml)	<b>Petrović et al., 2014</b>

## ***Chapitre 2 : Champignon *Laetiporus sulphureus*, propriétés biologiques et médicinales***

---

Le champignon *Laetiporus sulphureus* a suscité un intérêt croissant en tant que source potentielle de composés antimicrobiens naturels. Plusieurs études ont révélé son activité antibactérienne, notamment celle réalisée par **Turkoglu et al. (2007)**, qui constitue une référence majeure dans ce domaine. Dans cette étude, les auteurs ont évalué l'effet des extraits éthanoliques de *L. sulphureus* sur différentes souches bactériennes pathogènes. Les résultats ont démontré une activité antibactérienne notable, particulièrement contre les bactéries à Gram positif telles que *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*, avec des zones d'inhibition significatives observées lors des tests de diffusion sur gélose. En revanche, l'activité contre les bactéries à Gram négatif était moins marquée, probablement en raison de la structure plus résistante de leur paroi cellulaire. Cette activité antibactérienne a été attribuée à la présence de composés bioactifs tels que les phénols et les flavonoïdes, bien connus pour leurs propriétés antimicrobiennes. Ces résultats mettent en évidence le potentiel de *L. sulphureus* en tant que candidat prometteur pour le développement de nouveaux agents antibactériens d'origine naturelle.

### **5. Métabolites secondaires**

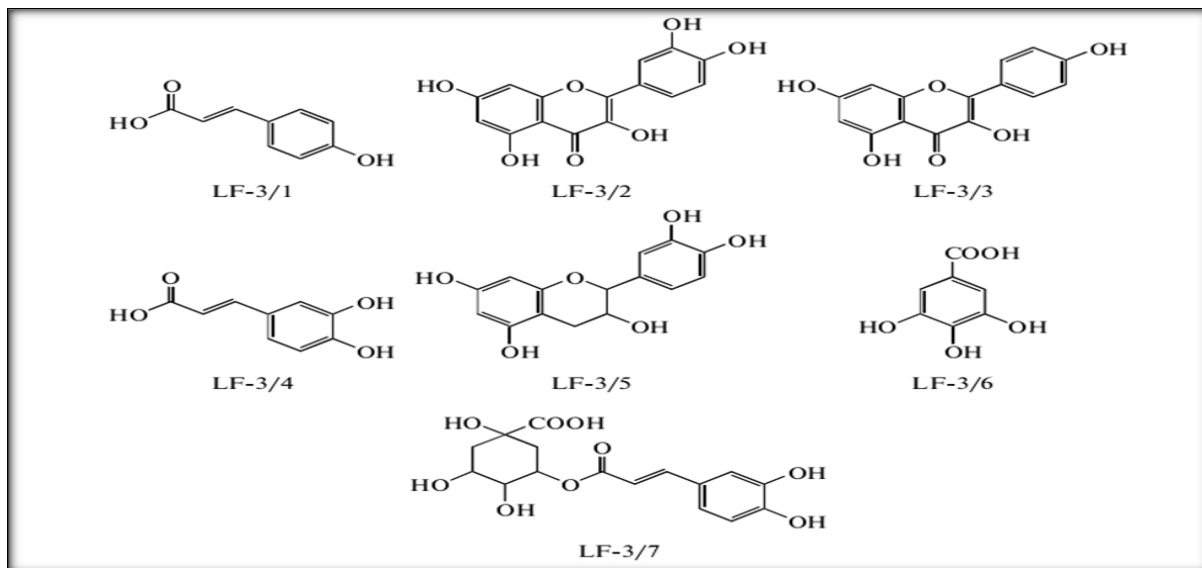
*Laetiporus sulphureus*, constitue une source précieuse de métabolites secondaires bioactifs. Ces composés ne sont pas directement impliqués dans les fonctions vitales du champignon, mais jouent un rôle fondamental dans ses interactions écologiques, sa défense contre les agents pathogènes, et surtout dans leurs effets pharmacologiques bénéfiques chez l'homme.

Parmi les métabolites secondaires les plus étudiés, on retrouve notamment les composés phénoliques, les flavonoïdes, ainsi que certains polysaccharides et terpènes. Ces molécules ont démontré des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes et anticancéreuses, ce qui confère à *Laetiporus sulphureus* un potentiel thérapeutique prometteur.

---

## *Chapitre 2 : Champignon *Laetiporus sulphureus*, propriétés biologiques et médicinales*

la figure 10 et le tableau 5 montre certains métabolites secondaires identifiés dans *Laetiporus sulphureus* ainsi que leurs effets biologiques connus (Jovanović *et al.*, 2023).



**Figure 10 :** Composants antioxydants de *Laetiporus sulphureus* Kaempférol (LF-3/3),Acide caféique (LF-3/4),Catéchine (LF-3/5), Acide gallique (LF-3/6),Acide 5-caféyl quinique (LF-3/7) (Bull.: Fr.) (Olennikov *et al.*, 2011)

**Tableau 5:** Quelques métabolites secondaires du champignon *L. sulphureus* et ces activités biologiques (Jovanović *et al.*, 2023).

Molécule	Famille	Activités biologiques
Acide gallique	Acides phénoliques	Antioxydante
Acide chlorogénique		Anti-inflammatoire
Acide caféique		Anti-cancéreuse
Acide 5-caféyl quinique		Antimicrobienne

***Chapitre 2 : Champignon *Laetiporus sulphureus*, propriétés biologiques et médicinales***

Quercetine Catéchine Kaempférol	Flavonoïdes	Cardioprotectrice Neuroprotectrice Précurseur de vitamine D2
Laetiporène A,B,C Sulphurenoides A-D	Titerpénoïde	
Ergostérol	Stérol fongique	

# Matériels et Méthodes

### 1. Collecte et préparation de la matière fongique

La collecte du champignon *Laetiporus sulphureus* souche TMES43 a été réalisée en 2023 dans la commune d'Ibn Ziad – Constantine (**Figure 11**) durant le mois de novembre. Ce champignon pousse sur les troncs d'arbres et le bois mort. Après la collecte, il a été lavé, découpé en petits morceaux, puis a été séché à température ambiante (25 °C), puis broyé sous azote liquide. La poudre ainsi obtenue a été utilisée pour l'extraction des métabolites secondaires.

L'identification taxonomique de l'espèce a été réalisée par approche bioinformatique (séquençage de gène ITS) par Dr. Toumi Mohammed Es-seddik.



**Figure 11** : Champignon *Laetiporus sulphureus* sur le tronc d'un arbre d'eucalyptus. Photo prise par Dr. Toumi Mohammed Es-seddik, 2021.

### 2. Extraction des molécules bioactives

Afin d'extraire les molécules d'intérêt, qu'elles soient polaires ou apolaires, deux types d'extraction ont été appliquées suivant la méthode de **Kebaili et al. (2021)**.

La première extraction solide-liquide a été réalisée par une macération de la poudre fongique (50 g) dans un volume de 500 ml d'un système solvant constitué de l'eau distillée et le méthanol pure (H<sub>2</sub>O/MeOH) avec les proportions suivantes : 20 : 80, V/V, respectivement, le mélange obtenu ensuite est agité pendant 24h à froid 4°C, puis filtré à l'aide du papier Whatman n° 3 et le compresse.

---

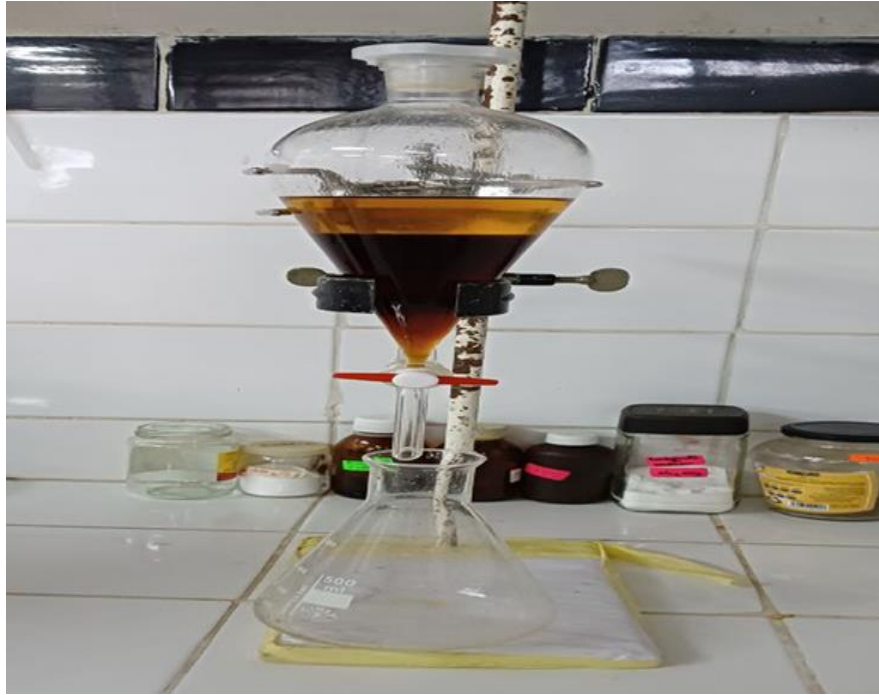
La fraction solide est récupérée pour ré-extraire 2 fois de nouveau par le même solvant. Les filtrats collectés seront après séchés par l'évaporateur rotatif (Büchi R-210), pour obtenir l'extrait brut (Hydro-MeOH-Ext) afin de l'utiliser dans l'extraction liquide-liquide (**Figure 12**).



**Figure 12 :** Évaporation du solvant à l'aide d'un évaporateur rotatif.

Dans l'objectif de séparer les molécules bioactives en fonction de leurs polarités, une extraction liquide-liquide (**Figure 13**) a ensuite été effectuée par des solvants de polarité croissante : le chloroforme, l'acétate d'éthyle et le n-butanol successivement. Les trois fractions organiques récupérées, ainsi que la fraction aqueuse, sont concentrées après l'élimination du solvant et pesées afin de déterminer le rendement d'extraction. Les extraits obtenus sont ensuite conservés à l'obscurité à 4 °C jusqu'à leur utilisation ultérieure.





**Figure 13 :** Extractions liquide-liquide par des solvants de polarité croissante.

### **3. Calcul de rendement**

Le rendement d'extraction représente la masse d'extrait sec obtenue, exprimée en pourcentage par rapport à la masse initiale de la matière fongique utilisée dans le processus d'extraction. Les rendements en extrait secs ont été calculés par la formule suivante :

$$\text{Rdt (\%)} = (\text{PE} / \text{PM}) \times 100$$

Rdt : rendement d'extraction

PE : poids de l'extrait sec après évaporation du solvant

PM : poids sec de la matière fongique initiale.

### **4. Screening des principales classes chimiques**

La détection de la présence des molécules bioactive est assurée par le screening chimique selon le protocole de **Bruneton, (1993)**. Il représente de nombreux tests préliminaires incluent des analyses colorimétriques, de solubilité et de précipitation, visant à détecter la présence des principales classes de métabolites secondaires.

- Les polyphénols

Dans un tube à essai, un volume de 1 mL de l'extrait a été mélangé avec 3 gouttes de  $\text{FeCl}_3$  5%. La formation de bleu, de vert, de noir, de violet ou de rouge indique la présence de phénols.

- Les flavonoïdes

Dans un tube à essai, 2 mL de l'extrait est mélangé avec 0,5 mL d'acide chlorhydrique concentré et de 0,5 g de magnésium en tournure. Après 3 minutes, l'apparition d'une coloration rose/rouge indique la présence de flavonoïdes.

- Les tanins

Dans un tube à essai, 1 mL de l'extrait est mixé avec quelques gouttes d'une solution de  $\text{FeCl}_3$  (1%), Ce test différentiel permet d'identifier la nature des tanins présents dans l'échantillon en fonction de la coloration observée. L'apparition d'une teinte bleue-noire indique la présence de tanins galliques, tandis qu'une coloration verte à bleuâtre révèle la présence de tanins catéchiques.

- Les anthocyanes

Ce test est réalisé par l'ajout de 5 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  et 5 mL d'ammoniaque ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) à 2 ml de chaque extrait. L'apparition d'une coloration rose/ rouge ou bien bleue violacée indique la présence des anthocyanes.

- Les alcaloïdes

Pour chaque extrait, deux tubes ont été préparées, un mélange a été préparé et constitué de 5 mL de l'extrait avec 1 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  dilué (1/2), puis, on rajoute le réactif de Mayer dans le 1<sup>ier</sup> tube et le réactif de Wagner dans le 2<sup>ème</sup>. L'apparition d'une turbidité/ précipite après 15 min indique la présence des alcaloïdes.

- Les saponosides (test de la mousse)

La détection des saponosides a été effectuée en diluant l'extrait à 2/10 avec de l'eau distillée. Le mélange est ensuite porté à ébullition pendant 30 minutes. Après cela, tous les tubes sont fortement agités en position horizontale pendant 15 secondes. La variation de la hauteur de la mousse permet d'évaluer la qualité du test :

- Pas de mousse = test négatif.
- Mousse moins de 1 cm = test faiblement positif.
- Mousse de 1-2 cm = test positif.
- Mousse plus de 2 cm = test très positif.

- Les composés réducteurs

Dans un tube à essai, un volume de 1 mL de l'extrait a été mélangé avec 1 mL d'eau distillée, après l'ajout de 20 gouttes de liqueur de Fehling, l'ensemble a été chauffé. L'apparition d'un précipité rouge brique confirme la présence de composés réducteurs.

## **5. Analyse quantitative des substances bioactives**

### **5.1. Dosage des polyphénols totaux (PT)**

- Principe

Le dosage des polyphénols totaux (PT) a été réalisé selon la méthode de (**Singleton et Rossi, 1965**) par l'utilisation du réactif Folin-Ciocalteu (FCR), modifié selon la méthode de dosage sur microplaque décrite par **Muller et al. (2010)**.

Le réactif FCR composé d'un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique, subit une réduction lorsqu'il oxyde les phénols. Cela, donne ensuite un mélange d'oxydes de tungstène et de molybdène, générant une coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en polyphénols totaux dans l'échantillon. L'absorbance maximale de cette coloration se situe entre 750 et 765 nm.

- Mode opératoire

Dans des tubes à essais, un volume de 200  $\mu\text{L}$  de chaque extrait (1 mg/mL) est mélangé à 1000  $\mu\text{L}$  du FCR (1/10 dans l'eau distillée), puis 500  $\mu\text{L}$  de carbonate de sodium  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5 % (7.5 g dans 100 d'eau distillée) sont ajoutés afin d'optimiser l'alcalinité du milieu et favoriser la réaction d'oxydo-réduction.

Le mélange est ensuite incubé à température ambiante durant 30 min. les absorbances ont été prises à l'aide d'un spectrophotomètre Jenway 7315 Advanced UV/Visible une la longueur d'onde 765 nm.

La quantification des polyphénols totaux a été réalisée à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec le standard acide gallique à différentes dilutions (25, 50, 75, 100, 125, 150  $\mu\text{g/mL}$ ), dans les mêmes conditions que les extraits. Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalents d'acide gallique ( $\mu\text{g GAE/mg d'extrait}$ ).

### 5.2. Dosage des flavonoïdes totaux (FT)

- Principe

Les flavonoïdes totaux (TF) sont dosés suivant le protocole décrit par **Amjad *et al.* (2021)**, avec légères modifications.

C'est un dosage direct par le chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ), en effet les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre en position 5, susceptible de réagir avec l' $\text{AlCl}_3$ , en formant un complexe jaunâtre par la chélation de l'ion  $\text{Al}^{3+}$ . La coloration jaunâtre produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présente dans l'extrait.

- Mode opératoire

Afin de quantifier les TF, les étapes suivantes ont été réalisées respectivement : dans un tube à essai, 2,0 mL du méthanol est mixé avec un volume de 0,5 mL de l'extrait ou du standard (rutine), ensuite, 0,20 mL  $\text{AlCl}_3$  (10% w/v) est ajouté, le mélange est agité par le vortex. Après 3.0 min, 0,20 mL  $\text{CH}_3\text{COONa}$  1M est additionné, le volume totale dans chaque tube est complété avec le méthanol pour atteindre 5 mL.

Après une incubation de 40 min, la lecture des absorbances est réalisée à 415 nm. Les concentrations des flavonoïdes totaux de chaque extrait sont définies en utilisant les équations de régression des courbes d'étalonnage établies à l'aide du Rutine (standard) à différentes concentrations (12,5, 25, 50, 100, 125 et 250 µg/mL). Les résultats sont exprimés en microgrammes équivalents de Rutine (µg RE/mg d'extrait).

### 6. Détermination de l'activité antioxydante *in vitro*

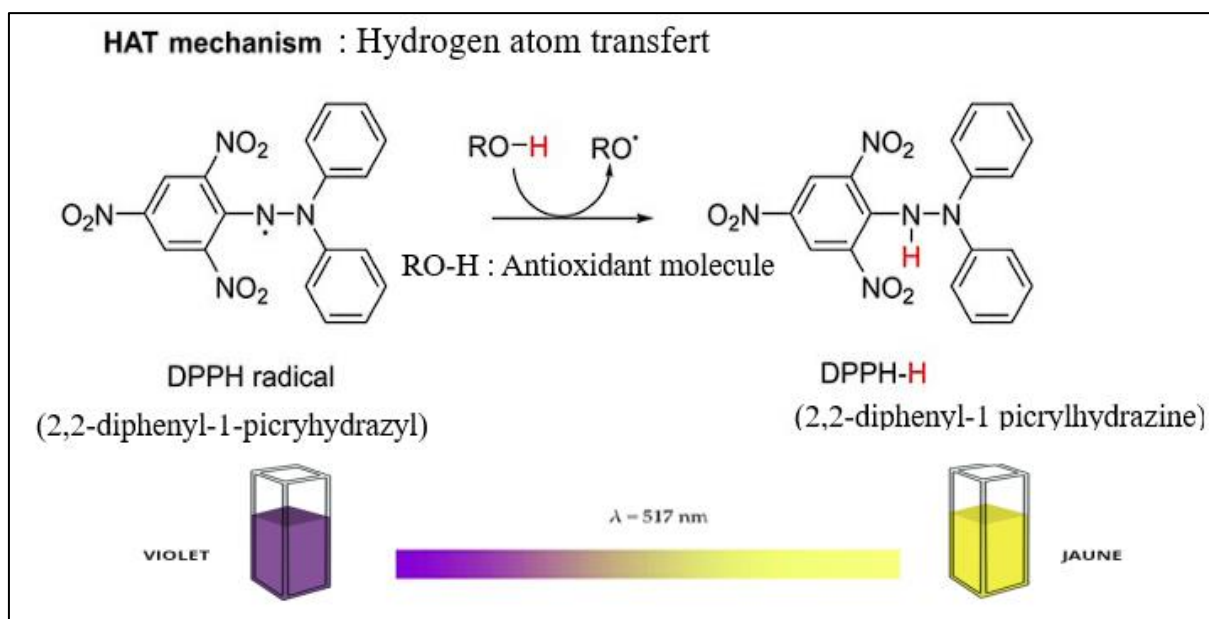
#### 6.1. Activité antiradicalaire au DPPH

L'activité antioxydante des extraits issus de produits naturels peut être évaluée à l'aide de plusieurs méthodes, dont la plupart reposent sur la modification de la coloration d'un réactif dans le milieu réactionnel. Pour étudier l'activité anti radicalaire des extraits de *Polyporus sulphureus*, nous avons utilisé le test au DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle).

- Principe

C'est un de référence pour l'évaluation du pouvoir antioxydant des extraits naturels (**Bastos *et al.*, 2007**). Le DPPH• est un radical libre stable, caractérisé par un électron non apparié situé sur un atome d'azote (**Figure 14**) (**Liang *et Kitts*, 2014**).

L'activité antioxydante est mesurée par la réduction du DPPH en diphényl-picrylhydrazine (DPPH-H) par l'hybridation de son électron libre avec l'antioxydant, ce qui entraîne une diminution de l'absorbance correspond à une décoloration proportionnelle au nombre d'électrons captés (**Bastos *et al.*, 2007**). Cette réaction se réalise à température ambiante et à l'obscurité afin de préserver les molécules thermosensibles et photosensibles. L'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 517 nm.



**Figure 14 :** Mécanisme de la réaction entre le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) et un antioxydant (Bibi Sadeer *et al.*, 2020).

- Manipulation

Le test est réalisé selon la méthode décrite par (Blois, 1958) et (Tel *et al.*, 2012) avec quelques modifications. Dans une microplaque à 96 puits, à l'aide d'une micropipette, 40  $\mu\text{L}$  de différentes concentrations de chaque extrait ou du standard  $\alpha$ -tocophérol ont été déposés dans les puits, ensuite, 160  $\mu\text{L}$  de solution de DPPH (0,2 mM préparer dans le méthanol) ont été ajoutés.

Le tout est incubé durant 30 min à une température ambiante à l'abri de la lumière, la variation de coloration a été suivie par la mesure de l'absorbance à la longueur d'onde 517 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques à 96 puits Multimode EnSpire ; Perkin Elmer, Waltham, MA. Le résultat est exprimé par le pourcentage d'inhibition I % selon la formule suivante :

$$I \% = [(\text{Abs Control négatif} - \text{Abs Echantillon}) / \text{Abs Control négatif}] \times 100$$

Où :

I % : Pourcentage d'inhibition de DPPH.

Abs Echantillon : Absorbance de l'échantillon.

Abs Control négatif : Absorbance du contrôle négatif ; Le contrôle négatif est composé du même volume de la solution de DPPH avec le méthanol qui remplace le volume des extraits à tester.

L'activité antioxydante de nos extraits est exprimée en IC<sub>50</sub>, ce paramètre est défini comme étant la concentration de l'antioxydant qui réduit 50% de l'activité de DPPH.

### 6.2. Test de réduction du radical-cation ABTS<sup>•+</sup>

- Principe

Le test ABTS<sup>•+</sup> est un test colorimétrique couramment utilisée pour évaluer l'activité antioxydante des métabolites secondaires. Il repose sur la capacité des antioxydants à réduire le radical ABTS<sup>•+</sup> généré après l'oxydation de l'acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) en présence du persulfate d'ammonium ou de potassium ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> ou K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) (**Figure 15**). L'intensité de la décoloration du radical ABTS<sup>•+</sup> permet d'estimer l'efficacité des antioxydants, car elle reflète leur pouvoir de neutralisation.

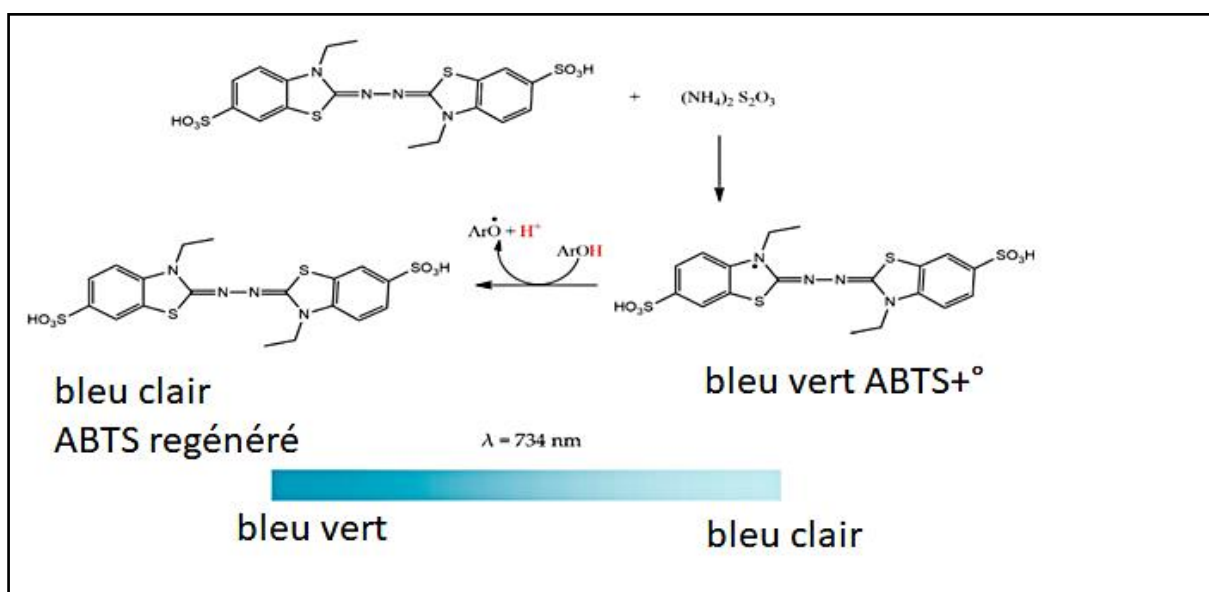
C'est un test adéquat pour évaluer le potentiel antioxydant des composés hydrophiles et lipophiles, grâce à plusieurs avantages, telles que : sa facilité d'application, de la stabilité du radical ABTS sur une large gamme de pH, de son faible potentiel redox et de sa solubilité dans l'eau ainsi que dans les solvants organiques. (**Bibi Sadeer *et al.*, 2020 ; Akar et Arslan Burnaz, 2020**).

- Manipulation

La réalisation est appliquée selon la méthode de **Re *et al.* (1999)**, avec quelques ajustements. Le radical ABTS<sup>•+</sup> est généré par oxydation de l'ABTS (19,2 mg dissous dans 5 ml d'eau) à l'aide du persulfate de potassium K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> (3,3 mg dans 5 ml d'eau). Le mélange est ensuite conservé à 4°C dans l'obscurité pendant 12 à 16 heures. Avant utilisation, l'absorbance est ajustée à 0,7 ± 0,02 à 734 nm, en diluant le reactif avec de l'eau distillée.

Dans une microplaque à 96 puits, 160  $\mu\text{L}$  de la solution d'ABTS $\bullet^+$  ont été ajoutés à 40  $\mu\text{L}$  d'extrait ou du  $\alpha$ -tocophérol (standard) à différentes concentrations. Un blanc a été préparé en parallèle en remplaçant l'extrait par du méthanol. Après une incubation de 10 minutes à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance a été mesurée à 734 nm par un lecteur de microplaques à 96 puits Multimode EnSpire ; Perkin Elmer, Waltham, MA.

L'activité antioxydante a été exprimée en pourcentage d'inhibition de l'ABTS $\bullet^+$ , selon la formule précédente (test du DPPH).



**Figure 15 :** L'oxydation de l'ABTS en présence de persulfate de potassium ou d'ammonium par transfert d'électron. La molécule antioxydante peut alors neutraliser le radical formé en donnant un  $\text{H}^+$  (Bibi Sadeer *et al.*, 2020).

### 6.3. Test de phénanthroline

#### • Principe

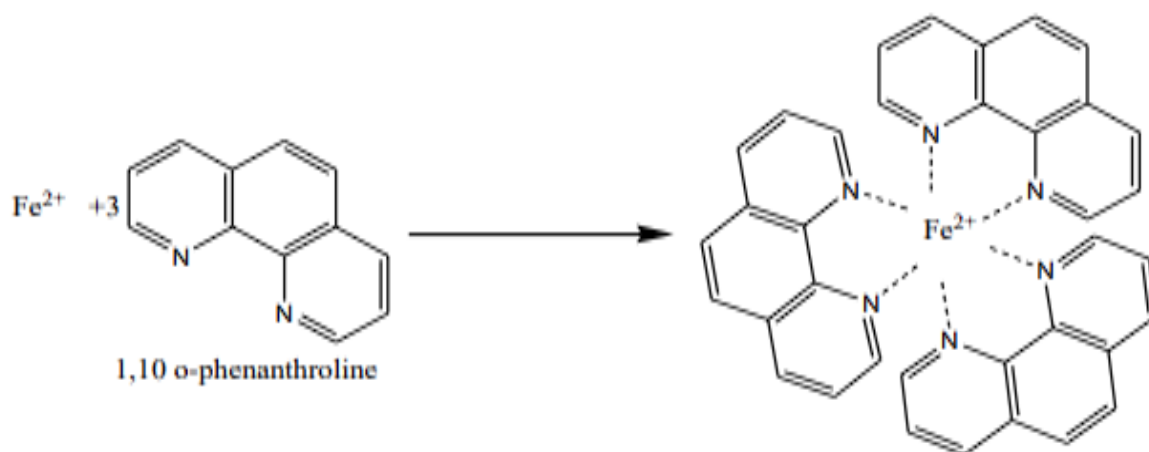
Cette activité antioxydante est évaluée par une méthode colorimétrique basée sur la réduction quantitative du fer(III) dans le complexe Fe(III)-phénanthroline (Figure 16). Ce complexe possède une stabilité et une couleur rouge, dont l'absorbance est mesurée par spectrophotométrie à 510 nm. (Szydłowska-Czerniak *et al.*, 2008).



- Mode opératoire

Selon **Szydłowska-Czerniak *et al.* (2008)**, dans chaque essai, un mélange de 50  $\mu\text{L}$  de  $\text{FeCl}_3$  (0,2 %), 30  $\mu\text{L}$  de phénanthroline et 110  $\mu\text{L}$  de méthanol est ajouté à 10  $\mu\text{L}$  d'extrait ou d' $\alpha$ -tocophérol à différentes dilutions. Un blanc est préparé en substituant l'extrait par du méthanol. Le mélange réactionnel est ensuite incubé à 30 °C pendant 20 minutes. L'absorbance est mesurée à 510 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques à 96 puits Multimode EnSpire ; Perkin Elmer, Waltham, MA

L'activité antioxydante est évaluée en fonction de l'augmentation de l'absorbance. Le résultat est présenté par la concentration de l'extrait correspond à une absorbance égale à 0,5.



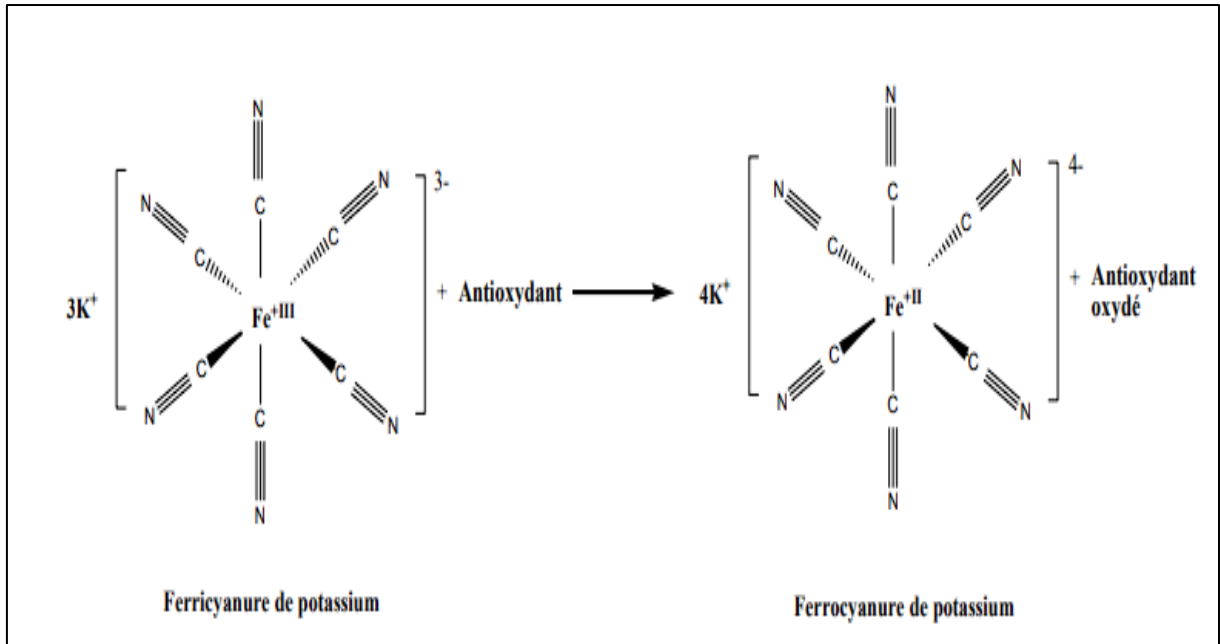
**Figure 16** : Schéma du mécanisme proposé pour la formation du complexe Fe(II)-phénanthroline en présence d'un antioxydant (**Hammad *et al.*, 2017**).

#### 6.4. Pouvoir réducteur du fer (FRAP)

- Principe

Le test FRAP est un dosage colorimétrique du transfert d'électrons, basée sur la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique ( $\text{Fe}^{+3}$ ) présent dans le ferricyanure de potassium ( $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ) en fer ferreux ( $\text{Fe}^{+2}$ ), et conduit à la formation de ferrocyanure de potassium ( $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ) (**Figure 17**).

Cette réaction est traduite par le changement de la couleur jaune du ferricyanure de potassium vers la couleur bleue/verte, dont l'absorbance est mesurable à 700 nm. L'intensité de la couleur dépend du pouvoir antioxydant de la molécule ou l'extrait à tester. (Oyaizu, 1986 ; Bibi Sadeer et al., 2020).



**Figure 17 :** Mécanisme réactionnel du test de FRAP (Oyaizu, 1986).

- manipulation

Le mélange réactionnel est constitué de 10 $\mu\text{L}$  d l'extrait ou l' $\alpha$ -tocophérol, 40 $\mu\text{L}$  tampon phosphate à pH 6.6 et 50 $\mu\text{L}$  de potassium ferricyanide  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  (1%), puis le mélange est incubé à 50°C pendant 20min. Après, 50 $\mu\text{L}$  de l'acide trichloroacétique (TCA 10 %), 40 $\mu\text{L}$  d' $\text{H}_2\text{O}$  distillée et 10 $\mu\text{L}$  chlorure de fer ( $\text{FeCl}_3$ ) sont ajoutés ensuite la lecture est réalisée à 700 nm avec le même lecteur de microplaque.

### 7. Test de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des extraits du champignon polypore soufré est évaluée vis-à-vis de 4 souches bactériennes (2 Gram- et 2 Gram+) par la technique de diffusion des puits sur gélose est réalisée selon la méthode décrite par (ELA *et coll.*, 1996).

Les bactéries tests ont été obtenues au niveau du laboratoire de Bactériologie Médicale du C.H.U. de Constantine. (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et ATCC 43300, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922. Pour chaque bactérie testée, un inoculum est réalisé à partir d'une culture de 24 heures, mis en suspension dans de l'eau physiologique stérile de telle manière à obtenir une densité optique comprise entre 0.1 à 0.2 pour une longueur d'onde de 620 nm (approximativement 106 CFU/mL).

L'ensemencement se fait par écouvillonnage uniforme sur toute la surface de l'agar. Une fois les boîtes légèrement séchées pour fixer les cellules à la surface, on procède à la perforation du centre de la gélose à l'aide de l'extrémité d'une pipette Pasteur stérile, créant ainsi des puits destinés à recevoir l'extrait à tester.

Les échantillons sont préparés à une concentration de 100 mg/mL dans le DMSO, puis filtrés dans des conditions aseptiques à travers une membrane de 0.22µm. Des puits reçoivent environ 40µL de chaque extrait. Les puits témoins reçoivent environ 40µL de DMSO.

Ensuite, les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 heures, en évidence par la formation d'un halo d'inhibition autour des puits. Ce halo représente la zone où la croissance microbienne a été inhibée. La lecture des résultats se fait en mesurant le diamètre de ces zones d'inhibition à l'aide d'une règle millimétrique. Un extrait est considéré comme actif si le diamètre d'inhibition dépasse 8 mm.

### 8. Analyse statistique

Les résultats ont été exprimés en moyenne  $\pm$  écart-type. IC<sub>50</sub> et C<sub>A0,50</sub> ont été calculés par équation de régression linéaire. L'analyse de la variance (ANOVA) a été effectuée à l'aide du logiciel GraphPad Prism 8.0. Les différences significatives entre les moyennes ont été déterminées par le test post hoc de Tukey, avec un seuil de signification statistique de P < 0,05.

---

## Résultats et Discussion

### 1. Rendement d'extraction

L'extraction est une technique de séparation qui permet d'isoler un ou plusieurs composants d'un mélange en utilisant un solvant adapté, en tirant parti des différences de solubilité entre les substances dans les phases en présence (**Diawara et al., 2011**).

Les rendements d'extraction sont présentés dans le tableau 6 et montrent une variation significative selon le type d'extrait. De manière générale, l'extrait aqueux (Aq) affiche le rendement le plus élevé avec 1%, suivi de l'extrait chloroformique (Chl) à 0.3%, puis de l'extrait butanolique (n-But) avec 0,12%, et enfin de l'extrait à l'acétate d'éthyle (AcEt) qui présente le rendement le plus faible à 0,04%.

**Tableau 6 :** Rendement d'extraction des extraits.

Extrait	Chl	AcEt	n-But	Aq
Rendement (%)	0.3	0.04	0.12	1

Les différents rendements décrits dans le **tableau 6** sont proches aux résultats de **Kebaili et al. (2021)**, cette équipe de recherche qui a étudié une espèce du même phylum (des extraits de *G. lucidum*) en Algérie. Ils ont trouvé que les valeurs (Chloroformique 0,46%, acétate d'éthyle 0,63%, n-butanol 1,42%, % et aqueux 5,78%) indiquent la présence de quantités importantes de composés polaires par rapport aux composés apolaires.

**Olennikov et al. (2011)** ont effectué le fractionnement des composés extractibles des corps fructifères de *Laetiporus sulphureus*. Pour cela, 700 g de matière sèche broyée ont été extraits cinq fois à l'éthanol à 70%, selon un rapport de 1:20. Les rendements obtenus pour les différentes fractions sont les suivants: hexane (0,61%), chloroforme (0,30%), acétate d'éthyle (0,20%), butanol (0,51%) et fraction aqueuse (3,77%).

La variation des rendements d'extraction peut s'expliquer par plusieurs facteurs, notamment les méthodes d'extraction employées, la durée et la température du processus, le stade de maturité au moment de la récolte, la taille des champignons, le rapport entre

---

## Résultats et discussions

le solvant et l'échantillon, ainsi que la nature des solvants utilisés. (**Khatua et al.**, (2019) ; **Ghimire et al.**, (2021) ; **Yim et al.**, (2011) ; **Villalobos-Pezos et al.**, (2024)).

Ces éléments sont à l'origine des différences observées entre nos résultats et ceux rapportés dans d'autres études (**Khatua et al.**, (2019) ; **Ghimire et al.**, (2021) ; **Yim et al.**, (2011) ; **Villalobos-Pezos et al.**, (2024)).

## 2. Screening chimique

Les résultats de screening de l'extrait Hydro-MeOH du champignon sont présenté dans le **tableau7**.

Nous avons remarqué l'absence de flavonoïdes, indiquant que les extraits analysés ne contiennent pas ces composés en quantité suffisante pour être détectés par les méthodes utilisées. Cette absence est cohérente avec les résultats obtenus, où les flavonoïdes ne sont pas apparus parmi les composés majeurs dans le même champignon de Serbie (**Jovanović et al**, 2023).

**Tableau 7:** Résultats de screening chimique.

Constituant	Extrait brut (Hydro-MeOH)
Flavonoïdes	-
Polyphénols	+++
Tannins	+
Anthocyanes	+
Alcaloïdes	
• Test de Mayer	+++
• Test de Wagner	++
Saponosides (mousse)	-
Composés réducteurs	+++

Indication:

- (+++): Niveau élevé de la présence des molécules.
- (++) : Niveau modéré.

## *Résultats et discussions*

---

- (+): Niveau faible.
- (-): Absence.

Concernant les tanins, leur présence a été jugée faible, traduisant une concentration réduite en composés phénoliques. Certains champignons sont capables de produire des tanins, reconnus pour leurs propriétés antifongiques et antioxydantes, mais leur concentration peut varier selon les conditions environnementales (**Zhao *et al.*, 2015**).

Les anthocyanines, quant à elles, ont été détectées en faible quantité, ce qui reflète un taux réduit de pigments flavonoïdes responsables des teintes rouge, bleue ou violette. Par conséquent, la coloration caractéristique du champignon pourrait plutôt être attribuée à d'autres types de pigments, tels que les caroténoïdes, fréquents chez les basidiomycètes (**Solomon *et al.*, 2020**).

Aucune trace de saponines n'a été détectée, suggérant que le champignon ne produit pas ces molécules, ou du moins pas en quantité mesurable. Cette observation est en accord avec les travaux de **Harborne. (2006)**, sur la distribution des saponines chez différentes espèces fongiques.

Un teneur élevée en polyphénols a été mise en évidence dans le champignon, suggère une activité antioxydante élevée. Ces résultats sont identiques à ceux de **Pétrović *et al.*(2022)**.

Enfin, une forte présence de composés réducteurs a été relevée, témoignant d'une concentration importante en substances impliquées dans les réactions d'oxydoréduction, souvent associées à des antioxydants naturels. Cette richesse en composés réducteurs pourrait expliquer les propriétés protectrices du champignon contre le stress oxydatif (**Klaus *et al.*, 2013**).

Ces molécules ont un pouvoir antioxydant qui contribue à la protection contre le stress oxydatif, le vieillissement cellulaire, et certaines maladies chroniques telles que les maladies cardiovasculaires et les cancers (**Halliwell *et al.*, 2015**).

En ce qui concerne les alcaloïdes, leur présence a été observée en concentrations variables selon les tests effectués, allant d'un niveau modéré à une concentration élevée.

---

Ces composés sont réputés pour leurs propriétés antimicrobiennes et antitumorales et toxicités contre les agents prédateurs, ce qui rejoint les observations de **Petrović *et al.* (2014)**.

Ces composés bioactifs possèdent une large gamme de propriétés thérapeutiques. Ils sont connus pour leur activité analgésique, antitumorale, anti-inflammatoire, ainsi que pour leurs effets sur le système nerveux central (**Wink *et al.*, 2015**), de nombreux alcaloïdes sont utilisés comme principes actifs dans des médicaments bien connus, à l'instar de la morphine analgésique, de la quinine (antipaludéenne) ou encore de la vinblastine anticancéreuse (**Cushnie *et al.*, 2014**).

Par ailleurs, certains alcaloïdes ont démontré une efficacité remarquable en tant qu'agents antimicrobiens. En effet, plusieurs études, comme celle de **Kakatum *et al.* (2012)**, ont mis en évidence leur capacité à inhiber la croissance de diverses bactéries et champignons, ce qui ouvre la voie à leur utilisation potentielle dans le développement de nouveaux antibiotiques face à la résistance croissante de ces agents pathogènes.

### **3. Analyse quantitative des substances bioactives (polyphénols et flavonoïdes totaux)**

L'intégration d'antioxydants dans notre alimentation ou sous forme de compléments joue un rôle clé dans la protection contre le stress oxydatif. Depuis des décennies, les champignons suscitent un intérêt particulier dans ce domaine en raison de leur richesse exceptionnelle en composés antioxydants (**Das *et al.*, 2020**). Ces organismes fascinants représentent en effet une source naturelle prometteuse pour combattre les radicaux libres et préserver notre santé cellulaire.

Le champignon *Laetiporus sulphureus*, communément appelé "Poulet des bois", est une espèce fongique remarquable par ses multiples vertus thérapeutiques. Ses propriétés médicinales, largement documentées dans la littérature scientifique, sont principalement attribuables à sa composition riche en métabolites bioactifs (**El khateeb *et al.*, 2021**).



## Résultats et discussions

Le teneur en phénoliques totaux (PT) et flavonoïdes totaux (FT) des extraits de *Laetiporus sulphureus* est présentée dans le **tableau 8**.

Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait ( $\mu\text{g EAG/mg}$ ) pour les PT, et en microgrammes d'équivalent de rutine par milligramme d'extrait ( $\mu\text{g RE/mg}$ ) pour les FT. Ces concentrations ont été calculées à l'aide des équations de régression linéaire dérivées des courbes d'étalonnage établies à partir de standards d'acide gallique (**figure 18**) et de rutine (**figure 19**). Cette méthode repose sur la relation linéaire entre l'absorbance des échantillons et les concentrations des standards, permettant ainsi une quantification précise des composés phénoliques dans les extraits étudiés.

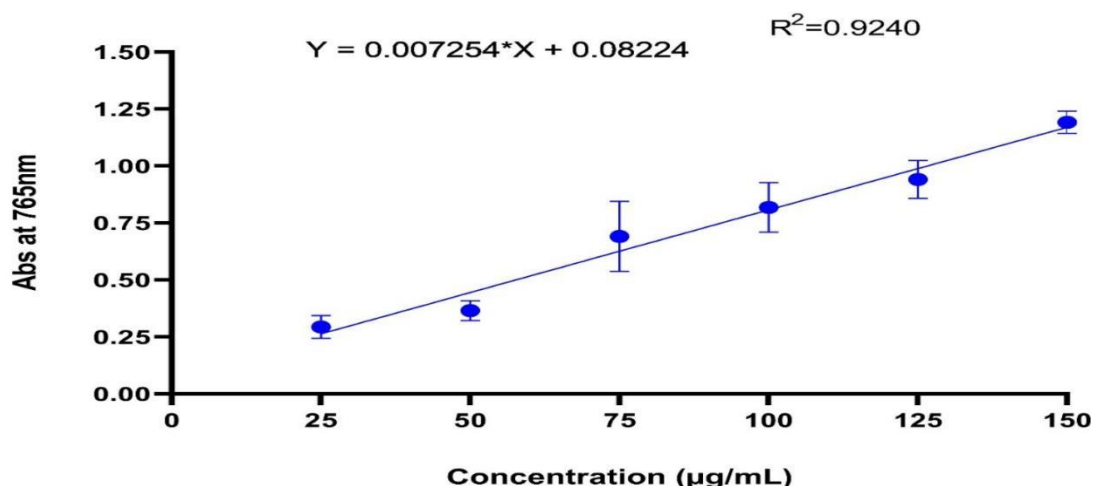
L'analyse quantitative des composés phénoliques totaux (PT) et flavonoïdes totaux (FT) des extraits de *Laetiporus sulphureus* révèle une variation significative selon la

Extrait	PT ( $\mu\text{g EAG/mg Ext}$ )	FT ( $\mu\text{g RE/mg Ext}$ )
AcEt	111,90 $\pm$ 3,29	29,8 $\pm$ 0
Chl	0,91 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0
n-But	11.12 $\pm$ 5.52	0 $\pm$ 0
Aqueux	8,54 $\pm$ 0	7,21 $\pm$ 0

polarité des solvants utilisés.

**Tableau 8 :** Teneur en polyphénols et en flavonoïdes totaux des extraits de *Laetiporus sulphureus*.

Les résultats sont exprimés en moyenne $\pm$ écart-type (Moy $\pm$ SD).

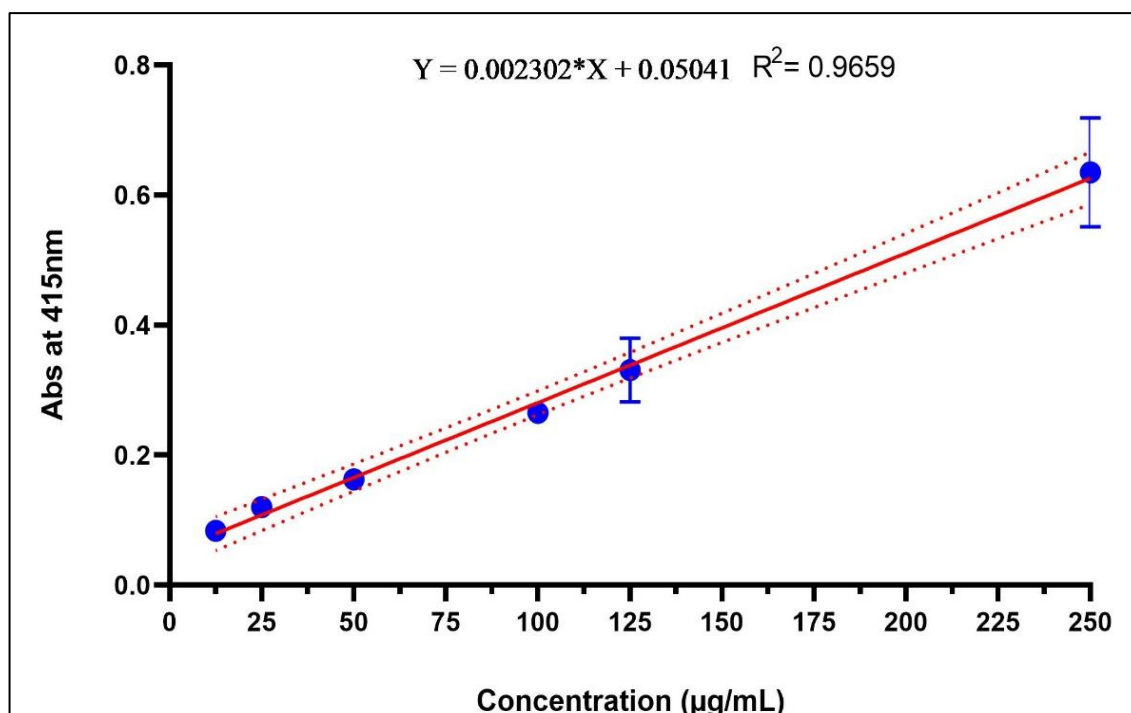


**Figure 18 :** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

L'extrait AcEt présente la teneur la plus élevée en polyphénols totaux avec  $111,90 \pm 3,29$  µg EAG/mg d'extrait. Ce résultat est cohérent avec la polarité intermédiaire de l'acétate d'éthyle, qui favorise l'extraction des composés phénoliques modérément polaires. Ces résultats suggèrent que la majorité des polyphénols présents dans *L. sulphureus* sont solubles dans des solvants à polarité moyenne.

À l'opposé, les extraits Chl et Aq présentent des teneurs très faibles en polyphénols totaux, respectivement  $0,91$  µg EAG/mg et  $0,85$  µg EAG/mg. Cela pourrait s'expliquer par une affinité plus faible de ces solvants pour les métabolites secondaires phénoliques présents dans le champignon. Le n-But montre une concentration modérée ( $5,52 \pm 1,12$  µg EAG/mg), ce qui pourrait indiquer la présence de composés hydrophiles à caractère phénolique.

Concernant les flavonoïdes totaux, seul l'extrait à l'AcEt montre une teneur détectable ( $29,8 \pm 0$  µg RE/mg), tandis que les autres extraits (Aq, Chl et n-But) n'ont révélé aucune quantité détectable. Cela souligne que les flavonoïdes présents dans *L. sulphureus* sont majoritairement solubles dans l'acétate d'éthyle, ce qui renforce encore une fois l'importance de la polarité du solvant dans l'efficacité de l'extraction.



**Figure 19 :** Courbe d'étalonnage de la rutine.

Les études ont révélé que notre champignon présente une faible à non détectable en flavonoïdes ce qui également été confirmé par le screening chimique.

Contrairement aux résultats de **Pétrović et al. (2022)**, qui en observé une teneur de  $5,510 \pm 0,160$  mg EAG/g dans l'extrait méthanolique de *Laetiporus sulphureus* collecté à Batocina en Serbia, nos extrait présentent des concentrations en PT notablement plus élevées, nos résultats aussi supérieurs de **Turkoglu et al. (2007)** qui ont une teneur de  $63,8 \pm 0,25$  mg EAG/g chez l'extrait éthanolique de *Laetiporus sulphureus* collecté à Denizli en Turquie.

Le chercheur **Turkoglu et al. (2007)** ont estimé la teneur de FT de l'extrait *Laetiporus sulphureus* du turque, environ de  $14,2 \pm 0,12$  µg équivalent de quercétine/g d'extrait. Cette concentration est supérieure à celles de nos extraits.

De manière générale, la présence de composés phénoliques et de flavonoïdes dans les champignons indique qu'ils constituent une source naturelle de molécules bioactives,

possédant des propriétés antioxydantes et jouant un rôle préventif dans certaines pathologies humaines. De nombreuses études ont démontré que la composition chimique de ces molécules bioactives et leur potentiel antioxydant dépendent fortement de facteurs génétiques, de l'espèce fongique, des conditions environnementales origine géographique, du stade du cycle de vie mycélium vers corps fructifère mature, du type de solvant, de la méthode d'extraction et de la dose d'extrait utilisée (**Barros *et al.*, 2008 ; Heleno *et al.*, 2015 ; Taofiq *et al.*, 2017**).

L'efficacité de l'extraction des composés chimiques à l'aide de solvants organiques dépend étroitement de leurs propriétés physico-chimiques, notamment de leur solubilité et de leur polarité. En effet, chaque composé possède une structure moléculaire spécifique qui détermine son affinité avec un type de solvant donné (**Stalikas *et al.*, 2007**).

Les composés polaires, par exemple, sont généralement mieux extraits avec des solvants polaires comme le méthanol, l'éthanol ou l'acétone, tandis que les composés non polaires se dissolvent plus facilement dans des solvants non polaires tels que l'hexane ou le chloroforme. Ainsi, le choix du solvant n'est jamais arbitraire, mais repose sur une compréhension approfondie des caractéristiques chimiques du composé ciblé. Cette étape est cruciale pour maximiser le rendement de l'extraction et garantir la stabilité des molécules bioactives. Une mauvaise sélection du solvant peut entraîner une extraction inefficace ou la dégradation des composés sensibles (**Stalikas *et al.*, 2007**). Par conséquent, les paramètres d'extraction sont soigneusement optimisés afin d'obtenir un extrait aux propriétés bioactives ciblées (**Kebaili, 2022**).

#### **4. Evaluation d'activité antioxydante *in vitro***

Dans cette étude, nous avons évalué le potentiel antioxydant des extraits (AcEt, Chl, n-But et Aq) du champignon *Laetiporus sulphureus* à l'aide de plusieurs méthodes complémentaires. Tous les extraits ont montré une activité antioxydante dépendante de la

---

## Résultats et discussions

concentration, traduisant une efficacité croissante avec l'augmentation de la dose. Le tableau 9 présente les valeurs d'IC<sub>50</sub> et d'C<sub>A0,5</sub> obtenues pour chaque extrait, en comparaison avec le standard  $\alpha$ -tocophérol.

**Tableau 9 :** Activités antioxydantes des extraits de champignon *Laetiporus sulphureus* et l'  $\alpha$ -Tocophérol.

Extraits	Activités Antioxydantes			
	DPPH	ABTS	FRAP	Phenanthroline
	IC <sub>50</sub> $\mu$ g/mL		C <sub>A0,5</sub> ( $\mu$ g/mL)	
AcEt	314,11 $\pm$ 9.23***	165,91 $\pm$ 9,43***	>200	5,15 $\pm$ 0,98**
Chl	>800	>800		NT
n-But	>800	455,97 $\pm$ 93.38*		<3,125***
Aq	>800	>800		36,33 $\pm$ 14,84
$\alpha$ – Tocophérol	13,03 $\pm$ 1,28	7,58 $\pm$ 0,44	34,93 $\pm$ 2,38	6,90 $\pm$ 0,21

IC<sub>50</sub> : la concentration des pourcentages d'inhibition de 50% et C<sub>A0,5</sub>: dans le test de FRAP, on cherche la concentration qui réduit l'absorbance du réactif à 0,5, L'IC<sub>50</sub> et C<sub>A0,5</sub> ont été calculées par analyse de régression linéaire et exprimées en moyenne $\pm$ écart-type.

### 4.1. Activité antiradicalaire Test de piégeage du DPPH<sup>\*</sup>

Les résultats de l'évaluation de l'activité anti radicalaire au DPPH<sup>\*</sup> sont représentés par les pourcentages d'inhibition de chaque concentration (**Figure 20, Tableau 10**), ainsi que les valeurs de la concentration d'inhibition de 50% (IC<sub>50</sub>) (**Tableau 9**).

L'Ext-AcEt a présenté une meilleure activité antiradicalaire (IC<sub>50</sub> : 314,11 $\pm$ 9.23) avec une inhibition qui variait de 3 % à 68,27% pour les concentrations d'extrait de 12,5 à 800  $\mu$ g/mL (**Figure 20**), Notre extrait a un pouvoir inhibiteur modérée par rapport à celle de l' $\alpha$ -Tocophérol (IC<sub>50</sub> : 13,03 $\pm$ 1,28  $\mu$ g/mL)

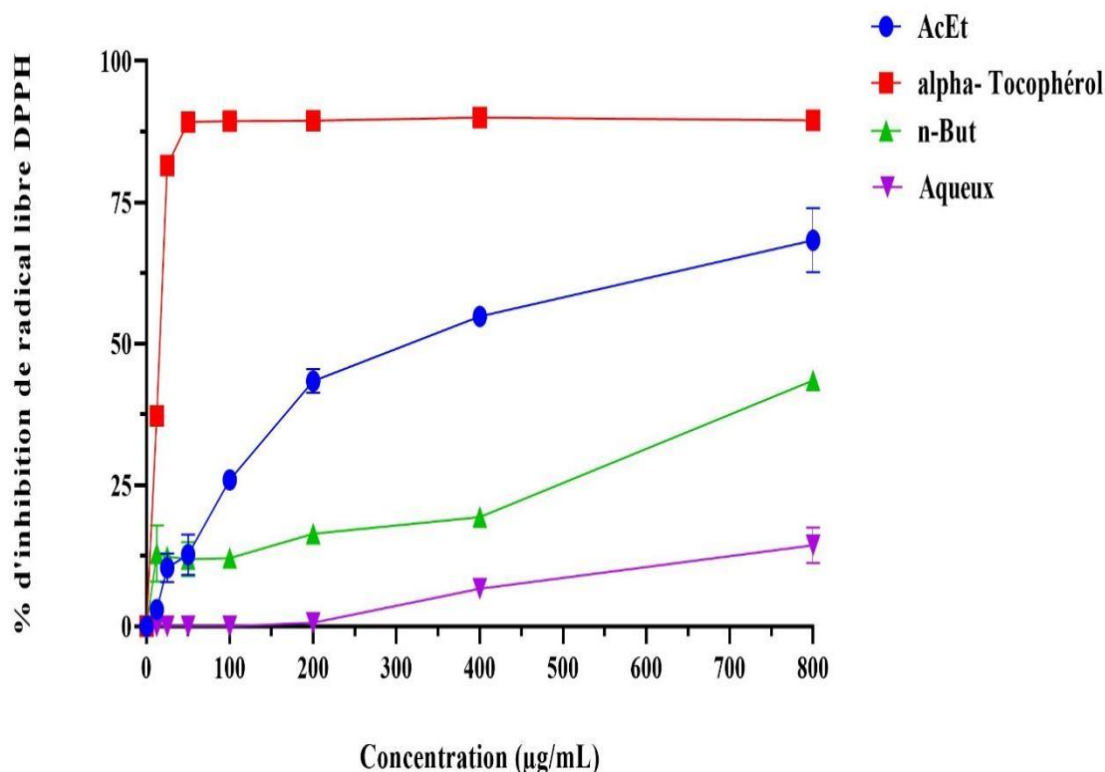
## *Résultats et discussions*

**Tableau 10 :** Activité antiradicalaire (DPPH<sup>\*</sup>) des extraits du champignon *Laetiporus sulphureus*.

Les résultats sont exprimés en moyenne $\pm$ écart-type (Moy $\pm$ SD).

NA : Concentration non active.

<b>Concentration (<math>\mu</math>g/mL)</b>	<b>AcEt</b>	<b>Chl</b>	<b>Aqueux</b>	<b>n-But</b>	<b>Alpha- tocophérole</b>
800	68,27 $\pm$ 5,70	4,80 $\pm$ 3,50	14,38 $\pm$ 3,16	43,52 $\pm$ 1,11	89,99 $\pm$ 0,56
400	54,84 $\pm$ 0,74	NA	6,67 $\pm$ 0,50	19,35 $\pm$ 0,50	89,53 $\pm$ 0,41
200	43,40 $\pm$ 2,11	NA	NA	16,37 $\pm$ 0,77	89,45 $\pm$ 0,35
100	25,92 $\pm$ 1,65	NA	NA	12,11 $\pm$ 1,49	89,38 $\pm$ 0,38
50	12,67 $\pm$ 3,62	NA	NA	11,91 $\pm$ 3,72	89,22 $\pm$ 0,17
25	10,39 $\pm$ 2,54	NA	NA	12,35 $\pm$ 0,83	81,53 $\pm$ 1,46
12.5	3,00 $\pm$ 1,41	NA	NA	12,87 $\pm$ 5,09	37,24 $\pm$ 1,82
0	0	0	0	0	0



**Figure 20 :** Courbe de la variation du pourcentage d'inhibition du (DPPH<sup>•</sup>) de extraits de *Laetiporus sulphureus* et le  $\alpha$ -tocophérol (standard) en fonction de la variation de concentration.

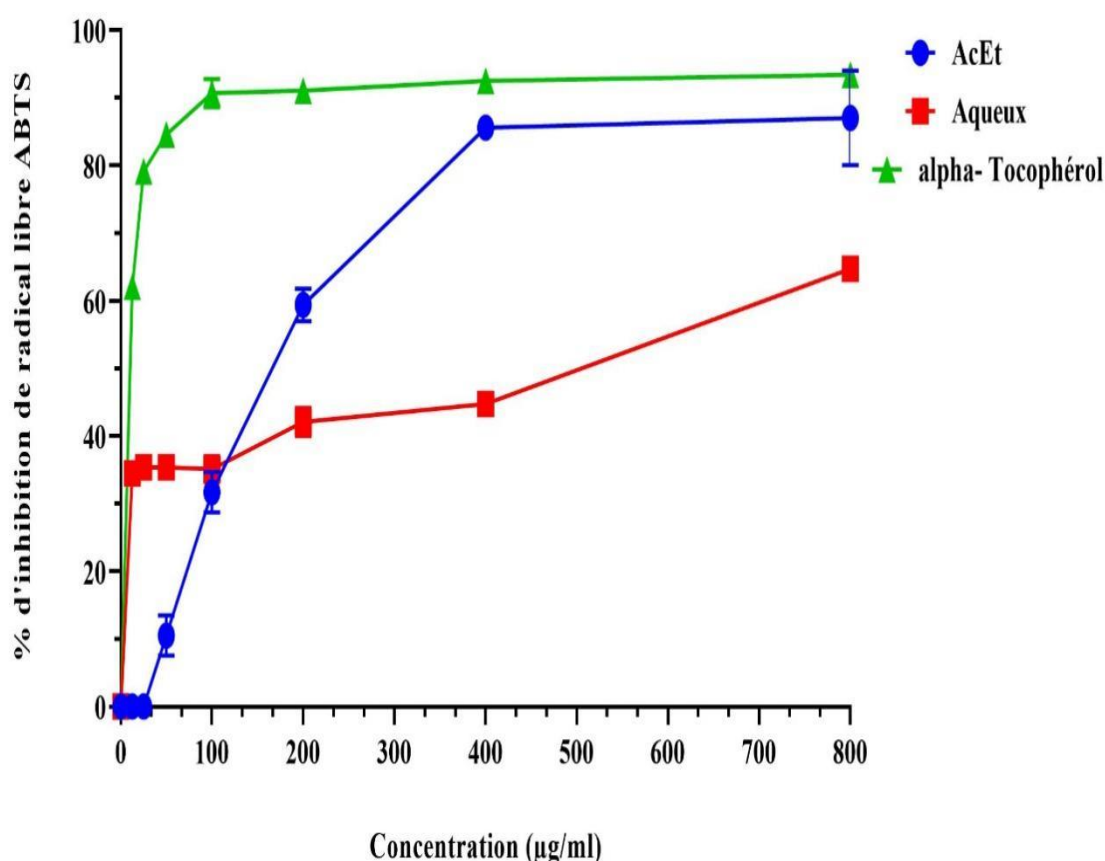
Nos résultats d'activité de piégeage du radical libre DPPH des extraits étudiés sont très significatifs en comparaison avec ceux rapportés par **Petrović *et al.* (2014)**, qui ont étudié la même espèce, collectée sur les arbres de *Salix alba* (saule blanc), au nord de la Serbie, ils ont déclaré une activité antiradicalaire contre le DPPH avec une IC<sub>50</sub> de 6,80 mg/mL pour l'extrait méthanolique et de 2,18 mg/mL pour l'extrait polysaccharidique de l'espèce *L. sulphureus*.

Dans notre étude, les résultats obtenus sont inférieurs à ceux rapportés par **Olennikov *et al.* (2011)**. Ils ont observé que six fractions sur sept présentent une activité antiradicalaire contre le DPPH. Les meilleurs sont celles avec une IC<sub>50</sub> de 1080.01 mg/mL pour la fraction obtenue par l'hexane, et une IC<sub>50</sub> de 334.85 mg/mL pour l'extrait chloroformique. Malgré cette divergence, nos résultats confirment que cette espèce possède une activité de piégeage de radicaux libres DPPH cruciale.

### 4.2. Activité du piégeage du cation ABTS<sup>•+</sup>

Les résultats de l'activité de piégeage du radical ABTS<sup>•+</sup> ont été présentés dans la figure 21 et le tableau 11. Les pourcentages d'inhibition ont été déterminés pour chaque concentration testée, ce qui a permis de calculer les valeurs d'IC<sub>50</sub>.

L'extrait AcEt se distingue comme le plus prometteur parmi les extraits testés, avec une valeur d'IC<sub>50</sub> de  $165,91 \pm 9,43$  µg/mL. Bien que cette activité soit significativement plus faible que celle du témoin  $\alpha$ -tocophérol ( $7,58 \pm 0,44$  µg/mL), elle reste bien supérieure à celle des autres extraits, dont les valeurs sont toutes supérieures à 800 µg/mL, indiquant une absence ou une très faible activité antioxydante. Ces résultats suggèrent que les composés responsables de l'activité antioxydante soluble dans l'acétate d'éthyle sont plus efficaces pour piéger les radicaux ABTS que ceux extraits par les solvants chloroformique, butanolique ou aqueux.





## Résultats et discussions

**Figure 21 :** Courbe de la variation du pourcentage d'inhibition du cation radical  $ABTS^{•+}$  des extraits AcEt et n-but de *Laetiporus sulphureus* et le  $\alpha$ -tocophérol (standard), en fonction de la variation de concentration.

**Tableau 10 :** Activité du piégeage du cation radical  $ABTS^{•+}$  des extraits de champignon *Laetiporus sulphureus*

Concentration ( $\mu\text{g/mL}$ )	AcEt	Chl	Aqueux	n-But	Alpha-tocophérol
800	87,03 $\pm$ 7,00	NA	64,72 $\pm$ 0,20	31,54 $\pm$ 1,87	93,44 $\pm$ 0,41
400	85,57 $\pm$ 0,71	NA	44,74 $\pm$ 1,01	5,14 $\pm$ 1,68	92,51 $\pm$ 0,68
200	59,40 $\pm$ 2,39	NA	42,11 $\pm$ 2,11	NA	91,10 $\pm$ 0,87
100	31,72 $\pm$ 2,99	NA	35,11 $\pm$ 1,94	NA	90,69 $\pm$ 2,12
50	10,51 $\pm$ 2,97	NA	35,40 $\pm$ 0,66	NA	84,60 $\pm$ 0,86
25	0 $\pm$ 0,81	NA	35,40 $\pm$ 0,66	NA	79,14 $\pm$ 1,26
12.5	0 $\pm$ 1,52	NA	34,46 $\pm$ 1,23	NA	62,07 $\pm$ 1,08
0	0	NA	0	0	0

NA : Concentration non active.

Nos données rapportées pour le test ABTS sont moins significatives à celles de l'étude menée par **Kebaili et al. (2021)** qui ont trouvé une activité chez l'espèce *G. lucidum* de Turquie avec une  $IC_{50}$  de 10,06 $\pm$ 0,13  $\mu\text{g/mL}$ . En revanche, ce groupe de recherche a observé une activité FRAP, ce qui contraste avec nos résultats.

### 4.3. Test pouvoir réducteur de fer (FRAP)

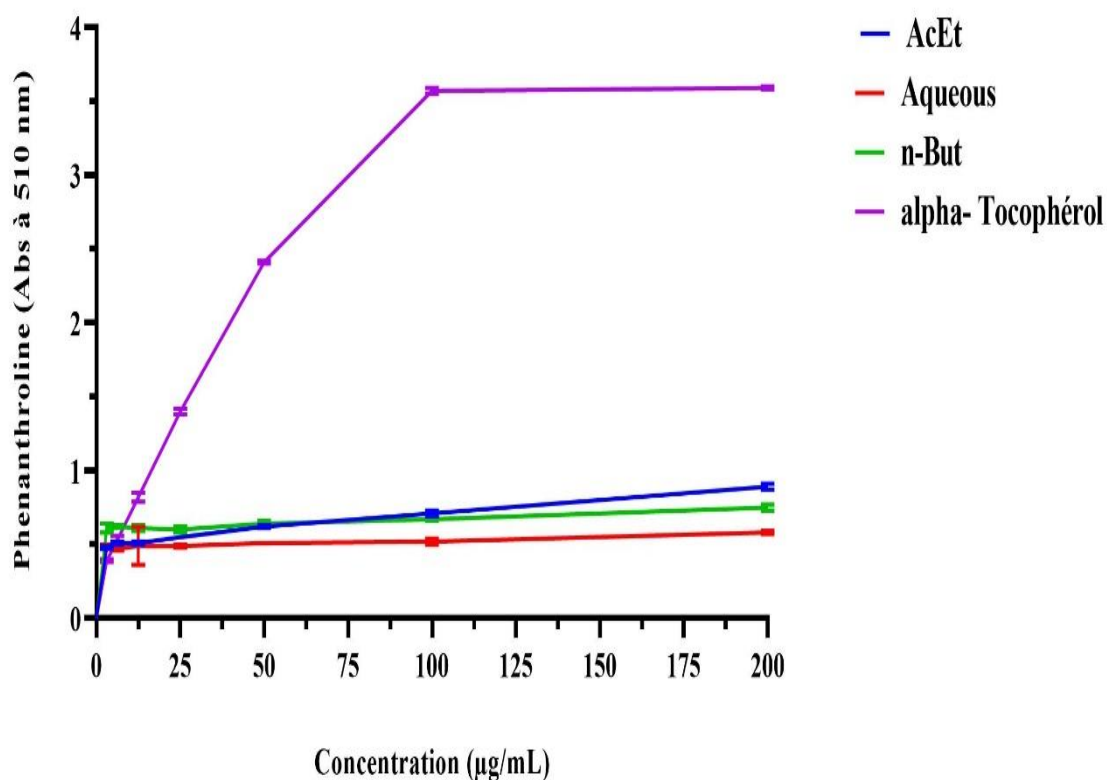
Le test FRAP permet d'évaluer la capacité des extraits à réduire les ions ferriques ( $Fe^{3+}$ ) en ions ferreux ( $Fe^{2+}$ ). Dans notre étude, les résultats montrent que tous les extraits testés présentent une activité réductrice négligeable comparativement au contrôle positif, l' $\alpha$ -tocophérol. En effet, les extraits de chloroforme, de n-butanol et aqueux affichent des valeurs de FRAP supérieures à 200  $\mu\text{g/mL}$ , traduisant une activité antioxydante négligeable dans ce test.

Les résultats négatifs obtenus montrent, ceux-ci peut s'interpréter par l'absence des quelques molécules antioxydantes comme nous avons révélés dans le screening des flavonoïdes.

### **4.4. Test de phénanthroline**

Le test de phénanthroline met en lumière le potentiel antioxydant des extraits à travers leur capacité à réduire le fer. Parmi les résultats obtenus dans le **tableau.11**, l'extrait n-butanolique (n-But) se distingue nettement avec une  $C_{A0,5}$  inférieure à 3,125  $\mu\text{g/mL}$ , affichant une activité antioxydante très significative même supérieure à celle du  $\alpha$ -tocophérol ( $6,90 \pm 0,21 \mu\text{g/mL}$ ), utilisé comme référence. L'extrait à l'acétate d'éthyle (AcEt) montre également une activité intéressante ( $5,15 \pm 0,98 \mu\text{g/mL}$ ), proche de celle du standard. En revanche, l'extrait aqueux reste beaucoup moins actif ( $36,33 \pm 14,84 \mu\text{g/mL}$ ), et aucun résultat n'est disponible pour l'extrait chloroformique (Chl).

Ce test révèle donc une facette intéressante des extraits, en particulier ceux obtenus par le n-butanol et l'acétate d'éthyle, qui semblent concentrer des molécules capables de réduire efficacement le fer. Contrairement au test FRAP, qui n'a montré qu'une faible activité pour la plupart des extraits, le test à la phénanthroline permet ici de mieux distinguer leur potentiel antioxydant réel. Cela souligne l'importance d'utiliser plusieurs approches complémentaires pour bien évaluer la qualité antioxydante des extraits naturels.



**Figure 22 :** Test de phénanthroline des extraits AcEt, Aq et n-but de *Laetiporus sulphureus* et le  $\alpha$ -tocophérol (standard).

**Tableau 11 :** Test de phénanthroline des extraits de champignon *Laetiporus sulphureus*.

Concentration (µg/mL)	AcEt	Aqueux	n-But	$\alpha$ -Tocophérol
200	0,89±0,02	0,58±0,01	0,75±0,02	5,59±0,01
100	0,71±0,02	0,52±0,02	0,67±0,01	3,57±0,02
50	0,62±0,01	0,51±0,00	0,64±0,02	2,41±0,01
25	0,55±0,00	0,49±0,01	0,60±0,02	1,4±0,02
12,5	0,51±0,01	0,49±0,13	0,61±0,02	0,82±0,03
6,25	0,51±0,01	0,47±0,01	0,62±0,01	0,53±0,03
3,125	0,48±0,01	0,49±0,01	0,61±0,03	0,39±0,01
0	0	0	0	0

En ce qui concerne le test de phénanthroline, nos résultats sont supérieurs à ceux obtenus par **Kebaili et al.(2021)** qui ont rapporté des concentrations  $C_{A0,5}$  de  $12,87 \pm 0,26 \mu\text{g/mL}$  pour l'extrait acetate d'éthyle,  $38,74 \pm 1,25 \mu\text{g/mL}$  pour le n-butanol, respectivement, pour le champignon *Ganoderma lucidum* de la famille des polypores.

Nos obtenus indiquent que les 3 extraits suivants : AcEt, Aqueux et n-but ont une activité antioxydante modéré. Il convient également de noter que cette activité est dépendante de la concentration : plus la concentration de l'extrait à augmenter, plus son activité antioxydante à intensifier, ce qui traduit une corrélation positive entre la concentration et l'activité antioxydante. Ainsi, son utilisation pourrait être valorisée notamment dans des formulations nécessitant une activité antioxydante intermédiaire.

### 5. Evaluation de l'activité antibactérienne de *Laetiporus sulphureus*.

Le test d'activité antibactérienne réalisé dans les conditions expérimentales définies n'a montré aucun effet inhibiteur visible contre les souches bactériennes testées. L'absence de zones d'inhibition autour des puits indique que l'extrait testé ne possède pas d'activité antibactérienne qu'avec des concentrations supérieures à 100mg/mL.

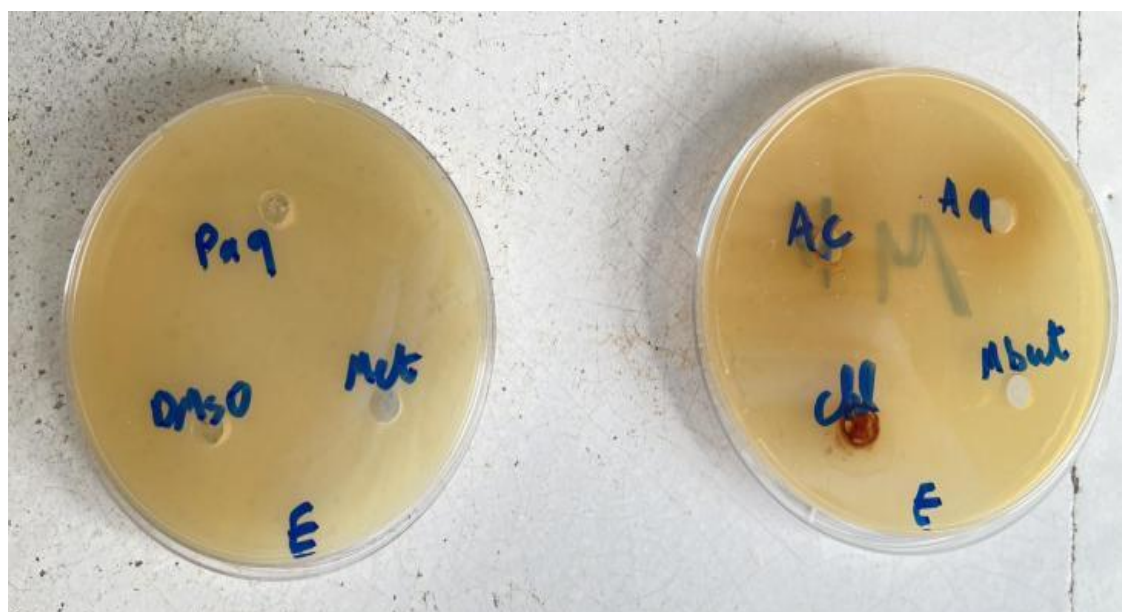
Plusieurs facteurs peuvent expliquer ce résultat, notamment une concentration insuffisante en principes actifs, une faible sensibilité des bactéries utilisées, des interactions entre les composants de l'extrait qui limitent son activité, ou encore des paramètres expérimentaux non optimaux (pH, solvant, méthode d'application, etc.) (**Jia et al., 2006**)

Il serait intéressant, dans des travaux futurs, d'optimiser les conditions du test ou d'envisager des concentrations plus élevées pour mieux évaluer le potentiel antimicrobien de l'échantillon. Lors de l'utilisation de concentrations élevées des extraits de champignon, nous avons observé les résultats présentés dans le **tableau 12**:

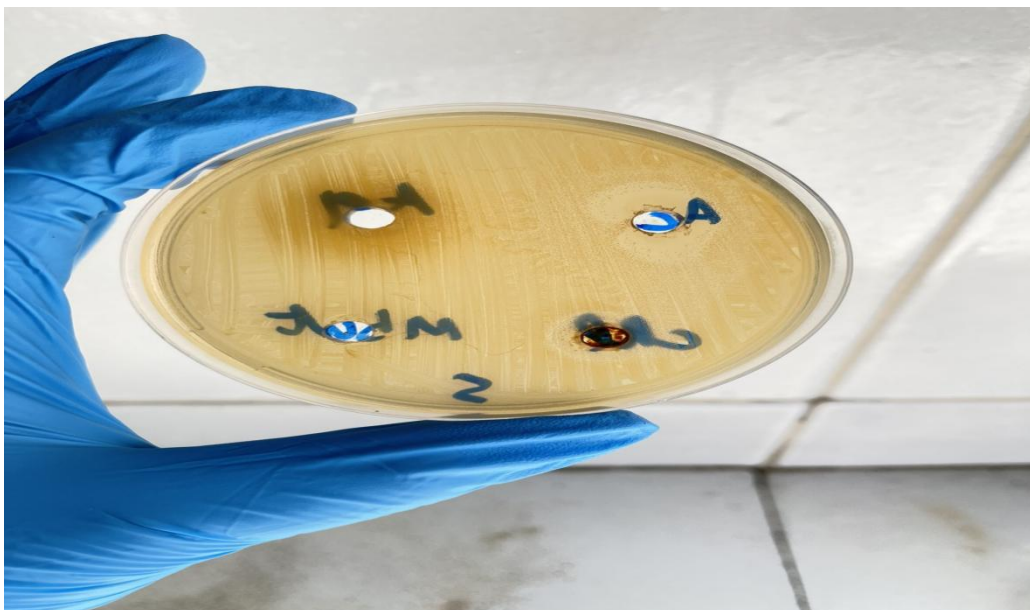
## Résultats et discussions

**Tableau 12 :** effet de concentrations croissantes des extraits de *Laetiporus sulphureus*

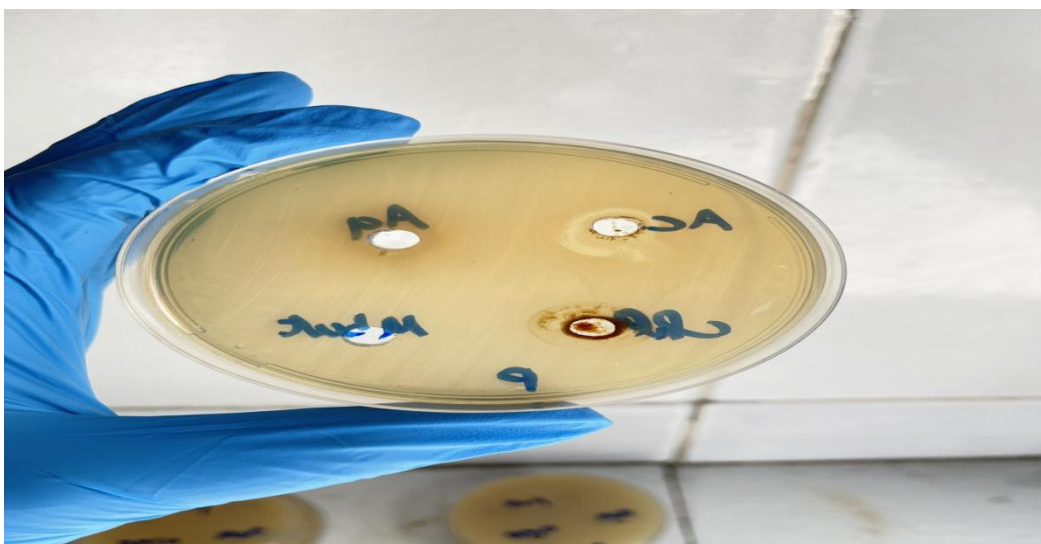
Bactéries	Extraits (Concentration 100mg/mL)	Zone inhibition (mm)
<i>Staphylocoques aureus</i>	AcEt	18 mm
	Chl Aqueux n-But	Pas d'activité
<i>Escherichia coli</i>	AcEt Chlo Aqueux n-Butanol	Pas d'activité
	AcEt	15 mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Chl Aqueux n-But	Pas d'activité
	AcEt	15 mm



**Figure 23 :** Inhibition de la croissance de *Escherichia coli* vis-à-vis les extraits de *Laetiporus sulphureus* : Acétate- éthyle (Ac), chloroforme (Chl), aqueux (Aq), n Butanol (n but).



**Figure 24 :** Inhibition de la croissance de *Staphylococcus aureus* vis-à-vis les extraits de *Laetiporus sulphureus*: Acétate- éthyle (Ac), chloroforme (Chl), aqueux (Aq), n Butanol (n-but).



**Figure 25 :** Inhibition de la croissance de *Pseudomonas aeruginosa* vis-à-vis les extraits de *Laetiporus sulphureus* : Acétate- éthyle (Ac), chloroforme (Chl), aqueux (Aq), n Butanol (n but).

## *Résultats et discussions*

---

Seul, l'extrait acétate d'éthyle qui montre une inhibition par rapport aux autres extraits examinés. En effet, une zone d'inhibition de 18 mm a été observée contre *Staphylococcus aureus*, ce qui indique une activité antimicrobienne significative. Une activité modérée a également été notée contre *Pseudomonas aeruginosa* avec une zone de 15 mm. En revanche, aucune activité n'a été observée contre *Escherichia coli*, cette dernière s'étant révélée résistante.

Quant aux autres extraits n-but, Chl et aqueux, ils n'ont montré aucune activité inhibitrice sur les trois souches testées. Ces résultats suggèrent que les composés bioactifs responsables de l'effet antimicrobien sont plus solubles dans l'acétate d'éthyle que dans les autres solvants utilisés.

En concordance aux résultats de **Turkoglu et al. (2007)**, qui ont évalués les activités antioxydante et antimicrobienne du champignon *L. sulphureus* du Turquie, ils ont trouvé une activité inhibitrice des bactéries induite par l'extrait éthanolique, qui contient les concentrations suivantes en polyphénols et flavonoïdes successivement :  $63.8 \pm 0.25$  µg équivalent de pyrocatechol/mg Ext,  $14,2 \pm 0,12$  µg équivalent de quercétine/mg Ext.

Vis-à-vis aux résultats remarquables dans le dosage et l'activité antioxydante, l'activité antibactérienne de l'extrait AcEt est corrélée avec la nature des molécules que lui contiennent, essentiellement les polyphénols et flavonoïdes qui regroupent des familles chimiques, constituées des propriétés antioxydantes et antibactériennes intéressantes.

## Conclusion et Perspectives



### Conclusion

Diverses méthodes et technique ont été appliquées pour atteindre les objectifs de cette étude, qui présente des résultats originaux concernant certaines propriétés biologiques du champignon *Laetiporus sulphureus*, appartenant à la famille polypores et origine d'Algérie.

Nous avons commencé par identifier la composition chimique des biomolécules d'intérêt, après leur extraction par la méthode solide-liquide. Ensuite, nous avons appliqué un screening chimique des extraits obtenus. Ce screening nous a permis de révéler la nature de ces molécules, parmi lesquelles certaines classe dotées de pouvoir antioxydant ont été identifiées, et ont été révélées par des réactifs spécifiques.

Le dosage des polyphénols et des flavonoïdes montrent que l'extrait acétate d'éthyle a la teneur la plus significative en polyphénols environ  $111,90 \pm 3,29 \mu\text{g GAE/mg Ext}$ , suivi de les extraits n-butanolique, aqueux, et chloroformique.

Nous avons évalué le potentiel antioxydant des 4 extraits par différentes méthodes, seul l'extrait d'acétate d'éthyle, qui a présenté une forte activité antioxydante. Cette activité a été évaluée à travers plusieurs tests, notamment l'activité antiradicalaire aux DPPH et ABTS, le test du pouvoir réducteur de fer (FRAP), et l'activité antioxydante par la méthode de phenanthroline.

On conclut que la consommation du champignon *Laetiporus sulphureus* pourrait offrir des bienfaits antioxydants significatifs, contribuant ainsi à protéger les cellules de l'organisme contre les effets néfastes des espèces réactives de l'oxygène (ERO), qui sont reconnues comme des facteurs majeurs de diverses pathologies.

Les tests de screening ont également mis en évidence que l'activité antioxydante est étroitement liée à la présence de composés bioactifs, notamment les tanins, les anthocyanines, les saponosides et les alcaloïdes, qui jouent un rôle clé dans la neutralisation des radicaux libres.

## Conclusion et Perspectives

---

Ces résultats suggèrent que le champignon *Laetiporus sulphureus* étudié présente des propriétés biologiques multifonctionnelles, qui ne se limitent pas à ses effets antioxydants. En effet, ce champignon pourrait être exploité non seulement comme complément alimentaire pour améliorer la santé cellulaire, mais aussi comme un ingrédient précieux dans les domaines cosmétique et pharmaceutique, offrant ainsi une alternative naturelle pour prévenir ou traiter certaines pathologies liées au stress oxydatif.

### Perspectives

- Utiliser des techniques analytiques avancées telles que la chromatographie liquide à haute performance (HPLC), la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS), et la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (NMR), l'objectif est de déterminer et de caractériser les composés antioxydants responsables de l'activité biologique.
- Tester l'effet antioxydant sur des cellules vivantes (*in vitro*) afin d'étudier son impact sur la survie cellulaire, l'expression génique des enzymes antioxydantes et les voies de signalisation oxydative.
- Vérifier l'efficacité biologique et la protection contre les toxiques des extraits ou des composés purifiés, ouvrant ainsi la voie à des applications thérapeutiques potentielles.
- Intégrer les extraits de champignons étudiés dans des formulations alimentaires ou cosmétiques naturelles, dans le but de développer des produits fonctionnels contribuant à améliorer la santé et à prévenir les maladies.

## Références bibliographiques

## Références bibliographiques

---

### A

- Abdel-Shafy E A. (2021). Antioxidant status in pesticides-exposed agricultural workers. In Toxicology (pp. 43-51). Academic Press.
- Adamska I, Felisiak K. (2025). The effect of heat treatment on the nutritional value and antioxidant activity of sulphur shelf (*Laetiporus sulphureus*). NFS Journal, 100215. <https://doi.org/10.1016/j.nfs.2025.100215>
- Adamska I (2023). The Possibility of Using Sulphur Shelf Fungus (*Laetiporus sulphureus*) in the Food Industry and in Medicine—A Review. Foods, 12(7), 1539. <https://doi.org/10.3390/foods12071539>
- 
- Ahmad MF. *Ganoderma lucidum*: Persuasive biologically active constituents and their health endorsement. Biomed Pharmacother 2018;107: 507-19.
- Akar Z, & Arslan Burnaz N. (2020). Can an abts antioxidant test be performed without a spectrophotometer?. Cumhuriyet Science Journal, 41(1), 185-192.
- Azlina MF, Qodriyah M S, Kamisah Y. (2018). Tocopherol and tocotrienol: therapeutic potential in animal models of stress. Current Drug Targets, 19(12), 1456-1462
- Aza P, Camarero S. (2023) Fungal Laccases: Fundamentals, Engineering and Classification update. Biomolecules, 13(12), 1716. <https://doi.org/10.3390/biom13121716>

### B

- Baraka-Vidot J. (2015). Stress oxydant et pathologie diabétique à l'île de la Réunion : Identification et caractérisation des propriétés structurales et fonctionnelles de l'albumine glyquée (Thèse de doctorat, Université de la Réunion), 35-36.
- Bartel-Radic A. (2009). La compétence interculturelle : état de l'art et perspectives. Gestion internationale, 13 (4), 11-26.

## Références bibliographiques

---

- Bastos DH, Saldanha LA, Catharino R R, Sawaya A., Cunha IB, Carvalho PO, Eberlin MN. (2007). Phenolic antioxidants identified by ESI-MS from yerba mate (*Ilex paraguariensis*) and green tea (*Camelia sinensis*) extracts. *Molecules*, 12(3), 423-432
- Beelman RB, Kalaras MD, Richie JP Jr. Micronutrients and bioactive compounds in mushrooms: A recipe for healthy aging *Nutr Today*. 2019;54:16-22.
- Belaïch R , Boujraf S , & Benzagmout M .(2015). Impact du stress oxydatif et de l'inflammation sur les patients hémodialysés. *Médecine Thérapeutique*, 21(2), 95–103. <https://doi.org/10.1684/met.2015.0479>
- Bibi Sadeer N, Montesano D, Albrizio S, Zengin G, &Mahomoodally MF. (2020). The versatility of antioxidant assays in food science and safety-Chemistry, applications, strengths, and limitations. *Antioxidants*, 9(8), 709.
- Blois MS. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200.
- Brewer M S. (2011). Natural antioxidants : Sources, compounds , mechanisms of action , and potential applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 10(4),221-247
- Buyck B ,& Polèse J . (2013). Le petit traité « Rustica » desZhang Z., Lu M, Qin Y, Gao W, Tao L., Su W, & Zhong J. (2021). Neoantigen: a new breakthrough in tumor immunotherapy. *Frontiers in immunology*, 12, 672356. champignons. Rustica éditions.

## C

- Cushnie TT ,Cushnie B , & Lamb AJ .(2014). Alkaloids: An overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 44(5), 377–386. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.06.001>

## E

---

## Références bibliographiques

---

-Elkhateeb WA .(2021). Chicken of the woods *Laetiporus sulphureus* and *Schizophyllum commune* treasure of medicinal mushrooms. Open Access Journal of Microbiology & Biotechnology, 6(3), 1–7. <https://doi.org/10.23880/oajmb-16000201>

-Ela MA ,El-Shaer NS ,& Ghanem NB .(1996). Antimicrobial evaluation and chromatographic analysis of some essential and fixed oils. *Pharmazie*; 51 pp.993- 995

### F

-Fathima M R F, Nanthini A U R , Al-Khattaf F S, Hatamleh A A , & Kabir SB . (2022). Mycosynthesis of Noble Metal Nanoparticle Using *Laetiporus versiporus* Mushroom and Analysis of Antioxidant Activity. *Journal of Nanomaterials*, 2022(1). <https://doi.org/10.1155/2022/8086803>

-Ferreira IC, Barros L ,& Abreu RM .(2009). Antioxidants in wild mushrooms. *Current Medicinal Chemistry*, 16(12), 1543-1560.

-Food and chemical toxicology .(1995). *Food and Chemical Toxicology*, 33(3), I–V. [https://doi.org/10.1016/0278-6915\(95\)90079-9](https://doi.org/10.1016/0278-6915(95)90079-9).

### G

-Ghimire B K, Seo J , Kim S, Ghimire B, Lee J , Yu C , & Chung I .(2021). Influence of Harvesting Time on Phenolic and Mineral Profiles and Their Association with the Antioxidant and Cytotoxic Effects of *Atractylodes japonica* Koidz. *Agronomy*, 11(7), 1327. <https://doi.org/10.3390/agronomy11071327>.

-Gonfa T , Teketle S , & Kiros T . (2020). Effect of extraction solvent on qualitative and quantitative analysis of major phyto-constituents and in-vitro antioxidant activity evaluation of *Cadaba rotundifolia* Forssk leaf extracts. *Cogent Food & Agriculture*, 6(1), 1853867. <https://doi.org/10.1080/23311932.2020.1853867>.

### H

---

## Références bibliographiques

---

-Halliwell B, & Gutteridge JMC .(2015). Free radicals in biology and medicine. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780198717478.001.0001>.

- Hammad MA , Omar M A., & Awad M. (2017). Validation of sensitive spectrophotometric method for determination of Salmeterol xinafoate and Fenoterol hydrobromide via o-Phenanthroline and iron complexation. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 7(6), 049-054.

-Harborne J B .(2006). *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. Springer. **Volume et issu**

-Hwang EH, et Das Sarma, S. (2008). Mobilité limitée des porteurs par diffusion acoustique des phonons dans le graphène extrinsèque bidimensionnel. *Physical Review B — Physique de la matière condensée et des matériaux* , 77 (11), 115449.

-Hua Z, Wu B , Zhang Y , Wang C ,Dong T, Song Y, Jiang Y , & Wang C . (2024) .Efficient charge separation and transport in Fullerene-CUPCOC8 Donor–Acceptor NanoROD enhancing photocatalytic hydrogen generation. *Nanomaterials*, 14(3), 256. <https://doi.org/10.3390/nano14030256>

### I

- Ishibashi T. (2013). Molecular hydrogen: new antioxidant and anti-inflammatory therapy for rheumatoid arthritis and related diseases. *Current Pharmaceutical Design*, 19(35), 6375-6381.

### J

-Janusz G , Pawlik A , Sulej J, Świdorska-Burek U, Jarosz-Wilkolazka A , & Paszczyński A. (2017). Lignin degradation: microorganisms, enzymes involved, genomes analysis and evolution. *FEMS microbiology reviews*, 41(6), 941-962.

-Jia W, Wang, X, Xu D, Zhao A,& Zhang Y. (2006). Common traditional Chinese medicinal herbs for dysmenorrhea. *Phytotherapy Research*, 20(10), 819–824. <https://doi.org/10.1002/ptr.1905>

## Références bibliographiques

---

-Jovanović M M, Marković K. G , Grujović M.Ž , Pavić J , Mitić M , Nikolić J , & Šeklić D . (2023). Anticancer assessment and antibiofilm potential of *Laetiporus sulphureus* mushroom originated from Serbia. *Food Science & Nutrition*, 11(10), 6393–6402. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3577>.

### K

-Kawamura A , Mizuno A, Kurakake M , Yamada A, & Makabe H. (2024). Inaoside A: New antioxidant phenolic compound from the edible mushroom *Laetiporus cremeiporus*. *Heliyon*, 10(3), e24651. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e24651>

-Khatua S, Ghosh S , & Acharya K. (2017). *Laetiporus sulphureus* (Bull.: Fr.) Murr. as Food as Medicine. *Pharmacognosy Journal*, 9(6s), s1–s15. <https://doi.org/10.5530/pj.2017.6s.151>

-Kebaili F F, Tahar N , Esseddik T M , Redouane R, Chawki B, Pablo A, & Massimiliano P . (2021). Antioxidant Activity and Phenolic Content of Extracts of Wild Algerian Lingzhi or Reishi Medicinal Mushroom, *Ganoderma lucidum* (Agaricomycetes). *International Journal Of Medicinal Mushrooms*, 23(6), 79-88. <https://doi.org/10.1615/intjmedmushrooms.2021038424>

-Klaus A. , Kozarski M , Niksic M , Jakovljevic D , Todorovic N , Stefanoska I , & Van Griensven LJ. (2013). The edible mushroom *Laetiporus sulphureus* as potential source of natural antioxidants. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 64(5), 599–610. <https://doi.org/10.3109/09637486.2012.759190>

-Kukreti B, Sharma A ,Chaudhary P, Agri U, & Maithani D .(2020). Influence of nanosilicon dioxide along with bioinoculants on *Zea mays* and its rhizospheric soil. *3 Biotech*, 10(8). <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02329-8>

### L

-Landry J , Labbé R, Lambert H, Lebeuf R, Lamoureux Y , & coll. - Base de données de Mycoquébec. Disponible en ligne à l'adresse : <https://www.mycoquebec.org>. Consulté le

-Li L , Guo Y, Huang Q , Shi X, Liu Q , Wang F, Liu Q, Yu K. , & Wang Z. (2022). GPP (composition of *Ganoderma lucidum* polysaccharides and *Polyporus umbellatus* polysaccharides) protects against DSS-induced murine colitis by enhancing immune function and regulating intestinal flora. *Food Science and Human Wellness*, 11(4), 795–805.

---



<https://doi.org/10.1016/j.fshw.2022.03.010>

- Liang N , & Kitts DD. (2014). Antioxidant property of coffee components: assessment of methods that define mechanisms of action. *Molecules*, 19(11), 19180- 19208.

### M

-Murphy M P .(2009). How mitochondria produce reactive oxygen species *Biochemical journal* , 417(1), 1-13.

-Muller M, Alison Y, Gunérin-Rechdaoui S , Bellaton S ,& Rocher V . Devloppment and validation of an alternative method for rapid measurment of Biochemical Oxygen Demand in urban wastewater -Enverdi BOD . *Innovating in Monitoring and Operation Practices of Wastewater Treatment Plants* ,51.

### R

-Rapior S, Konska G, Guillot J ,Andary C , Bessiere J.M 2000 Volatile composition of *Laetiporus sulphureus*. *Cryptogamie Mycol.* 21, 67–72.

-Ray P , Kundu S , & Paul D . (2024) . Exploring the therapeutic properties of chinese mushrooms with a focus on their anti-cancer effects: A systemic review. *Pharmacological Research-Modern Chinese Medicine*, 11, 100433.  
<https://doi.org/10.1016/j.prmcm.2024.100433>

- Re R, Pellegrini N, Proteggente A ,Pannala A , Yang M, &Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237.

### O

-Olennikov D N, Tankhaeva L M , & Agafonova S V. (2011). Antioxidant components of *Laetiporus sulphureus* (Bull. : Fr.) Murr. fruit bodies. *Applied Biochemistry And Microbiology*, 47(4), 419-425. <https://doi.org/10.1134/s0003683811040107>

## Références bibliographiques

---

- Oyaizu M. (1986). Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. The Japanese journal of nutrition and dietetics, 44(6), 307-315

### P

-Petrović J , Glamočlija J, Stojković D S ,Ćirić A, Nikolić M, Bukvički D, Guerzoni M E , & Soković M D .(2013) . *Laetiporus sulphureus* edible mushroom from Serbia: Investigation on volatile compounds, in vitro antimicrobial activity and in situ control of *Aspergillus flavus* in tomato paste. Food And Chemical Toxicology, 59, 297-302. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.06.021>

-Petrović J , Papandreou M, Glamočlija J ,Ćirić A, Baskakis C, Proestos C , Lamari, F, Zoumpoulakis, P, & Soković M. (2014). Different extraction methodologies and their influence on the bioactivity of the wild edible mushroom *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill. Food & Function, 5(11), 2948-2960. <https://doi.org/10.1039/c4fo00727a>

-Petrović N , Tosti T, Srbijak I, Đurić A, & Kosanić M. (2023). Biochemical characterization and bioactivity of methanolic and acetonc extracts of *Laetiporus sulphureus* basidiocarps. Journal of Food Measurement and Characterization, 17(2), 1748-1763.11:36

-Pincemail J . (2003). Les antioxydants et le stress oxydant. Médecine Nucléaire, 27(3), 181–192. [https://doi.org/10.1016/S0985-0562\(02\)00166-8](https://doi.org/10.1016/S0985-0562(02)00166-8)

Pleszczyńska M, Wiater A, Siwulski M, *et al.* Successful large-scale production of fruiting bodies of *Laetiporus sulphureus* (Bull.: Fr.) Murrill on an artificial substrate. *World J Microbiol Biotechnol* **29**, 753–758 (2013). <https://doi.org/10.1007/s11274-012-1230-z>

### S

-Schieber, M., & Chandel, N. S. (2014b). ROS function in redox signaling and oxidative stress. Current Biology, 24(10), R453–R462. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.03.034>

-Sebbar E , Naji I , Mezgueldi I E , & Choukri M . (2023). Le stress oxydatif, une agression cellulaire. Actualités Pharmaceutiques, 62(626), 36-37. <https://doi.org/10.1016/j.actpha.2023.03.016>

## Références bibliographiques

---

- Shraim A M ,Ahmed T A, Rahman M M , & Hijji Y M. (2021). Determination of total flavonoide content by aluminum chloride assay : A critical evaluation . Lwt, 150,111932.
- Sies H. (2020). Oxidative stress: concept and some practical aspects. Antioxidants, 9(9), 852. <https://doi.org/10.3390/antiox9090852>
- Sinanoglou V J , Zoumpoulakis, P, Heropoulos G , Proestos C, Ćirić A, Petrovic J ,Glamoclija J, & Sokovic M. (2014). Lipid and fatty acid profile of the edible fungus *Laetiporus sulphureus*. Antifungal and antibacterial properties. Journal of Food Science and Technology. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1377-8>
- Singleton V L, Rossi J A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American journal of Enology and Viticulture, 16(3), 144-158.
- Siwulski M, Rzymiski P, Budka A , Kalač P, Budzyńska S, Dawidowicz L., ... & Niedzielski P. (2019). The effect of different substrates on the growth of six cultivated mushroom species and composition of macro and trace elements in their fruiting bodies. European Food Research and Technology, 245, 419-431.
- Song J, Sun Y, Ji X, Dai Y, Cui B . (2018). Phylogeny and taxonomy of *Laetiporus* (Basidiomycota, Polyporales) with descriptions of two new species from western China MycoKeys 37, 57-71. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.37.26016>
- Spirin V , Runnel K, Vlasák J , Viner I, Barrett M , Ryvarden L, Bernicchia A , Rivoire, B ,Ainsworth A, Grebenc T , Cartabia M , Niemelä T, Larsson KH, & Miettinen O. (2024). The genus *Fomitopsis* (Polyporales, Basidiomycota) reconsidered. Studies In Mycology, 107(1), 149-249. <https://doi.org/10.3114/sim.2024.107.03>
- Sułkowska-Ziaja K., Muszyńska B, Gawalska A, & Sałaciak K. (2018). *Laetiporus sulphureus* – CHEMICAL COMPOSITION AND MEDICINAL VALUE. Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus, 17(1), 87–96. <https://doi.org/10.24326/asphc.2018.1.808:43>
- Sun Y, & Zhou X .(2014) . Purification, initial characterization and immune activities of

## Références bibliographiques

---

polysaccharides from the fungus, *Polyporus umbellatus*. Food Science and Human Wellness, 3(2), 73–78. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2014.06.002>

-Stadtman E R. (1992). Protein oxidation and aging. Science, 257(5074), 1220–1224. <https://doi.org/10.1126/science.1355616>

- Szydłowska-Czerniak A, Dianoczki C , Recseg K., Karlovits G, & Szlyk, E. (2008). Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. Talanta, 76(4), 899-905.

### T

- Tel G, Apaydın M, Duru ME, Öztürk M. (2012). Antioxidant and cholinesterase inhibition activities of three *Tricholoma* species with total phenolic and flavonoid contents: the edible mushrooms from Anatolia. Food Analytical Methods, 5(3), 495-504.

-Toumi ME, Kebaili FF, Rebai R , Derardja I , Toumi M , Calogero G. S, Perduca M & Necib Y . (2024). Purification and Biochemical Characterization of Novel Galectin from the Black Poplar Medicinal Mushroom *Cyclocybe cylindracea* (Agaricomycetes) Strain MEST42 from Algeria. International Journal of Medicinal Mushrooms, 26(2), 57–70. <https://doi.org/10.1615/intjmedmushrooms.2023051925>

- Toumi M.E, Perduca M, Necib Y ,Kebaili FF, Toumi M , Torche I., Gaglio S C., Rebai R., Lauriola A., Ayadi M., Smaali M.E. (2021). Characterization of Cytotoxic Lactose Binding Lectin from Sulphur Polypore, *Laetiporus sulphureus* (Agaricomycetes), from Algeria. International Journal of Medicinal Mushrooms, 23(11):45–57

-Turkoglu A, Duru ME, Mercan N , Kivrak I , & Gezer K .(2007). Activités antioxydantes et antimicrobiennes de *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill. Chimie alimentaire , 101 (1), 267-273.

### V

-Valko M , Leibfritz D, Moncol J , Cronin, M T , Mazur M , & Telser J . (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. The international journal of biochemistry & cell biology, 39(1), 44-84.

## Références bibliographiques

---

-Vona R , Pallotta L , Cappelletti M , Severi C, & Matarrese P .(2021) . The impact of oxidative stress in human pathology: Focus on gastrointestinal disorders. *Antioxidants*, 10(2), 201. <https://doi.org/10.3390/antiox10020201>

-Volk R . (2015). Identifier 200 champignons comestibles ou toxiques en 1 000 photos.

-Villalobos-Pezos M, Muñoz-Fariña O , Ah-Hen, K. S , Garrido-Figueroa MF, García-Figueroa O, González-Esparza A, De Medina L G, & Bastías-Montes J M .(2024). Optimization of Phenolic Content Extraction and Effects of Drying Treatments on Physicochemical Characteristics and Antioxidant Properties of Edible Mushroom *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm (Oyster Mushroom).

### W

-Wasser S P. (2017). Medicinal mushrooms in human clinical studies. Part I. Anticancer, oncoimmunological, and immunomodulatory activities: a review. *International journal of medicinal mushrooms*, 19(4).

-Wijayawardene N . (2020). Outline of Fungi and fungus-like taxa. *Mycosphere*, 11(1), 1060–1456. <https://doi.org/10.5943/mycosphere/11/1/8>.

-Wink M . (2015). Modes of action of herbal medicines and plant secondary metabolites. *Medicines*, 2(3), 251–286. <https://doi.org/10.3390/medicines2030251>

### X

-Xie L .(2007). Antioxidant and anti-apoptotic defenses in the anoxia tolerant turtle, *Trachemys scripta elegans*. <https://doi.org/10.22215/etd/2007-10168>

### Y

-Younis A.M, Yosri M, & Stewart J K .(2019). In vitro evaluation of pleiotropic properties of wild mushroom *Laetiporus sulphureus*. *Annals Of Agricultural Sciences*, 64(1), 79-87. <https://doi.org/10.1016/j.aoas.2019.05.001>

### Z

## Références bibliographiques

---

-Zhang Z , Lu M , Qin Y , Gao W , Tao L, Su W, & Zhong J. (2021). Neoantigen: a new breakthrough in tumor immunotherapy. *Frontiers in immunology*, 12, 672356.22:42

# Résumé

**Intitulé : Etude mycochimique et évaluation de l'activité antioxydante *in vitro* du champignon comestible *Laetiporus sulphureus* d'Algérie****Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master**  
**Spécialité : Biochimie****Résumé**

La présente étude a pour objectif de valoriser les propriétés médicinales des champignons en Algérie, à travers l'étude de l'espèce *Laetiporus sulphureus* souche TMES43. Pour cela, une analyse approfondie de la composition chimique a été réalisée, accompagnée d'une évaluation de son potentiel antioxydant et antimicrobien.

L'extraction de ces composés a été étudiée en utilisant des solvants chimiques, au premier temps via une extraction : solide-liquide par un système solvant constitué de méthanol/eau ( 80/20 v/v), suivie ensuite par une extraction liquide-liquide utilisant des solvants de polarité croissante : chloroforme, acétate d'éthyle, n-butanol. Le screening chimique a révélé la présence notable de métabolites secondaires, en particulier des polyphénols, des terpènes, ainsi que des alcaloïdes et des tanins, témoignant de la richesse en biomolécules de ce champignon.

L'évaluation des teneurs en composés phénoliques et flavonoïdes des extraits de *Laetiporus sulphureus* a révélé une variation significative selon le solvant utilisé. L'extrait à l'acétate d'éthyle a présenté la concentration la plus élevée en polyphénols totaux, atteignant  $111,90 \pm 3,29 \mu\text{g EAG/mg}$  d'extrait. Le n-butanol, quant à lui, contenait également des polyphénols avec une teneur de  $5,52 \pm 11,12 \mu\text{g EAG/mg}$ . Concernant les flavonoïdes, le même extrait affichait la teneur la plus élevée  $29,8 \pm 0 \mu\text{g RE/mg}$  d'extrait, suivi par l'extrait aqueux avec  $7,21 \pm 0 \mu\text{g RE/mg}$  d'extrait. Les extraits chloroforme et butanol ont quant à eux montré des taux nuls en flavonoïdes.

L'évaluation de l'activité antioxydant *in vitro* des extraits de *Laetiporus sulphureus* à travers les tests DPPH•, ABTS•+, FRAP, phénanthroline a montré des différences significatives selon le solvant d'extraction. L'extrait à l'acétate d'éthyle s'est révélé le plus actif dans le test de piégeage du radical DPPH, avec une  $\text{IC}_{50}$  de  $314,1 \pm 9,23 \mu\text{g/mL}$  ;  $165,91 \pm 9,43 \mu\text{g/mL}$  pour le piégeage de cation ABTS, et pour le phénanthroline on a le n-butanol l'extrait majeur plus fort à  $\text{CA}_{0,5} < 3,125 \mu\text{g/mL}$ , concernant le test FEAP, une activité antioxydante faible a été constatée par rapport au témoin positif ( $\alpha$ -tocophérol). L'extrait acétate d'éthyle qui montre une inhibition par rapport aux autres extraits examinés. En effet, une zone d'inhibition de 18 mm a été observée contre *Staphylococcus aureus*, et pour *Pseudomonas aeruginosa* une zone de 15 mm.

**Mots clés :** *Laetiporus sulphureus* ; potentiel antioxydant ; l'activité antioxydant *in vitro* ; activités biologiques.

**Laboratoire de recherche :** Laboratoire de recherche LGMA- Université Constantine 1 des Frères Mentouri.

**-Président du jury :** Dr OUELBANI Rayenne - MCB - UFM Constantine 1

**-Examinatrice :** Dr KHELALFA Khaoula - MCB - UFM Constantine 1

**-Encadrant :** Dr TOUMI Med Es-Seddik - MCB-UFM Constantine 1