وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحي – جيجل –
Université Mohammed Seddik Ben Yahia - Jijel -

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département : Département Microbiologie Appliquée et Sciences Alimentaires

كلية علوم الطبيعة و الحياة
قسم : الميكروبيولوجيا التطبيقية و علوم التغذية

Mémoire de Fin d'Etudes

En vue de l'obtention du diplôme : **Master Académique en Sciences De La Nature et de la Vie**

Filière: Sciences Alimentaires

Option : Agroalimentaire et Contrôle de qualité

Thème

Qualité nutritionnelle, activité antioxydante et antibactérienne de lichen : Evernia Prunastri

Membres de Jury
Président : Pr SIFOUR M.
Examinatrice : Dr LAGGOUNE S.
Encadrant : Dr BEKKA-HADJI F.

Présenté par
Melle : TAFER Rayane
Melle : BENNAKHELA Sara

جامعة محمد الصديق بن يحيى
مكتبة الكلية
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Année Universitaire 2021-2022

Numéro d'ordre (bibliothèque) :……..…

Remerciements

Avant tout, nous remercions **« Allah »** le tout puissant de nous avoir donné la santé, la force, le courage, la patience, la persistance et nous a permis d'exploiter les moyens disponibles à fin d'accomplir ce modeste travail.

Nous tenons à adresser nos très sincères remerciements à notre encadrant**Dr BEKKA-HADJI F.** qui nous a guidé dans notre travail, Merci pour nous avoir accordé votre temps, Merci d'avoir été très patiente avec nous, Merci d'avoir mis votre expérience à notre profil.

Nous tenons à présenter nos sincères et vifs remerciements aux membres de jury : **Pr SIFOUR M.** et **Dr LAGGOUNE S.**qui ont accepté de juger notre travail.

Nous remercions également toute l'équipe de laboratoire FSNV de l'Université, Mohammed-Seddik Benyahia–Jijel, particulièrement **Assma** et **Badra**.

Nous remerciements s'adressent également à tous ceux qui ont contribué de prés ou de loin pour réaliser ce travail.

Merci

DEDICACES

A ma très chère mère ;

A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ma mère qui ma apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutient qui m'ont donné confiance, courage et sécurité. Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ceque tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance,jusqu'à aujourd'hui.

A mon très cher père ;

A mon premier amour, qui ma appris le bon sens de tout au long de ma vie. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Papa aujourd'hui ta princesse a obtenu sa diplôme et c'est grâce à toi, pour ça rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

Je vous aime du fond de mon cœur ...

A mes très cherfrères ; Aymene,Charif et Sid Ali……

Et surtout A mon petit amoureux, ma joie et mon bonheur à **ABDERRAHIME .**

A ma cher grand-mère qui ma appris le sens de la persévérance tout au long de mes étude, pour ses conseils et ses encouragement.

A mon cher fiancé Houssam qui m'a encouragé et ma donné l'espoir

Merci pour tout….

RAYANE

اهداء

الحمد لله أولا وآخراً

"وما توفيقي إلا بالله"

قال تعالى:

{ يَرْفَعِ اللَّهُ الَّذِينَ آمَنُوا مِنكُمْ وَالَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ دَرَجَاتٍ }

الحمد لله الذي بنعمته تتم الصالحات

اللهم ليس بجهدي واجتهادي إنما بتوفيقك وكرمك وفضلك علي

أهدي نجاحي إلى والدي دمت عزيّ و عزيزي وسندي بعد الله 💙

إلى أمي الغالية أدين لكِ بكل ما وصلت إليه ومَا سأصل إليهِ دمت ملجأي بعد الله 💙

وإلى إخوتي دمتم لي الكتف و السند 💙

إلى كل من أوصلني إلى هذه المرحلة ووقف معي و ساندني على طول الطريق وفي كل لحظة.

.....وفي الختام هاهي اللحظات الأخيرة قد طوت صفحة من حياتي تكللت بالنجاح ومازال للطريق بقية

فالحمد لله رب العالمين والشكر له

بن نخلة سارة

TABLE DE MATIERE

Remerciements ..... **i**
Dédicaces ..... **ii**
Liste des abréviations ..... **vii**
Liste des figures ..... **ix**
Liste des tableaux ..... **x**
Glossaire ..... **xi**

Introduction **1**

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Généralité sur les lichens : *Evernia prunastri*

I.1. Lichens 3
I.1.1. Définition des lichens 3
I.1.2. Partenaires lichéniques 3
I.1.2.1. Mycobionte 3
I.1.2.2. Photobionte 3
I.1.3.Morphologiedesthalleslichéniques 4
I.1.4.Reproduction lichéniques 5
I.1.4.1.Reproduction sexuée 5
I.1.4.2.Reproduction asexuéeouvégétative 6
I.1.5. Intérêt des lichens 7
I.1.6.Influence des facteurs climatiques sur le lichen 7
I.2. Espèce *Evernia prunastri* 8
I.2.1.Classification 8
I.2.2. Identification de l'espèce *Evernia prunastri* 8
I.2.3. Morphologie de l'espèce *Evernia prunastri* 9
I.2.4.Quelques utilités de l'espèce *Everniaprunastri* 9

Chapitre II : Généralités sur le métabolisme lichénique et l'activité biologique

II.1.Métabolisme lichénique 10
II.1.1.Métabolismes primaires 10
II.1.2. Métabolisme secondaire 11
II.2. Activité antioxydante de quelques métabolites secondaires lichéniques 12
II.2.1. Phénomène d'oxydation 12
II.2.2. Antioxydants 13
II.2.2.1. Quelques antioxydants de lichens 13
II.2.2.2. Distribution des composés d'*Evernia prunastri* 17
II.2.3. Quelques méthodes de mesures de l'activité antioxydante 18
II.3. Activité antibactérienne 18
II.3.1. Quelques notions sur les bactéries impliquées dans notre étude 19
II.3.2. Résistance des bactéries aux antibiotiques 20
II.3.3. Quelques méthodes d'étude de l'activité antibactérienne 20

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre III : Matériels et Méthodes

III.1. Préparation du lichen 21
III.2. Extraits méthanoliques des lichens 22
III.3. Détermination de la qualité nutritionnelle du lichen 22
III.3.1. Détermination de la composition approximative 22
III.3.1.1. Détermination de la teneur en eau et en matières volatiles 22
III.3.1.2. Détermination du taux de cendres 22
III.3.1.3. Détermination de la teneur en fibre Brute 23
III.3.1.4. Détermination de la teneur en pectine 24
III.3.1.5. Détermination de la teneur en protéines 24
III.3.1.6. Détermination de la teneur en lipides 25
III.3.2. Analyses physicochimiques 26
III.3.2.1. Détermination du pH 26
III.3.2.2. Détermination de l'acidité titrable totale 26
III.3.2.3. Conductivité électrique 27
III.3.2.4. Dosage de la vitamine C 27
III.3.2.5. Détermination qualitative et quantitative sucres 27
III.4. Analyses phytochimique 28
III.4.1. Détermination qualitatives 28
III.4.1.1. Test pour les saponines 28
III.4.1.2. Test pour les tannins 28
III.4.1.3. Test pour les alcaloïdes 29
III.4.1.4. Test pour les flavonoïdes 29
III.4.1.5. Test de terpénoïdes 29
III.4.2. Détermination quantitatives 29
III.4.2.1. Détermination de la teneur en polyphénols 29
III.4.2.2. Détermination des pro-anthocyanidines 30
III.4.2.3. Détermination de la teneur en flavonoïdes 31
III.5. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques 31
III.5.1. Capacité antioxydant totale 31
III.5.2. Pouvoir réducteur de Fer des extraits méthanoliques 31
III.5.3. Activité anti-radicalaire 32
III.6. Etude de l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques de poudre de lichen 32
III.6.1. Souches bactériennes utilisées 32
III.6.2. Etude de l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques en milieu solide 33
III.6.3. Etude de l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques en milieu liquide 33

Chapitre IV : Résultats et discussion

IV.1. Résultats de la détermination de la composition approximative des broyats du lichen 34
IV.1.1. Résultats de la détermination de la teneur en eau et en matières volatiles 34
IV.1.2. Résultats de la détermination du taux de cendres 34
IV.1.3. Résultats de la détermination de la teneur en fibre Brute 36
IV.1.4. Résultats de la détermination de la teneur en pectine 36
IV.1.5. Résultats de la détermination de la teneur en protéines 37
IV.1.6. Résultats de la détermination de la teneur en lipides 37

IV.1.7. Résultats de la détermination de la teneur en carbohydrates 38
IV.2. Résultats des analyses physicochimiquesdes broyats du lichen 38
IV.2.1. Résultats de la détermination du pH et de l'acidité titrable totale 38
IV.2.2. Conductivité électrique 40
IV.2.3. Résultats de dosage de la vitamine C 40
IV.2.4. Résultats de la détermination qualitative et quantitative sucres 41
IV.3. Résultats des analyses phytochimique 43
IV.3.1. Détermination qualitatives 43
IV.3.2. Détermination quantitatives 44
IV.3.2.1. Résultats de la détermination de la teneur en composés phénoliques 45
IV.3.2.2. Résultats de la détermination des pro-anthocyanidines 45
IV.3.2.3. Détermination de la teneur en flavonoïdes 46
IV.4. Résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques 46
IV.4.1. Capacité antioxydant totale 47
IV.4.2. Pouvoir réducteur de Fer des extraits méthanoliques 47
IV.4.3. Activité anti-radicalaire 47
IV.5. Résultats de l'étude de l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques du lichen..... 48
IV.5.1. Résultats de l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques en milieu solide 48
IV.5.2. Résultats de l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques en milieu liquide 49

Conclusion 51

Références bibliographiques **53**
Annexes
Résumé

LISTE DES ABREVIATIONS

A : Acidité

AOAC : Association of Official Analytical Chemists.

BHA : ButylHydroxyAnisole

BHT : ButylHydroxyToluène

CAT : Capacité Antioxydante Totale

UFC : Unité Formant Colonie

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CPG/SM : Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse

DPPH : 2,2-Diphenyl-1-Picryl-Hydrazyl-Hydrate

EAG : Equivalent d'Acide Gallique

EAA : Equivalent d'Acide Ascorbique

EC : Equivalent de la Quercétine

ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène

PRF : Pouvoir Réducteur du Fer

H_2O_2 : peroxyde d'hydrogène

HCl : acide chlorhydrique

MH : Mueller-Hinton.

NaOH : Hydroxyde de Sodium.

nm : nanomètre

NO:monoxide d'azote

1O2:oxygène singlet

O2•- : radical superoxyde

OH•: radical hydroxyle

$ONOO^-$:peroxynitrite

OH:radical hydroxyle

pH:potentiel Hydrogéne

RO :radicalperoxyle

t/min : tour par minute

LISTE DES FIGURES

Fig. 1 : Principaux Types de thalles lichéniques 05
Fig. 2 : Reproduction sexuée du lichen 06
Fig. 3 : Reproduction asexuée du lichen 06
Fig. 4 : Photos représentant l'espèce *Evernia prunastri* 09
Fig. 5 : Propriétés réductrices des polyphénols 14
Fig. 6 : Structures de l'acide évernique et l'acide usnique d'*Evernia prunastri* 18
Fig. 7 : Echantillon d'*Evernia prunastri* 21
Fig. 8 : Composition approximative (%) de différents constituants d'*Evernia Prunastri* de deux provenances : Sahra et Sétif 34
Fig. 9 : La teneur en éléments minéraux d'*Evernia Prunastride*deux provenances : Sahra et Sétif 35
Fig. 10 : Conductivité électrique d'*Evernia Prunastri* de deux provenances : Sahra et Sétif 40
Fig. 11 : Teneurs en vitamines C et sucres réducteurs d'*Evernia Prunastri* de deux provenances : Sahra et Sétif 41
Fig. 12 : Teneurs en composés phénoliques, flavonoïdes et pro-anthocyanidines d'*Evernia prunastri* deux provenances : Sahra et Sétif 44
Fig. 13 : Capacité anti-oxydante, pouvoir réducteur et activité anti-radicalaire des extraits méthanolique d'*Evernia Prunastri* de deux provenances : Sahra et Sétif 46
Fig. 14 : Résultats de l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques d'*Evernia Prunastri*48
Fig. 15: Résultat des CMIs des extraits méthanoliques d'*Evernia Prunastri* 48

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Acidité et pH d'*Evernia Prunastri* de deux provenances: Sahra et Sétif 39
Tableau II : Quelques paramètres phytochimiques 43

GLOSSAIRES

A

Analgésiques : ce sont des médicaments utilisés pour éliminer la douleur. Ils sont utilisés généralement pour traiter les douleurs aiguës et chroniques

Antihépatotoxiques : est une action qui empêche le pouvoir qu'a une substance (comme les médicaments) de provoquer des dommages au foie.

Apothécies : appareil reproducteur, en forme de disque ou de coupe largement ouverte, de certains champignons ascomycètes, notamment des lichens.

Ascomycètes : est un groupe de Champignons édifie des fructifications souvent complexes, d'aspect et de taille très variables.

Antiulcéreuses : médicament utilisé dans le traitement des ulcères gastriques et duodénaux ou dans la prévention de leur récidive.

B

Bactéricide : est une substance bactéricide possède la propriété de tuer les bactéries, tel qu'un antibiotique. Ils peuvent être trouvés dans le groupe des anti-infectieux et des désinfectants.

Bactériostatique :est une substance qui inhibe la multiplication des bactéries sans les tuer.

Basidiomycètes : ce sont des champignons produisant leurs méiospores (spores issues d'une reproduction de type sexué) à l'extérieur de la cellule fertile, nommée baside (car cette dernière est située à la base des méiospores.

Buissonnant : arbuste à port dressé, buissonnant, très ramifié, s'étalant avec une belle ampleur en vieillissant.

D

Diurétiques : est une substance qui entraîne une augmentation de la sécrétion urinaire et qui peut être utilisée notamment pour traiter l'hypertension artérielle, l'insuffisance cardiaque, l'hypertension portale.

E

Etiologiques : est l'étude des causes et des facteurs d'une maladie. Ce terme est aussi utilisé dans le domaine de la psychiatrie et de la psychologie pour l'étude des causes des maladies mentales.

F

Fructiculeux : présentent des formes barbues ou en laniere et sont fixés en un seul point au support.

Foliacé : forment des thalles en forme de lame ou de feuilles, ils sont faiblement appliqués au substrat et sont facilement détachables par endroits.

H

Hémostatique : est l'ensemble des phénomènes du sang et des vaisseaux sanguins prévenant ou permettant l'arrêt de l'écoulement du sang et ainsi, contrôlant physiologiquement le retour à une circulation normale.

N

Nosocomiales : ce sont les infections contractées au cours d'un séjour dans un établissement de santé (hôpital, clinique…). Elle est aussi appelée infection associée aux soins. Ceci veut dire que ces infections sont absentes au moment de l'admission du patient dans l'établissement.

P

Phylogénétiquement : correspond à l'étude des liens existant entre espèces apparentées. Grâce à elle, il est possible de retracer les principales étapes de l'évolution des organismes depuis un ancêtre commun et ainsi de classifier plus précisément les relations de parentés entre les êtres vivants.

S

Squamuleux : sont des petites écailles, comme des petites squames membraneuses très fines. Les squamules sont trouvées chez les végétaux et les animaux, comme chez les champignons et les lichens.

T

Triterpènes : sont un grand groupe de substances naturelles de la famille des terpènes avec des structures cycliques relativement complexes très répandus dans la nature.

V

Vasculoprotectrices : relatif aux vaisseaux de l'organisme, qui appartient aux vaisseaux, en particulier aux vaisseaux sanguins. membrane, paroi, tronc, tunique vasculaire, mouvement vasculaire.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Introduction

Les lichens remontent à des temps très anciens,ce sont des organismes primitifs résultant de la symbiose d'un partenaire fongique et d'un organisme photosynthétique, soit une algue ou une cyanobactérie. Ils sont présents sur tous les substrats, les écorces, les tiges, les feuilles et dans le sol, mais poussent souvent dans des habitats qui sont moins favorables pour les plantes supérieures **(Boullard, 1997; Kosanic et *al.*, 2014)**.

L'utilisation des lichens comme matière odorante naturelle remonte aux civilisations anciennes. Les Egyptiens, se servaient de la mousse de chêne (*Evernia prunastri*) pour parfumer les objets les plus divers, pour la fabrication du pain et l'embaumement des corps. Au moyen âge, cette mousse est employée pour la préparation de poudres odorantes et dans le traitement des voies respiratoires**(Elix, 1996)**.

Les lichens ont été utilisés par l'homme comme plantes médicinales, comme nourriture pour lui-même ou pour les animaux, comme source de colorants ou de parfums. Les lichens ont servi de nourriture à l'homme surtout en période de disette. Les lichens ont fait également l'objet d'une nouvelle utilisation : la mesure de la pollution atmosphérique **(Collombet, 1989)**.

Les lichens produisent de nombreux métabolites secondaires caractéristiques qui sont uniques dans la nature. La plupart de ces substances sont de nature phénolique et qui représentent parfois jusqu'à 40% aux moins du poids sec du lichen **(Molnár et Farkas, 2010)**.

Bien que moins utilisés que les autres plantes en médecine traditionnelle, les lichen sont une source potentielle de molécules biologiquement actives vu leurs propriétés antioxydantes, cytotoxiques, antivirales, et antibactériennes **(Kosanic et *al.*, 2010)**.

De nombreuses espèces font l'objet des études phytochimiques approfondies afin de mettre à jour et d'identifier denouveaux composés présentant des propriétés biologiquesce qui constituent un axe de recherche très intéressant **(Yamamoto et *al.*, 2015)**.

Face au développement de formes résistantes de bactéries vis-à-vis des traitements antibactériens conventionnels, les métabolites lichéniques sont étudiés comme alternatives. En effet, les lichens possèderaient une activité antibiotique et représenteraient donc une source importante de nouveaux composés bioactifs **(Zambare et Christopher, 2012)**.

Ainsi, nous nous sommes proposés dans ce travail de déterminer quelques propriétés physicochimiques, phytochimiques, anti-oxydantes et antibactériennes d'une espèce de lichen de l'Algérie, *Evernia prunastri*, appartenant à deux provenances a savoir Sahara et Sétif.

Pour développer cet aspect nous avons subdivisé notre travail en deux parties :

- Une partie bibliographique abordant des généralités et quelques activités biologiques (activités antioxydante et antibactérienne) des lichens.
- Une partie expérimentale présentant le matériel et les méthodes utilisés pour effectuer les différents paramètres physicochimiques et phytochimiques incluant la composition approximative (humidité, teneurs en cendre, pH, teneurs en protéines, lipides, sucres, etc.).

Pour évaluer l'activité antioxydante nous avons préconisé les méthodes de phosphomolybdène, réduction du Fer et DPPH. Tandis que, pour l'activité antibactérienne, la méthode de diffusion sur milieu solide et la méthode en milieu liquide ont été utilisées.

La dernière partie est consacrée aux résultats obtenus et aux différentes interprétations.

Chapitre I : Généralités sur les lichens : *Evernia prunastri*

I.1. Lichens

Les lichens sont probablement les premiers colonisateurs d'habitats terrestres sur terre, avec des archives fossiles remontant à 400 à 600 millions d'années. Ces fossiles indiquent que les champignons ont développé des partenariats symbiotiques avec des photo-autotrophes. Il existe environ 300 genres et 18 000 espèces de lichen connus. Ils produisent plus de 800 métabolites secondaires **(Stojanovic et *al*., 2011).**

Les lichens sont retrouvés dans toutes les latitudes, ils dominent les habitats pauvres en nutriments, trop secs ou trop froids pour la survie d'autres types de végétation. Ces organismes sont donc particulièrement représentés dans les milieux polaires et subpolaires. Cette capacité àdominer les environnements difficiles est due à la nature symbiotique de ces organismes **(Asplund et Wardle, 2016).**

I.1.1. Définition des lichens

Les lichens, qui sont intégrés dans le règne fongique, résultent de l'association symbiotique d'un champignon appelé mycobionte (du grec *mykes*: champignon ; *bios* : vie) et d'une algue verte et/ou d'une cyanobactérie appelées photobionte (du grec *photo* : lumière ; *bios* : vie).Cette symbiose confère aux lichens une structure et une reproduction spécifiques par rapport à chaque constituant seul. A la différence des plantes supérieures, ils ne possèdent ni racine, ni tige, ni feuille, mais un appareil végétatif rudimentaire : le thalle **(Yuan et *al.*, 2005).**

I.1.2. Partenaires lichéniques

Les lichens sont généralement formés de deux partenaires aux relations étroites.

I.1.2.1. Mycobionte

Le mycobionte appartient généralement au groupe des Ascomycètes (98%) et plus rarement augroupe des Basidiomycètes (2%). Le mycobionte peut permettre la survie du photobionte en assurant la fixation du thalle sur les roches et d'autres substrats difficiles : le champignon assure une fonction de protection et de drainage hydrique *vis-à-vis* de l'algue par le stockage de l'eau dans ses membranes et la transmettre a l'algue par ses parois **(Boustie et Grübe, 2005 ; Nabors, 2008).**

I.1.2.2. Photobionte

Le partenaire algal, ou photobionte, disposant la capacité de photosynthèse, et donc l'utilisation de l'énergie solaire pour fabriquer des sucres au départ d'eau et de CO_2. Le

partenaire photosynthétique est plus souvent c'est une algue verte (les Chlorophycées) **(Sérusiaux et *al*., 2004).**

I.1.3. Morphologie des thalles lichéniques

La morphologie des lichens est sous la dépendance des contraintes environnementales, 7 types de thalles sont généralement distingués **(Nash, 2008)**.

- **Thalles Crustacés :** le thalle crustacé est de loin le plus répandu et correspond à des croûtes que le lichen forme sur son substrat **(fig. 1, A)**. Ces croûtes peuvent en effet être difficilement séparées de celui-ci sans être endommagées. Elles peuvent être bien délimitées à la périphérie ou non et être distinctement lobées, leur surface peut être continue, fendillée ou nettement fragmentée en petites aréoles **(Sérusiaux et *al*., 2004 ; Clauzade et Rondon, 2014)**.
- **Thalles foliacés :** possèdent des lobes, facilement séparables du substrat auquel ils sont fixés. Certains thalles foliacés n'adhérent au substrat que par un petit crampon, souvent situé au centre de la face inférieure **(fig. 1, B)**. Ils présentent toujours un cortex supérieur et un cortex inférieur en coupe microscopique **(Asplund et Wardle, 2016)**.
- **Thalles Fructiculeux :** le Thalle est divisé en tige cylindrique ramifiées ou en lanières aplaties entière ou divisées **(fig. 1, C)**. Il adhère au support par un crampon réduit et peu donner des touffes pendantes ou dressés d'assez grande dimension **(Clauzade et Roux, 1985)**.
- **Thalles Squamuleux :** le Thalle constitué de très petits lobes redressés à la marge, intermédiaire entre les foliacés et les crustacés **(fig. 1, D)**. Présence d'excroissances verticales en forme de trompe ou de baguette, de couleur gris ou verdâtre portées par un thalle constitué de squamules gris clair à verdâtre **(Wirth et Kirschbaum, 1999)**.
- **Thalle lépreux :** forme sur son substrat une «lèpre», croûte entièrement formée de petits granules farineux sans cortex et sans forte cohérence, pouvant être très coloré **(fig. 1, E)**. Les lichens lépreux sont caractéristiques des habitats abrités des pluies tels les surplombs rocheux et les crevasses des écorces **(Sérusiaux et *al*., 2004)**.
- **Thalles gélatineux :** chez beaucoup de lichens à cyanophycées, le thalle est noir ou noirâtre, le plus souvent rigide et fragile à l'état sec, il gonfle et devient pulpeux sous l'action de l'eau, un peu semblable à la gélatine **(fig F)** (**Clauzade et Roux, 1987)**.
- **Thalles complexes (composites) :** thalle formé de deux parties bien distinctes :

- Thalle primaire plus ou moins adhérent au substrat, crustacé, Squamuleux, plus ou moins foliacé.

- Thalle secondaire Fructiculeux et dressé développé secondairement sur le thalle primaire **(fig. 1, G) (Tievant, 2001)**.

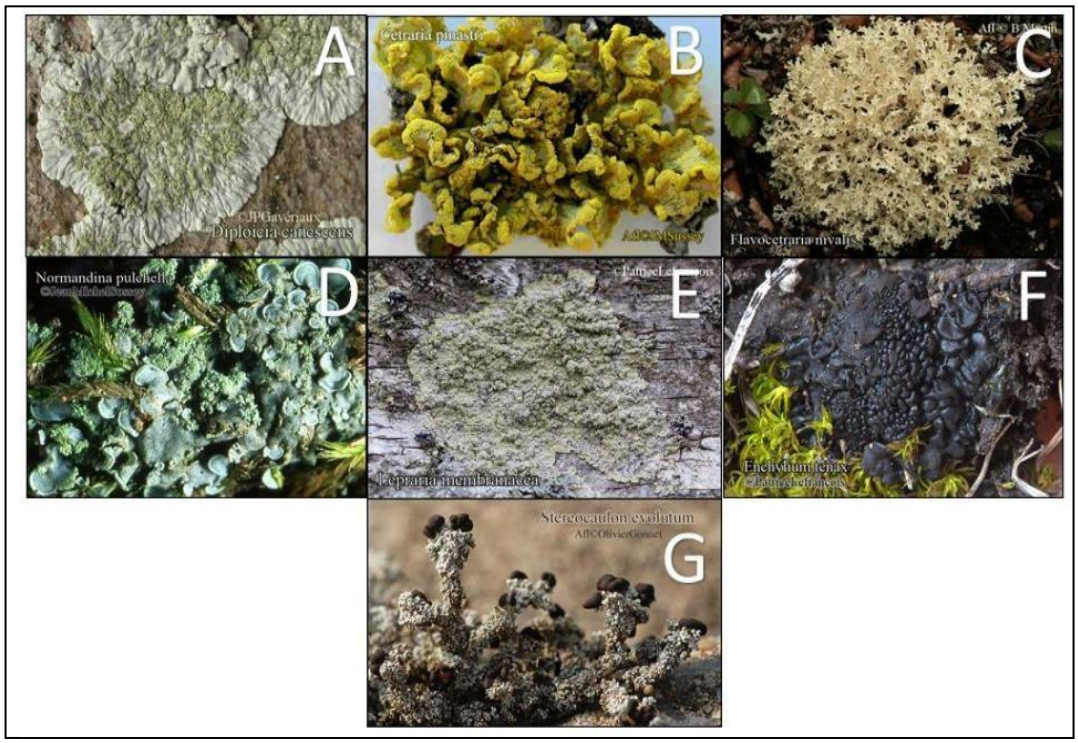


Fig. 1 : Principaux types de thalles Lichéniques **(Pierre, 2016).**

I.1.4. Reproduction lichéniques

Les lichens subsistent longtemps à l'état sec et deviennent cassants. Leurs fragments dispersés par le vent, les animaux ou la pluie, seront capables de régénérer un thalle. La reproduction permet au lichen de coloniser de nouveaux substrats lorsque les conditions sont favorables. Deux modes de reproduction peuvent être adoptés, sexuée et asexuée **(Bellenfant et *al.*, 2010).**

I.1.4.1. Reproduction sexuée (champignon seul)

Les apothécies sont des organes qui indiquent la reproduction sexuée. La reproduction sexuéese déroule en deux phases :

- Dans le même thalle, (sortes de filaments du champignon) fusionnent et forment des boutons appelés apothécies qui vont produire des spores.
- Ces spores facilement transportées par le vent qui devront capturer et emballer une algue présente dans le milieu de façon à pouvoir donner naissance à un nouveau lichen **(Bellenfant et *al.*, 2010).**

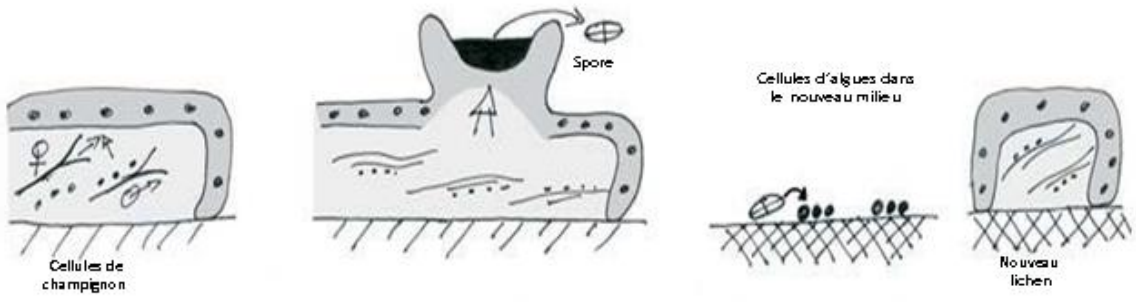


Fig. 2 : Reproduction sexuée du lichen **(Bellenfant et *al.*, 2010).**

I.1.4.2. Reproduction asexuée ou végétative (algue associée au champignon)

Des structures organisées contenant l'algue et le champignon se forment au niveau du thalle :les soralies et les isidies.

- **Les soralies: (fig. 3a)** qui proviennent d'un déchirement du thalle, produisent des granules appelés sorédies (contenant algue et champignon) qui peuvent être disséminés par le vent, la pluie, les insectes, les animaux, l'homme. Si les conditions sont favorables ces sorédies reformeront un nouveau thalle **(Engler et Lacoux, 2009).**
- **Les isidies: (fig. 3b)** sont de petits bourgeons émis par le thalle, contenant algue et champignon. Les isidies se rompent aisément et sont disséminables, quoique moins facilement que les sorédies en outre, elles augmentent de manière souvent significative la surface photosynthétisante du thalle **(Engler et Lacoux, 2009).**

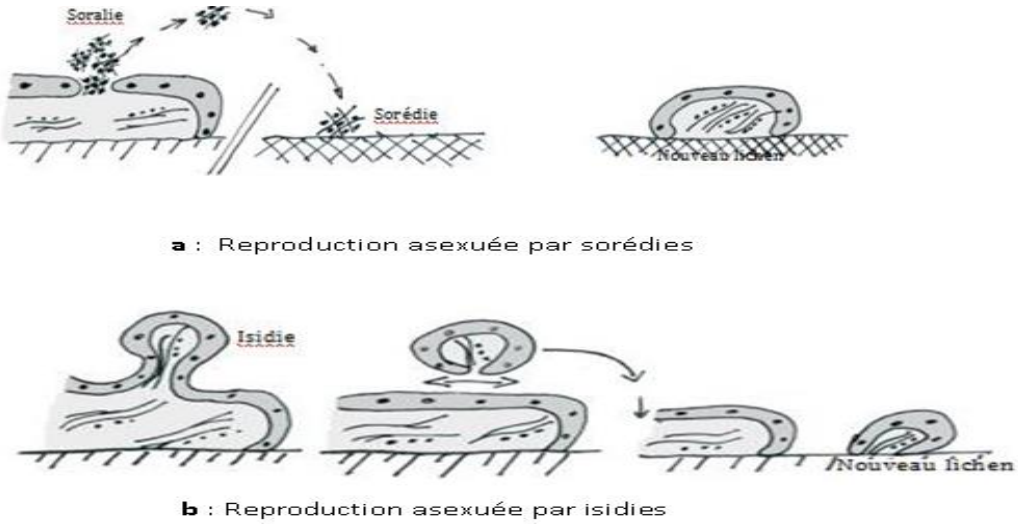


Fig. 3 : Reproduction asexuée du lichen **(Bellenfant et *al.*, 2010).**

I.1.5. Intérêt des lichens

- **Bioindicateurs**

L'utilisation d'organismes vivants pour l'évaluation de la qualité de l'air et de la bioindication lichénique, doit être un outil à privilégier. Les lichens sont utilisés depuis une quarantaine d'années pour suivre la contamination de l'environnement par les éléments traces métalliques et sont capables d'accumuler de grandes quantités d'éléments en utilisant leurs caractères d'alimentation qui dépend totalement de l'atmosphère. Les lichens accumulent facilement les polluants atmosphériques dans leurs tissus sans effets négatifs importants sur leur survie ou leur croissance **(Ouali Almi et *al.*, 2014)**.

- **Usage médicinale et pharmacologique**

Plusieurs extraits de lichen ont été utilisés pour divers remèdes en médecine traditionnelle, et pour traiter les animaux. Ces lichens produisent de très nombreux composés chimiques qui leur sont propres et qui sont susceptibles d'avoir des applications pharmaceutiques **(Karthikai et *al.*, 2011 ; Alpsoy et *al.*, 2013)**. Cependant, le lichen présente des propriétés (antimicrobienne, anti-inflammatoire, antiparasitaire, antivirale, antitumorale, etc.) qui ont été exploitées pour divers usages thérapeutiques **(Cocchietto et *al.*, 2002)**. Certaines espèces de lichens étaient utilisées comme diurétiques et analgésiques pour traiter les douleurs menstruelles, les problèmes rénaux, ou encore respiratoires **(González- Tejero et *al.*, 1995).**

Le lichen a été longtemps utilisé contre la tuberculose, les bronchites chroniques, les diarrhées et permet également de traiter les inflammations de la gorge et de la cavité buccale, les maladies d'estomac, gastriques ou encore la grippe (**Podterob, 2008)**.

- **Usage Alimentaire**

Les lichens sont une nourriture importante pour de nombreux animaux, y compris l'homme. Pendant, la guerre d'Algérie en 1845, l'armée française avait mélangé le lichen à de l'orge afin de nourrir les chevaux des troupes. Ils l'ont aussi mélangé avec la farine pour la préparation du pain dans les régions des montagnes. Dans la région chinoise du Yunnan, les habitants utilisent le lichen afin de préparer un plat traditionnel froid servi lors de banquets de mariage. Le lichen *Evernia prunastri* a été vendu au Caire sous le nom de (Shêba) en tant que levure ou agent de fermentation **(Donkin, 1981 ; Wang *et al.*, 2001 ; Karthikai et *al.*, 2011)**.

I.1.6. Influence des facteurs climatiques sur le lichen

Il existe plusieurs facteurs qui sont :

- **Lumière et température**

La lumière agit sur la photosynthèse et sur l'excédent possible de celle-ci sur la respiration.

Quand ils sont secs, les lichens sont très résistants aux températures extrêmes ; en haute altitude, les lichens peuvent supporter de longues périodes de très basses ou de très fortes températures **(Asta, 2019)**.

- **L'action du vent**

Elle s'effectue de deux façons :

- Une action indirecte, physiologique, qui se traduit par l'augmentation de la vitesse de déshydratation.
- Une action directe, mécanique, qui joue un rôle dans la dissémination des fragments de thalle et des propagules de multiplication végétative **(Asta, 2019)**.

- **L'eau**

L'eau joue un rôle capital dans l'écologie des lichens car le degré d'hydratation du thalle conditionne les fonctions fondamentales. Certains organismes peuvent passer rapidement de l'état de vie active quand ils sont humides à l'état de vie ralentie quand ils sont secs et inversement **(Asta, 2019)**.

I.2. Espèce *Evernia prunastri*

I.2.1. Classification

L'espèce d'*Evernia prunastri* est classifiée comme suit :

Règne : *Fungi*

Division : Ascomycota

Classe : Lecanoromycetes

Ordre : Lecanorales

Famille : Parmeliaceae

Genre *: Evernia*

Espèces *: Evernia prunastri* **(Solak, 2016).**

I.2.2. Identification de l'espèce *Evernia prunastri*

Evernia prunastri est également définie comme (Oakmoss, mousse de chêne) parce que ce lichen est situé sur l'écorce des chênes. Mais également dans une certaine mesure sur des arbres de pin dans des atmosphères humides à très humides **(Loppi et Frati, 2006 ; Senol et *al.*, 2019).** Cette espèce croissant sur des écorces neutres à acides, peut aussi se trouver sur des piquets de clôture, au sol dans des landes, sur des sables en arrière-dune et parfois sur des roches siliceuses enrichies en nutriments **(Smith et *al.*, 2009)**. Cette espèce peut être altérée lorsqu'elle est

exposée à des conditions sèches et à la pleine lumière du soleil. Ce lichen est également sensible à la pollution de l'air **(Munzi, 2013 ; Alpsoy et *al.*, 2013).**

I.2.3. Morphologie de l'espèce *Evernia prunastri*

Thalle à aspect buissonnant formé de lanières plates (fig. 4), de 3 à 10 cm de hauteur, de type arbustif formant des rameaux en lanières **(Bellenfant et *al.*, 2010).** Cette espèce présente une face supérieure de couleur gris verdâtre à vert pâle-jaune et une face inférieure grisâtre à blanchâtre **(Karabulut et Osturk, 2015)**. La couleur *d'Evernai prunastri* varie du vert au blanc verdâtre quand il est sec, et de l'olive vert foncé au jaune-vert lorsqu'il est frais. Le thalle de cette espèce est foliacé, mais attaché à un point et apparaissant fruticuleux. La texture des thalles est rugueuse lorsqu'elle est sèche et caoutchouteuse lorsqu'elle est fraiche **(Kosanic et *al.*, 2013 ; Kolly-Ray et Mangin-Gonze, 2016)**

Kolly-Ray et Mangin-Gonze, (2016)

Douibi et *al.* (2016)

Fig. 4 : Photos représentant l'espèce *Evernai prunastri*

I.2.4. Quelques utilités de l'espèce *Evernia prunastri*

- Un lichen fruticuleux est considéré comme source très importante de dépsides (notamment l'acide évernique), de l'acide usnique et l'antranorine **(Culberson, 1963)**.
- Parmi les 199 molécules chimiques d'*Evernia prunastri*, 80 d'entres elles participent à l'odeur, dont l'éverninate de méthyle qui jouent un rôle primordiale, une partie de ces molécules a pu être synthétisées chimiquement **(Roux et *al.*, 1986).**
- Dans l'éventuelle utilisation des lichens comme source de molécules biologiquement actifs, *Evernia prunastri* est parmi les espèces dont la décomposition des mycotoxines à été décrite **(Burkin et Kononenko, 2015)**.

Chapitre II : Généralités sur le métabolisme lichénique et l’activité biologique

II.1. Métabolisme lichénique

Le métabolisme est indispensable à la vie et joue un rôle essentiel dans l'échange d'énergie et de matière. Les lichens produisent un large éventail de substances biologiquement actives : métabolites primaires (intracellulaires) et secondaires (extracellulaires) **(Andersson et *al.*, 1998 ; Zambare et Christopher, 2012)**.

Certains métabolites jouent également un rôle important dans la compétition car ils sont capables d'affectés le développement et la croissance des lichens, des champignons, des mousses, des micro-organismes et des plantes voisines. Cette concurrence en termes d'espace, de lumière sur des substrats variés est déterminante pour la structure des communautés lichéniques et pour la distribution des différentes espèces **(Armstrong et Welch, 2007)**.

II.1.1. Métabolismes primaires

Les métabolismes primaires sont les molécules qui existent dans toutes les cellules et qui sont nécessaires à la vie de l'être vivant. Ils ne sont pas spécifiques aux lichens et sont également retrouvés chez les champignons, les algues et plantes supérieures. Ils sont à la base de la machinerie moléculaire de la cellule, regroupant les protéines, les lipides, les polyols, les polysaccharides, les pigments (chlorophylles, xanthophylles, carotènes, etc.) et d'autres composés organiques intervenant dans le métabolisme et la structure des lichens **(Olafsdottir et Ingólfsdóttir, 2001 ; Hopkins, 2003 ; Podterob, 2008**).

- **Classes de métabolisme primaire**
  - **Glucides**

D'un point de vue nutritif, les lichens sont riches en polysaccharides 3 (D-mannose, de D-galactose, de D-glucose), cellulose et hémicellulose sont utilisées dans la nourriture des animaux et de l'homme : utilisé dans l'alimentation se forme des poudre ajoutée au blé ou aux pommes de terre pour compenser la pénurie d'autres farine, utilisé aussi pour la fermentation de la bière **(Dalpé, 2019)**.

Les polysaccharides, en particulier, ont fait l'objet d'études démontrant leurs activités biologiques, notamment antitumorale, immunostimulante et antivirale **(Olafsdottir et Ingólfsdóttir, 2001)**.

  - **Lipides**

Parmi les acides gras du lichen, trois sont en quantité importante et un en quantité moindre, acides gras polyinsaturés: acide linoléique et acide linolénique, acide gras monoinsaturé : acide

oléique et acide gras saturé : acide palmitique. Ainsi que les lipides jouent un rôle de réserve nutritive **(Collombet, 1989 ; Cost, 2008)**.

- **Protéines**

Les protéines de lichen sont considérées comme des substances biologiquement actives potentielles avec des propriétés biochimiques uniques, l'albumine, la glutéine, la prolamine et la globuline sont des protéines solubles de lichen à 53,4 % des protéines totales). Les protéines de lichen sont utilisées comme des antigels pour les aliments surgelé **(Culberson, 1969 ; Kondratiuk et *al.*, 2015)**.

- **Vitamines**

Les lichens possèdent également un équipement enzymatique et vitaminique : la vitamine C (acide ascorbique) est souvent produite en quantité appréciable. D'autres vitamines sont également retrouvée : précurseurs de la vitamine A, D et surtout celles du groupe B (biotine, riboflavine, acide folique …) **(Collombet, 1989 ; Coste, 2008)**.

La vitamine C est considérée comme le plus important antioxydant hydrophile étant efficace dans le piégeage des anions superoxydes, les radicaux hydroxyles, le peroxyde d'hydrogène et l'oxygène singulet. Elle intervient également dans la régénération de la vitamine E et protège également les phospholipides membranaires des dommages peroxydantes **(Gardès et *al.*, 2003 ; Du et *al.*, 2012 ; Pisoschi et Pop, 2015)**.

La vitamine E, regroupe la famille des tocophérols (α, β, δ, γ), est l'antioxydant liposoluble majeur des lipides. Elle protège les structures moléculaires particulièrement sensibles à l'oxydation (elle réagit avec les radicaux peroxyles ce qui permet l'inhibition de la peroxydation lipidique). Seuls les formes α et δ tocophérols possèdent les propriétés antioxydants les plus intéressantes **(Vertuani et *al.*, 2004 ; Duncan et Suzuki, 2018)**.

- **Sels minéraux**

Leurs pourcentage est généralement faible : 1 à 2 % du poids sec, leur importance dans les lichens est très comparable à celle retrouvée dans les végétaux **(Collombet, 1989).**

II.1.2. Métabolisme secondaire

Les métabolites secondaires sont des substances originales divisées en plusieurs familles et sont principalement responsables de l'aptitude des lichens à se développer dans des conditions extrêmes. Ils représentent en moyenne 5 à 10 % de la masse sèche du thalle (jusqu'à 20 %) **(Shukla et *al.*, 2010)**. Les lichens produisent des métabolites secondaires très particuliers. Bien que ne participant pas aux processus fondamentaux de la vie, ce sont en particulier des facteurs de défense contre les animaux phytophages et prédateurs, ou encoure contre des champignons

parasites. Ces métabolites sont nécessaires pour la pigmentation, la croissance, la reproduction, la résistance aux microbes pathogènes et pour beaucoup d'autres fonctions des lichens **(Fahselt, 1994 ; Naczk et Shahidi, 2004).**

Les lichens montrent un métabolisme particulier qui se traduit par la biosynthèse de composés phénoliques fréquemment spécifiques et qui contiennent des substances très recherchées par les industries de pharmacie et de la phytothérapie **(Quilhot et *al*., 1992 ; Orzechowski et *al*., 2002)**.

II.2. Activité antioxydante de quelques métabolites secondaires lichéniques

L'activité antioxydante est une propriété fondamentale importante pour la vie, elle consiste à l'inhibition des réactions en chaines de production de radicaux libres et limitant ainsi leurs actions **(Velioglu et *al*., 1998 ; Popovici et *al.*, 2009)**.

II.2.1. Phénomène d'oxydation

Un radical libre est définies comme toute molécule possédant un ou plusieurs électrons non appariés, cette molécule est très instable et réagie rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir la stabilité. Une réaction en chaine débute lorsqu'un radical libre attaque la molécule stable la plus proche en lui arrachant son électron, et la molécule attaquée devient elle-même un radical libre **(Martinez, 1995)**.

L'ensemble des radicaux libres primaires est souvent appelé « espèces réactives de l'oxygène (ERO) ». Parmi les espèces réactives oxygénées les plus intéressantes y a les espèces réactives radicalaires qui sont des radicaux libres qui dérivent de la molécule d'oxygène, par addition d'un électron: radical superoxyde (O^{2}•-), radical hydroxyle (OH•), monoxyde d'azote ($NO^{\cdot}$), mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité estimportante: l'oxygène singlet ($^{1}O2$), peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), peroxynitrite ($ONOO^{-}$) **(Gardes et *al.*, 2003)**.

La réactivité des ERO envers les macromolécules biologiques, qui peuvent réagir potentiellement avec chaque composant cellulaire et provoquer son oxydation provoque le stress oxydant. Les cibles préférentielles des radicaux libres sont les lipides, suivis par les protéines et les bases constitutives du matériel génétique **(Favier, 2003).**

Dans les produits alimentaire, les principaux composés oxydables sont les acides gras insaturés, à l'état libre ou estérifiés en triglycérides, et porteurs d'un ou plusieurs site(s) réactionnel (s) que sont les doubles liaisons ; d'autres composés de nature lipidique sont par ailleurs oxydables : vitamines liposolubles, stérols,... Le phénomène d'oxydation des acides gras

conduit à une dégradation organoleptique de la matrice qui les contient, avec apparition d'une flaveur caractéristique « rance » qui modifie la qualité marchande du produit et conditionne directement sa durée de vie **(Judde, 2004)**.

II.2.2. Antioxydants

Un antioxydant peut être défini comme toute substance capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats. Ce sont des éléments protecteurs qui agissent comme capteurs de radicaux libres. Ce sont des composés très réactifs comportant un électron célibataire et nécessaire à des mécanismes vitaux **(Shahidi, 1997 ; Bartosz, 2003)**.

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, un antioxydant peut agir contre un radical libre de différentes manières par :

- le captage de l'oxygène singulier ;
- la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente ;
- la réduction de radicaux ou de peroxydes ;
- la réparation des dommages résultants de radicaux libres **(Lamina et *al*., 2013)**.

Les antioxydants peuvent être classés en deux types: les antioxydants synthétiques et les antioxydants naturels.

Parmi les molécules antioxydantes synthétiques les plus couramment utilisées, nous pouvons évoquer dans un premier temps le Trolox (est un analogue de la vitamine E, il possède un fort potentiel antioxydant et sert souvent d'antioxydant de référence lors des tests biologiques), BHTet BHA (ce sont des antioxydants utilisés comme conservateurs dans l'industrie agro-alimentaire) **(Vacaresse et *a.l*, 2001 ; Belitz et *al*., 2009)**. Tandis que, pour les antioxydants naturels la vitamine C, la vitamine E et les caroténoïdes s'avèrent les plus connus et les plus importants **(Poljsak et *al*., 2013)**.

II.2.2.1. Quelques antioxydants de lichens

Les lichens semblent être de bonnes sources naturelles d'antioxydants en raison de leur production de métabolites secondaires uniques qui diffèrent de ceux observés chez les non-lichénées et pourraient être utiles pour augmenter la valeur nutritionnelle de différents aliments. Les composés phénoliques de lichens jouent une fonction cruciale dans le règlement de la croissance et le développement du lichen en conditions climatiques stressantes et défavorables **(Kosanić, 2010 ; Rancovic, 2019)**.

a) Composés phénoliques

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont des métabolites secondaires largement répandues. Plus de 8000 structures phénoliques ont été identifiées, telles que: les flavonoïdes, les acides phénoliques, les tannins, etc **(Dai et Mumper, 2010 ; Waksmundzka-Hajnos et Sherma, 2011).**

Les polyphénols exercent un effet majeur sur les caractères organoleptiques des produits par leurs propriétés antiseptiques, antibactériennes, antifongiques. Ils peuvent avoir une incidence sur la conservation des produits alimentaires ou pharmaceutiques dont l'état de conservation doit être le plus parfait possible tout au long de leur cycle de vie. Les propriétés antioxydants ou anti-inflammatoires des polyphénols participent à la prévention de diverses pathologies impliquant le stress oxydant et le vieillissement cellulaire, les maladies cardiovasculaires **(Sarni-manchado et cheynier, 2006)**.

Les polyphénols agissent comme des piégeurs de radicaux libres et des chélateurs de métaux, sont capables de donner l'atome d'hydrogène de l'OH phénolique aux radicaux libres pour arrêter l'oxydation (fig. 5) **(Saghir et Al-Shabib, 2020).**

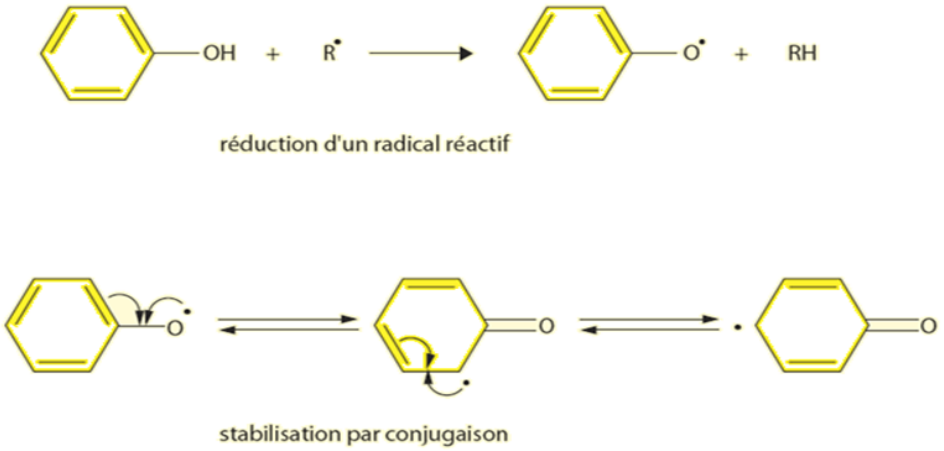


Fig. 5 : Propriétés réductrices des polyphénols **(Rolland, 2004)**.

- **Acides phénoliques**

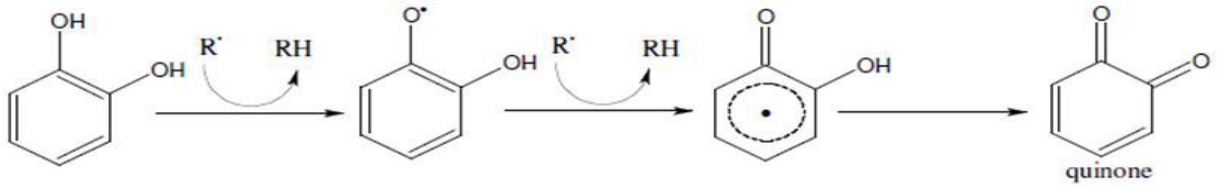
Les acides phénoliques font partie des formes les plus simples des composés phénoliques et se séparent en deux grands groupes distincts : les acides hydroxybenzoïques dérivés de l'acide benzoïque et les acides hydroxycinnamiques dérivés de l'acide cinnamique. Ils possèdent des propriétés antioxydantes, antivirales et antibactériennes **(Hennebelle et*al*., 2004 ; Pandey et Rizvi, 2009).**

Flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires. Plus de 4000 flavonoïdes ont été décrits. Ils constituent la plus grande famille des polyphénols **(Edenharder et Grünhage, 2003)**.

Les flavonoïdes constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange, et rouge de différents organes végétaux. Ils sont capables de moduler l'activité de certaines enzymes et de modifier le comportement de plusieurs systèmes cellulaires, suggérant qu'ils pourraient exercer une multitude d'activités biologiques, notamment des propriétés antioxydantes, vasculoprotectrices, antihépatotoxiques, antiallergiques, anti-inflammatoires, antiulcéreuses et même antitumorales significatives **(Ghedira, 2005).**

L'action antioxydante de ces composés ne s'exerce pas seulement par l'inhibition des radicaux libres, mais elle se manifeste aussi par la neutralisation d'enzymes oxydantes et par la chélation d'ions métalliques responsables de la production des espèces réactives de l'oxygène **(Cotelle, 2001)**. Les flavonoïdes sont thermodynamiquement capables de réduire les radicaux libres oxydants, comme le superoxyde, le peroxyle, et l'hydroxyle, par transfert d'hydrogène et le radical Flavonoxy qui en résulte peut réagir avec un autre radical pour former une structure stables **(Jovanovic et *al.*, 1994)**.



Anthocyanes

Les anthocyanes (du grec anthos = fleur et kyanos = bleu) constituent le plus grand et probablement le groupe le plus important de pigments naturels hydrosolubles. Ils appartiennent au groupe de composés polyphénoliques nommé flavonoïdes. Plus de 635 anthocyanes ont été identifiés, et un tel groupe hétérogène permet d'obtenir des couleurs du rose au rouge et du violet au bleu foncé. Outre ses propriétés en tant que colorant, les anthocyanes présentent des bénéfices potentiels pour la santé (propriétés anti-inflammatoires, anti-cancérigènes, prévention des maladies cardiovasculaires, contrôle de l'obésité et réduction du diabète). Ces propriétés sont probablement toutes associées plus ou moins avec leurs propriétés antioxydantes élevées **(Giusti et Jing, 2007 ; Crozier et *al.*, 2009 ; Basu et *al.*, 2010; He et Giusti, 2010)**.

Lignines

La lignine est un polymère fortement ramifié, formés par trois alcools phénoliques simples, est un très grand polymère insoluble dans l'eau et dans la plupart des solvants organiques,

il est donc impossible de l'extraire sans lui faire subir d'importantes dégradations. La lignine joue un rôle dans la résistance mécanique **(Hopkins, 2003).**

- **Tanins**

Ce sont des substances polyphénoliques de structures variées et ayant en commun la propriété de tanner la peau, c'est à-dire de la rendre imputrescible. Ce sont des molécules pouvant former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux glucides, aux protéines et aux enzymes digestives, réduisant ainsi la digestibilité des aliments. Leurs applications thérapeutiques sont nombreuses (hémostatique, antidiarrhéique, antiseptique). Ils ont un mécanisme de défense et de protection des végétaux contre les insectes, les champignons et les bactéries **(Bruneton, 2009 ; Hassanpour et *al*., 2011).**

b) Terpénoïdes (huiles essentielles)

Ce sont des produits aromatiques légers volatils, généralement liquides à température ambiante et insolubles dans l'eau. Ils constituent un groupe de molécules très différentes tant d'un point de vue structurel que fonctionnel, près de 15000 structures moléculaires sont connues. Les terpénoïdes sont des substances généralement lipophiles qui dérivent d'une entité simple à cinq atomes de carbones **(Ntezurubanza et *al*., 1984 ; Hopkins, 2003)**. Ils sont utilisés comme matière première pour l'industrie des parfums et des cosmétiques **(Djibo, 2004)**.

- **Caroténoïdes**

Les caroténoïdes sont importants non seulement pour leur activité de provitamine A, mais également pour d'autres actions dans les systèmes biologiques y compris leurs propriétés antioxydantes. Ils sont connus pour fonctionner comme des récepteurs de l'énergie lumineuse. Ils jouent un rôle protecteur en empêchant la dégradation de la chlorophylle par l'oxygène moléculaire. Ils sont généralement de bons capteurs de radicaux hydroxyles OH et peroxyles RO. Ils sont donc susceptibles d'inhiber les chaînes de peroxydation lipidique et peuvent aussi capter l'oxygène singlet, ce qui leur permet d'exercer une protection vis-à-vis des dommages induits par les rayons Ultraviolets Certains caroténoïdes se sont avérés avoir une activité antimutagène (carotène). Le lichen d'Islande contient un grand nombre de dérivés dont le β et γ carotène, la provitamine A, la violaxanthine, la lutéine ou xanthophylle **(Collombet, 1989 ; Gardès et *al*., 2003 ; Podterob, 2008; Nowicka et Kruk, 2012)**.

- **Saponines**

Ce sont des glycosides de triterpènes (du latin sapo = savon). Ils sont caractérisés par leurs propriétés tensio-actives : ils se dissolvent dans l'eau en formant des solutions moussantes. Ils sont utilisés principalement comme nourriture humaine (abaisser les concentrations plasmatiques

de cholestérol et donc réduire le risque de maladie cardiaque). Les saponines retiennent l'attention aussi bien pour leur exploitation dans l'industrie pharmaceutique, cosmétiques et des applications en phytothérapie **(Oakenefull, 1981).**

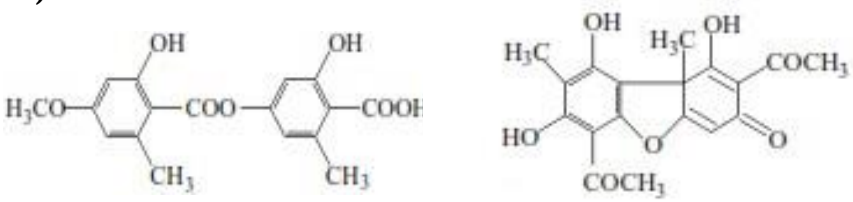
c) Alcaloïdes

Les alcaloïdes forment un grand nombre des familles très hétérogènes des métabolites secondaires représentant un intérêt de par leurs propriétés pharmacologiques et leur application en médecine **(Iserin, 2001).** Les alcaloïdes jouent un rôle important comme principes actifs des médicaments, ils sont utilisés soit tels quels, soit sous forme de dérivés plus actifs. Ils ont des propriétés antimicrobiennes : antibactériennes, antivirales, antifongiques **(Rotimi et *al*., 1988)**.

II.2.2.2. Distribution des composés d'*Evernia prunastri*

Parmi les métabolismes secondaires les plus importants de l'*Evernai prunastri* sont l'acide évernique et l'acide usnique atranorine et chloratranorine qui se déposent principalement dans le cortex. De même, l'acide évernique se dépose également dans la zone médullaire du thalle (fig. 6) **(Lackovicova et *al*., 2013).**

- **Acide usnique** : est l'une des substances les plus courantes du lichen, il est l'acide le plus largement utilisé en médicine. Il s'agit d'une substance cristalline de couleur jaune qui se dissout bien dans le benzène, le chloroforme, l'alcool amylique et l'acide acétique glacial, peu soluble dans l'éther de pétrole et l'éther diéthylique et insoluble dans l'eau. La teneur en acide usnique des lichens varie de 0,2 % à 4,0 % **(Podterob, 2008 ; Joulainet Tabacchi, 2009).**
- **Acide évernique** : se présente sous forme de cristaux ressemblant à ceux de l'acide benzoïque, inodore, insipide, peu soluble dans l'eau froide, plus soluble dans l'eau bouillante, très soluble dans l'alcool et dans l'éther. L'acide evernique se trouve principalement dans le thalle à des concentrations nettement plus élevées que l'acide usnique **(Pelouze et Fremy, 1854 ; Ramaut, 1965).**



Acide évernique Acide usnique

Fig. 6 : Structures de l'acide évernique et l'acide usnique d'*Evernia prunastri* **(Podterob, 2008)**

II.2.3. Quelques méthodes de mesures de l'activité antioxydante

Ils existent plusieurs méthodes pour mesurer l'activité antioxydante *in vitro*.

- **Test de la réduction du fer FRAP (Ferricreducting-antioxidant power)**

Cette méthode est basée sur le changement de coloration lors de la réduction du fer après un transfert d'électrons, c'est un passage de l'ion ferrique (Fe3+) à l'ion ferreux (Fe2+). Les résultats peuvent être exprimés en équivalents micro molaires Fe2+ ou par rapport à un étalon antioxydant**(Antolovich et *al.*,2001)**.

- **Test de Piégeage du radical libre DPPH(ScavengingActivity)**

Le DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl-hydrate) est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicale libre et la simplicité de l'analyse.Cette méthode est basée sur le transfert d'électrons qui produit une solution violette dans l'éthanol. Ce radical libre, stable à la température ambiante et de couleur violette caractéristique, est réduit en présence d'une molécule antioxydante, donnant naissance à une solution d'éthanol incolore. L'utilisation du test DPPH fournit un moyen simple et rapide d'évaluer les antioxydants par spectrophotométrie, il peut donc être utile d'évaluer différents produits à la fois **(Garcia et *al.*,2012)**.

II.3. Activité antibactérienne

Les activités antibactériennes des extraits de lichens varient en fonction des solvants utilisés pour les extractions ainsi que des bactéries testées et notamment de la composition de leur membrane. Les bactéries à Gram positif sont généralement plus sensibles à l'activité antibiotique des métabolites lichéniques que les bactéries à Gram négatif. Sur 42 espèces de lichens testées, en particulier celles appartenant au genre *Cladonia*, 27 se sont révélées actives contre *Staphylococcus aureus* **(Burkholder et *al.*, 1944)**.

Plus de 50 % des lichens possèderaient une activité antibiotique et représenteraient donc une source importante de nouveaux composés bioactifs **(Zambare et Christopher, 2012)**.

II.3.1. Quelques notions sur les bactéries impliquées dans notre étude

Les bactéries sont définis comme des micro-organismes vivants unicellulaires (formé d'une seule cellule), visible au microscope et peuvent présenter différentes formes : des formes sphériques (coques), des formes allongées ou en bâtonnets (bacilles) et des formes plus ou moins spiralées **(Nicklinet *al.*, 2000)**.

Pour se développer, les bactéries doivent trouver dans le milieu extérieur des conditions physico- chimiques favorables nécessaires, ainsi que des aliments qui répondent à leurs

besoins énergétiques fondamentaux et spécifiques. Sur le plan pratique, le milieu de culture conçu par l'homme pour l'étude des bactéries répond à ces besoins, on l'appelle donc milieu de culture **(Leclerc et *al*., 1995)**.

- ***Escherichia coli***

C'est une bactérie à Gram négatif, apparentant à la famille des Entérobactérie, souvent mobiles, mais parfois immobiles, isolées pour la première fois par Thomas Escherich en 1855. C'est l'espèce dominante de la flore aérobie du tube digestif, de forme non sporulée, de type aérobie facultatif, généralement mobile grâce aux flagelles, sa longueur varie de 2 à 6 µm, alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5 µm. *E. coli* représente la bactérie la plus impliquée dans les infections aigues d'appareil urinaire, elle provoque également les diarrhées d'été, diarrhée infantile et les intoxications alimentaires **(Percival, 2014)**.

- ***Pseudomonas aeruginosa***

P. aeruginosa est une bactérie à Gram négatif, aérobie stricte, dépourvue de capsule. Comme la plupart des espèces appartenant au genre *Pseudomonas*, elle est capable de se développer dans un large spectre de températures (+4°C à +42°C).Cette bactérie possède particulièrement une résistance naturelle à différentes classes d'antibiotiques en provoquant une gamme d'infections aiguë et chronique, responsable de 10 % à 15 % de l'ensemble des infections nosocomiales **(Barbarieret wolff, 2010 ;Bousque, 2018)**.

- ***Staphylococcus aureus***

Staphylococcus aureus est une espèce à Gram positif et forme des grappes irrégulières ressemblant à des raisins. Il est non mobile, non sporulé. Il se développe rapidement et abondamment dans des conditions aérobies. Il est également responsable d'infections variées aussi bien en milieu communautaire qu'hospitalier et c'est l'un des principaux agents étiologiques des infections suppuratives superficielles et profondes ainsi que des syndromes liés à l'action des toxines. La résistance de *S. aureus* aux antibiotiques est fréquente. La virulence, la capacité à provoquer diverses infections et son aptitude à s'adapter sont les principales préoccupations à propos de ce pathogène **(Foster, 2002 ; Nhan et *al.*, 2012 ;Gavanjiet *al.*, 2014)**.

II.2.2. Résistance des bactéries aux antibiotiques

Un antibiotique est une substance chimique ayant une activité bactéricide ou bactériostatique contre des micro-organismes pathogènes, et permettant ainsi de traiter des diverses infections **(Davies et Davies, 2010)**.

Une souche est dite résistante lorsqu'elle se cultive en présence de concentration plus élevée en antibiotique comparativement à d'autres souches qui lui sont phylogénétiquement liées : une souche est qualifiée cliniquement de résistante lorsqu'elle survit à la thérapie antibiotique mise en place **(Muylaert et Mainil, 2012)**.

II.2.3. Quelques méthodes d'étude de l'activité antibactérienne

- **méthode de diffusion sur milieu solide (méthodes des disques)**

Cette méthode est la plus connue et la plus utilisée, elle consiste en l'ensemencement sur un milieu gélosé, dans une boîte de Petri, d'une suspension bactérienne. La substance à tester est ensuite imprégnée sur un disque de cellulose, lui-même déposé sur la boîte de Petri. Après incubation, l'activité antibactérienne, lorsqu'elle est observée, apparaît sous la forme d'un halo d'inhibition autour du disque **(Fontanay et *al.*, 2015)**.

- **Méthode de micro-dilution en milieu liquide (détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice)**

Dans des microplaques à 96 puits, des dilutions en série de l'extrait, convenablement solubilisés ont été préparées. L'inoculum préparé a été rajouté dans chaque puits afin d'obtenir une densité cellulaire donnée. Apres incubation, la CMI est définie comme étant la plus faible concentration capable d'inhiber toute croissance microbienne visible à l'œil nu du premier puits et ne présentant ni trouble ni culot bactérien **(Ben Abdallah et *al.*, 2019)**.

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre III : Matériel et Méthodes

L'ensemble du travail de cette étude a été réalisé dans le Laboratoire de Contrôle de Qualité, de La Faculté Des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Jijel.

Notre étude a pour but d'évaluer quelques paramètres nutritionnels, physicochimiques, phytochimiques ainsi que d'étudier l'activité antioxydante et antibactérienne d'une espèce de lichen.

III.1. Préparation du lichen

Deux échantillons refermant des thalles entiers du lichen ont été achetés auprès d'un herboriste spécialiste. Ces derniers appartiennent à deux provenances à savoir : Sétif et Sahara. Le matériel a été identifié par le Dr Salem Samira (Laboratoire de Biotechnologie, Environnement et Santé, Université de Jijel) ; il s'agit de l'espèce *Evernia prunastri*. Cette espèce présente une face supérieure de couleur gris verdâtre pour l'espèce de provenance de Sahra (fig. 7a) et vert pâle-jaune pour l'espèce de provenance Sétif (fig. 7b). Des thalles intacts d'*Evernia prunastri* ont été soigneusement nettoyés, débarrassés de tous contaminants (poussière, débris végétaux, etc.), puis séchés dans une étuve réglée à 40 °C, pendant une semaine.

Les thalles séchés sont broyés en poudre très fine à l'aide d'un mixeur électrique, puis passés à travers des tamis à porosité très fine (250 µ) (Cisa). Les broyats obtenues ont été mises dans des récipients en verres et stockées pour une utilisation ultérieure (détermination de la qualité nutritionnelle et analyse phytochimique).

a)

b)

Fig. 7 : Echantillon d'*Evernia prunastri* : **a)** provenance de Sahara, **b)** provenance de Sétif

.III.2. Extraits méthanoliques des lichens

Pour apprécier le contenu en métabolites secondaires d'espèce de lichen, une extraction par macération a été réalisée dont son principe consiste à faire imprégner une quantité de poudre de lichens dans un volume du solvant (méthanol) sous agitation mécanique pendant 48h.

Les extraits méthanoliques de lichens ont été préparés comme décrit par **(Aoussar et *al.*, 2021)**. Environ 50 g de poudre de lichen ont été soumis à une extraction avec 500 ml de méthanol (80%) pendant 48 h à température ambiante, puis les extraits ont été filtrés (papier Watman N° 1) et concentrés en évaporant le solvant à travers un évaporateur rotatif (Heidolph) à 40 °C. Les extraits méthanoliques obtenus ont été stockés à 4°C jusqu'à l'analyse (détermination de l'activité anti-oxydante et antibactérienne).

III.3. Détermination de la qualité nutritionnelle du lichen

Pour caractériser la qualité nutritionnelle des lichens, différentes analyses sont effectuées :

III.3.1. Détermination de la composition approximative

III.3.1.1. Détermination de la teneur en eau et en matières volatiles

Le principe de la méthode consiste à provoquer le départ d'eau par chauffage d'une quantité de poudre de lichen jusqu'à élimination complète de l'eau.

Chauffage d'une prise d'essai (2gdu broyatde lichen) dans une étuve (Memmert) à 105°C jusqu'à l'élimination complète de l'eau et des matières volatiles et détermination de la perte de masse **(Rozzamri et *al.*, 2020)**.

$$H\% = \frac{M1 - M2}{M1 - M0} x\ 100$$

Avec :

M_0 : Masse (g) du creuset vide

M_1 : Masse (g) du creuset avec la prise d'essai avant le chauffage

M_2 : Masse (g) du creuset avec la prise d'essai après le chauffage

III.3.1.2. Détermination du taux de cendres

Le principe de la méthode est basé sur la calcination de l'échantillon à 600 °C dans un four à moufle jusqu'à obtention de cendres blanchâtres de poids constant **AOAC (2000)**.

Deux gramme du broyat de lichen sont mis dans un creuset, puis placée dans un four à moufle (Furnace) réglé à température contrôléeà550°C.Maintenir à cette température jusqu'à ce que le poids soit stabilisé. Le creuset est transféré directement dans le dessiccateur, refroidi, pesé immédiatement puis le pourcentage de cendres est calculé.

La teneur en cendres (Cn) est déterminée par la formule suivante :

Cendre % = [(M1-M2) x 100]/P (AOAC, 2000).

Avec :

M_1: Masse «creuset + prise d'essai» (en g)

M_2: Masse «creuset + cendres» (en g)

P: Masse de la prise d'essai (en g)

- **Détermination de la teneur en éléments minéraux par spectrométrie d'absorption atomique**

C'est une méthode de dosage d'éléments chimiques fondée sur l'absorption de radiations en phase vapeur **(Pinta et *al.*, 1971)**.

Après avoir dissout les cendres dans 1 ml d'acide chlorhydrique, 10 ml d'eau distillée ont été ajoutés avec précaution. Un chauffage de quelques minutes au bain-marie (Memmert) bouillant jusqu'à dissolution complète des cendres a été effectué, ensuite la solution a été versée quantitativement dans une fiole jaugée de 100 ml et complétée à 100 ml avec de l'eau distillée. A partir de cette solution nous avons opté pour la quantification, par spectrophotométrie d'absorption atomique (Shimadzu) des éléments minéraux suivants: le zinc (Zn), cadmium (Cd), plomb (Pb) **(Trachi, 2015).**

III.3.1.3. Détermination de la teneur en fibre brute

Une quantité 0.2g du broyat de lichen a été mélangée avec 20 ml d'acide formique à 80% dans un flacon. Le tout est porté à ébullition pendant 75minutes dans le bain marie (Memmert). Le mélange est filtré et les résidus de la filtration sont récupères dans un creuset. Ce dernier est porté au four à moufle jusqu'à ce que le poids devienne constant.

Le pourcentage en fibres (F%) est calculé selon la formule suivante :

(F%) = (P1-P2/P0.100)

Avec :

P0 : 0.2g de poudre

P1 : le poids de creuset avant incinération

P2 : le poids de creuset après incinération

III.3.1.4. Détermination de la teneur en pectine

Le procédé d'extraction est basé sur l'hydrolyse en milieuacide suivi d'une filtration et précipitation dans de l'alcool tel que le 2-propanol**(Rezzoug, 2009).**

Une quantité de 5 g dubroyatde lichen est mise dans un flacon contentent 100ml d'acide chlorhydrique (HCL 0.1N), puis portée à ébullition à 90C° pendant 45 min. Le mélange obtenue à été plongé dans l'eau froid a fin d'arrêter le processus d'hydrolyse. Un volume du surnageant récupéré après filtration a été précipité avec 2 volume d'alcool (éthanol). Le précipitée est lavé par un volume d'alcool à 6.6 % puis centrifugée à 6000t/30min **(Rezzoug, 2009).**

Les pectines obtenues sont séchées à 45 C° jusqu'à stabilisation du poids **(Constenla et *al*., 2002).**

Le rendement de l'extraction est calculé selon la formule suivante **(Hosseini et *al*., 2016).**

Rendement % = poids de la pectine après séchage (g) / poids de la prise d'essai (échantillon) (g) x 100

III.3.1.5. Détermination de la teneur en protéines (méthode de Kjeldahl)

Le principe de la méthode est basé sur la transformation de l'azote organique en sulfate d'ammonium sous l'action de l'acide sulfurique en présence d'un catalyseur, et doser après déplacement en milieu alcalin et distillation sous forme d'ammonium.

- **Minéralisation** : dans un matras de l'appareil Kjeldahl, on introduit lg du broyat de lichen,2 g de catalyseur (mélanger 20g sulfate de cuivre et de potassium), 15ml de H_2S0_4 concentré à 97%. Le matras est ensuite chauffé jusqu'à ce que la couleur noire se transforme en une couleur limpide, à ce moment l'azote organique est transformé en azote minéral. L'échantillon minéralisé est laissé refroidir puis transféré dans une fiole en ajustant le volume jusqu'à 100 ml.
- **Distillation** : dans un matras, 10 ml du contenu de la fiole additionné de 20 ml d'eau distillée et 30ml de la soude à 35%ont été introduit. En parallèle, une solution d'acide borique à 0,l N avec 10 gouttes d'indicateur de TASHIRO (de couleur rose violette en présence d'un milieu acide et vert dans le cas d'un milieu alcalin) a été préparée.
- **Titration** : l'acide borique est utilisé comme solution de récupération. L'excès des anions de borate est ensuite titré avec la solution d'acide sulfurique (0,l N) jusqu'au changement de la coloration du vert au rose-violet dû au virage de l'indicateur de TASHIRO.

L'azote total est calculé suivant la formule représentée ci-dessous :

$$\textbf{Azote totale (N) (\%)} = \frac{(Ve - Vb) \times N \times 1.4}{M}$$

Ve: volume de H_2S0_4 nécessaire pour titrer la solution de l'échantillon (ml)

V b: volume de H_2S0_4 nécessaire pour titrer le blanc (0 ml)

M: masse en grammes de l'échantillon

N: normalité de H_2S0_4.

Le taux d'azote total est converti en taux de protéines brutes selon la formule suivante :

Taux de protéines brutes (%)= N total (%) x 6.25

6.25: est le facteur de conversion basé sur le taux moyen d'azote des protéines.

III.3.1.6. Détermination de la teneur en lipides

Le principe de la méthode est basé sur l'extraction des lipides de la poudre de lichen par de l'éther du pétrole au moyen de l'appareil de Soxhlet **(Trachi, 2015).**

Une quantité d'environ 20g du poudre de lichen a été introduite dans une cartouche de papier filtre puis placée dans l'appareil de Soxhlet. Un volume de 200 ml de l'éther de pétrole est versé dans le ballon et 50 ml dans l'extracteur. Le ballon a été chauffé pendant 4 heures jusqu' à l'épuisement de la matière grasse. Apres élimination du solvant d'extraction par rota vapeur, le poids du le ballon avec le résidu est reporté.

La teneur en lipides (MG) est obtenue par la formule suivant :

MG(%) = (P2-P1/ P3) x 100

Avec :

MG% : pourcentage de la matière grasse

Pl : poids du ballon vide (g)

P2 : poids du ballon avec les résidus (g)

P3 : masse de la prise d'essai (g)

- **Détermination du profil en acide gras par CPG/SM**

Pour préparés les esters méthyliques, un volume de 2 ml de matière grasse récupérée par soxhlet et reconstituée dans l´heptane a été placée dans un tube avec un bouchon à vis pins. Un volume correspond à 0,8 ml de NaOH a 2 mol \l dans du méthanol a été ajouté au contenu du tube, porter au bain marie, agiter puis additionner 0,8 ml de HCl à 2 mol\l. Après une nouvelle agitation, ce mélange a été transvasé dans un petit tube en verre et laissé dans un endroit pour décanter. Un volume de 100 µl de la phase supérieure a été relevé, placé dans un tube en verre et

évaporé en milieu ventilé. Le contenu du tube a été repris dans 50 µl d´heptane **(Karleskind, 1992)**.

Un microlitre du mélange d'esters méthyliques a été analysé sur un chromatogramme en phase gazeuse associé à un Spectrophotomètre de Masse (Appareil: GC/MS Shimadzo QP 2010) avec une colonne capillaire (30 m × 0,32 mm ; l'épaisseur du film 0,25 m) fonctionnant à 200◦C. La température de l'injecteur a été maintenue à 250◦C. Le gaz porteur était l'hélium. Les spectres de la masse ont été enregistrés à 70 eV d'énergie électronique. L'identification des composants a été basée sur la comparaison de leurs spectres de masse avec ceux des Bibliothèques NIST. Le pourcentage de chaque composé au sein de l'échantillon est déterminé à partir des aires des pics.

III.3.2. Analyses physicochimiques

III.3.2.1. Détermination du pH

Le pH donne une indication sur l'acidité ou l'alcalinité du milieu, il est déterminé à partir de la quantité d'ions d'hydrogènes libres contenue dans le produit **(Audigie et *al.*, 1984).**

La mesure du pH consiste à plonger l'électrode du pH mètre (Hanna instruments) dans l'échantillon (2 grammes du broyat de lichen ont été mélangés avec 20 ml de l'eau distillée) **(Lackovicova et *al.*, 2013).** En parallèle, un deuxième échantillon a été préparé dans les mêmes conditions et avec un chauffage au bain marie pendant 1h à 70°C, puis mesure du pH après refroidissement.

III.3.2.2. Détermination de l'acidité titrable totale

Les mêmes solutions utilisées pour la mesure du pH ont été centrifugées à 3000t/5min. Un volume de 10 ml du surnagent récupéré ont été additionnés de quelques gouttes de phénolphtaléine puis titrés avec une solution de NaOH (0,1 N) **(Tiencheu et *al.*, 2021)**.

L'acidité est déterminée comme suit :

$$\textbf{Acidité (A\%)} = \frac{V \times N \times 40}{10 \times m}$$

Avec :

40: Masse molaire, exprimée en grammes par mole de (NaOH)

N : Normalité de la solution d'hydroxyde de sodium (0.1 N)

V : Volume de la solution d'hydroxyde de sodium utilisé pour titrer l'échantillon

m : Masse de la prise d'essai en gramme

III.3.2.3. Conductivité électrique

La conductivité électrique est la mesure de la concentration ionique des différents éléments minéraux, présents dans une solution aqueuse. Elle est déterminée par conductimètre **(M'Sadak et *al.*, 2012) .**

Une quantité de 2g du broyatde lichen a été mélangée avec 20ml d'eau distillée. Après homogénéisation, l'électrode de conductimètre est plongée dans la solution. La lecture se fait directement sur l'afficheur du conductimètre (Hanna instruments).

III.3.2.4. Dosage de la vitamine C

Dans un Erlenmeyer, un volume du filtrat (5g du broyatde lichen+ 50 ml d'eau distillée) est additionné de 5ml de l'acide sulfurique (H_2SO_4) (2M).Après 30min de l'agitation, 1ml de l'empois d'amidon (0,1 %) à été ajouté au mélange.Le point final de la titrationavec la solution de diiode (50mM)est identifié comme première trace permanente d'une couleur violet foncée due au complexe d'amidon-iode **(Krishna Murty et Rama Rao, 1979).**

La teneur en vitamine C, exprimée en g/l, est calculée par la formule suivante :

$$[\text{vit C}] = (T.\ V.176) / 2\ E$$

Avec :

T: Titre de la solution de diiode (50mM).

V : Volume de la solution de diiode utilisé.

E : Prise d'essai (volume du filtrat en ml).

176 : le poids moléculaire de l'acide ascorbique (g/mol).

III.3.2.5. Détermination qualitative et quantitative des sucres

- **Détermination des sucres réducteurs**

La solution a été observée pour une réaction colorée en rouge brique **(Ayoola et *al.*, 2008)**.

Dans un tube à essai contenant un mélange de 0,5 g du broyat de lichen et 5 ml de l'eau distillée a été additionné de 1 ml de la solution bouillante de Fehling A et 1 ml de la solution bouillante de Fehling B. Un blanc a été également préparé (tous les réactifs sans broyat de lichen).

- **Détermination des glycosides**

La présence d'un précipité brun rougeâtre a été pris comme positif pour les glycosides **(Banso et Adeyemo, 2006).** Une quantité de 1 g de la poudre de lichen a été introduite dans deux flacon chacun. A l'un des flacons a été ajouté 5 ml de l'acide sulfurique pour l'un des

flacons, et 5 ml de l'eau distillée pour l'autre flacon. Après un chauffage de 3 minutes, le contenus des flacons a été filtré, le filtrat obtenu a été rendu alcalin avec de l'hydroxyde de sodium (0,5 ml) et laissé au repos pendant trois minutes. Un blanc a été également préparé (tous les réactifs sans poudre).

- **Dosage des sucres totaux**

Un volume de 2 ml du filtrat (5g du broyatde lichen+ 50 ml d'eau distillée) sont mis dans un tube à essai avec 1ml de phénol (à 5% dans l'eau). 5 ml de H_2S0_4 sont ajoutés rapidement sans les faire couler le long des parois et le mélange est agité immédiatement. Une coloration jaune se développe, stable durant plusieurs heures. Les tubes sont placés au bain-marie à 25-30°C pendant 20 minutes puis refroidis sous eau à 20°C. L'absorbance est mesuré à 485 nm. Les teneurs sont déterminées en référence à une courbed'étalonnage de glucose(Annexe 1) **(Feller et *al.*, 1991)**.

III.4. Analyses phytochimique

III.4.1. Détermination qualitatives

III.4.1.1. Test pour les saponines

La mise en évidence des saponines est basée sur la formation de la mousse en solution aqueuse **(Sofowora, 2010)**.

La détermination des saponines consiste à mélanger 5g debroyat dans un tube à essai contenant 3 ml d'eau distillée chaude, suivi d'une agitation vigoureuse continue (1 min). (leblanc contient uniquement de l'eau distillée chaude).

III.4.1.2. Test pour les tannins

Les tannins en solution peuvent être décelés à l'aide de réaction qualitatif simple : avec le chlorure de fer, tous les tannins donnent un précipité de coloration foncée (bleu-noir ou bleu-vert) **(Doat, 1978)**.

Une quantité de 0.5g du broyat de lichen a été agité séparément avec 10 ml d'eau distillée, le mélange a été centrifugée à 3000t /5min. Deux gouttes de réactif chlorure de fer (III) ($FeCl3$) à 5 % a été ajoutée au surnagent. (Le blanc contient uniquement de l'eau distillée etdeux gouttes de réactif).

III.4.1.3. Test pour les alcaloïdes (Test de Wagner)

L'apparition d'un précipité brun rougeâtre signifie l'existence d'alcaloïdes et un résultat positif au test de Wagner **(Jha et *al.*, 2012).**

Une quantité de0.5g du broyat de lichen a été agitée avec 0,4 ml de HCl à 1 % dans un bain-marie pendant 5 min puis filtré. Deux gramme d'iodure de potassium et 1,27 d'iode ont été dissous dans 5 ml d'eau distillée et la solution a été diluée à 100 ml avec de l'eau distillée. Deux gouttes de cette solution d'iode ont été ajoutées au filtrat. (Le blanc contient uniquement de l'eau distillée et deux gouttes de la solution d'iode) **(Tiencheu et *al.*, 2021)**.

III.4.1.4. Test pour les flavonoïdes (Test de Cyanidine)

La présence de flavonoïdes dans les différents extraits a été mise en évidence par la réaction à la cyanidine. En effet, les flavonoïdes sont responsables d'un dégagement d'hydrogène et de l'apparition d'une coloration allant de l'orangé au rouge brique **(SouleyKallo et *al.*, 2018**).

Une quantité de 0,5 g du broyat de lichen a été mélangé avec 2 ml de méthanol et 1 ml de solution d'acide sulfurique concentrée. A l'aide d'une spatule, une poudre de chlorure de magnésium ($MgCl_2$) a été ajoutée, le résultat est observé après une 1 min. (Le blanc contient uniquement l'ensemble des réactifs) **(Tiencheuet *al.*, 2021)**.

III.4.1.5. Test de terpénoïdes (Test de Salkowski)

Les terpénoïdes ont été déterminé par le test de Salkowski qui donne un résultat positif représenté par une couche avec coloration brun rougeâtre de qui confirme la présence de terpénoïdes**(Animech et Dipankar, 2017).**

Un volume de 2 ml de chloroforme et 3ml de H_2S0_4 concentré ont été ajoutés à 0,5g du broyat de lichen.(Le blanc contient uniquement l'ensemble des réactifs)**(Ayoola et *al.*, 2008)**.

III.4.2. Détermination quantitatives

III.4.2.1. Détermination de la teneur en polyphénols

Les polyphénols totaux sont dosés par le suivi de leur capacité à réduire les acides phosphotungstiques et phosphomolybdiques, contenus dans le réactif de Folin-Ciocalteu en oxydes de tungstène et molybdène (W8O23 et Mo8O23). Ces derniers présentent une coloration bleutée mesurée à 760 nm proportionnelle à la quantité des polyphénols présents dans les échantillons **(Singleton et *al.*, 1999).**

La teneur en composés phénoliques totaux des extraits méthanoliques de lichen est estimée par la méthode décrite par (**Turkmen et *al.*, 2006).**

Un millilitre de l'extrait méthanoliques de lichen (0.6 mg/ml) dilué 10 fois avec du l'eau distillée a été additionné de 1 ml de Réactif Folin-Ciocalteu dilué 3 fois, 2ml de la solution de

carbonate de sodium à 35% est ajoutés au mélange, bien agiter et diluer à 6 ml en ajoutant 2 ml d'eau distillée.

Le mélange est incubé pendant 30 min à l'abri de la lumière, la couleur bleue formée est mesurée à 700 nm en utilisant un spectrophotomètre (Analytikjena, Specord 50 plus). Une courbe d'étalonnage de l'acide gallique (allant de 0,005 à 0,05 mg / ml) a été préparée.

Les résultats ont été déterminés à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage, et qui sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique (EAG) par 100 gramme de poudre de lichen (annexe 1) **(Turkmen et *al*., 2006)**.

III.4.2.2. Détermination des pro-anthocyanidines

La méthode suivie est celle décrite par (**Maksimovic et *al*., 2005)**. Des aliquotes de 0,5 ml des extraits méthanoliques de lichen (30 mg/ml) préparés ont été transférés dans des tubes. Après addition de 3,0 ml de réactif butanol-HCl (butanol: HCl, 95: 5; V / V) et 0,1 ml de réactif ferrique à 2% (2% de sulfate d'ammonium ferrique dans 2M HCl), les tubes à essai ont été mélangés à l'aide d'un vortex etmis au bain-marie bouillant pendant 60 min. Après refroidissement, les absorbances sont mesurées à 550 nm en utilisant un blanc contenant 0,5 ml de méthanol au lieu des extraits méthanoliques de lichen.

Les concentrations en pro-anthocyanidines sont exprimées en mg/100 g de poudre de lichen en appliquant la formule suivante **(Hatipoglu et *al*., 2013)**:

$$\textbf{Quantité de Pro-anthocyanidine} = \frac{(A550nm)E-(A550nm)B}{\varepsilon \times L} \times (PM) \times (FD) \times 1000$$

Avec :

(A550) E = absorbance de l'échantillon à 550 nm

(A550) B = absorbance du blanc à 550 nm

ε = coefficient d'extinction molaire de cyanidine (17,360M^{-1} cm^{-1})

L = trajet de la cuve (1 cm)

PM = poids moléculaire de cyanidine (287 g mol^{-1})

FD = facteur de dilution (g l^{-1})

1000 = facteur de conversion du gramme en milligramme

جامعة محمد الصديق بن يحيى
مكتبة الكلية
كلية علوم الطبيعة و الحياة

III.4.2.3. Détermination de la teneur en flavonoïdes

La quantité des flavonoïdes contenue dans les extraits est calculée par référence à une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine.

Une aliquote de 1.5 ml des extraits méthanoliques de lichen (0.6 mg/ml) a été additionnée de 1.5ml de trichlorure d'aluminium à 2 %. Après 15 min d'incubation à l'obscurité, l'absorbance est lue au spectrophotomètre à 430 nm.

Les résultats ont été déterminés à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage, et qui sont exprimés en mg équivalent de la quercétine (EC) par 100 gramme de poudre de lichen (annexe 1).

III.5. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques

III.5.1. Capacité antioxydant totale (CAT)

La capacité antioxydant totale (CAT) des extraits est évaluée par la méthode de phospho–molybdène. Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate MoO_4^{-2}à molybdène Mo (V) MoO^{+2} en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/ Mo(V) à pH acide **(Prieto et *al*., 1999).**

Un volume de 0.5 ml de l'extrait méthanoliques de lichen (0.6 mg/ml) est mélangé avec 5 ml de solution du réactif (0.6 M acide sulfurique, 28 mM phosphate de sodium et 4 mM molybdate d'ammonium), Les tubes sont incubés à 95°C pendant 90 min. Après refroidissement, l'absorbance des solutions est mesurée à 695 nm.

Blanc : 5 ml de la solution du réactif et 0.5 ml du méthanol et qui est incubé dans les mêmes conditions que l'extrait méthanoliques de lichen.

La capacité antioxydante totale est exprimée en milligramme équivalent d'acide ascorbique par cent gramme de poudre de lichen (mg EAA/100g)

III.5.2. Pouvoir réducteur de Fer des extraits méthanoliques (PRF)

Ce pouvoir mesure la capacité d'un antioxydant à réduire le fer ferrique Fe^{3+} ($FeCl_3$) en fer ferreux Fe^{2+} ($FeCl_2$) en présence d'un agent chromogène ferricyanure de potassium $K_3[Fe(CN)_6]$. Ceci se traduit par le virage de la couleur de ferricyanure de potassium vers une couleur bleu verte dont l'intensité dépend du pouvoir réducteur de l'antioxydant **(Chou et *al*. 2003)**.

La méthode appliquée est celle préconisée par **(Gülçin et *al*., 2002).** Un ml d'extrait méthanoliques de lichen (0.6 mg/ml) est mélangées avec 2.5 ml de la solution tampon phosphate (0.2 M, pH 6.6) et 2.5 ml de ferricyanure de potassium $[K_3Fe(CN)_6]$ (1%). Les mélanges sont incubés à 50°C pendant 20 min puis additionné de 2.5 ml de l'acide trichloracétique (10%). Le

tout est centrifugé à 3000 tr/10min. Enfin, 2.5 ml du surnageant de l'extrait est mélangé avec 2.5 ml de l'eau distillée et 0.5 ml de $FeCl_3$, 6 H_2O (0.1%). L'absorbance est mesurée à 700 nm.

La concentration des composés réducteurs (antioxydants) dans l'extrait est exprimée en milligramme Equivalent Acide Ascorbique par cent gramme de poudre de lichen (mg EAA/100g) (annexe 1).

III.5.3. Activité anti-radicalaire (DPPH Scavenging Activity)

Le principe de ce test se résume dans la capacité de l'extrait à réduire le radical libre DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) qui se traduit par la transformation de la couleur violette foncée à une couleur jaunâtre (après réduction).Cette décoloration est mesurée par spectrophotométrie.

Un volume 50 µl de l'extrait méthanoliques de lichen (3 mg/ml) est ajouté à 5 ml de la solution méthanolique du DPPH (0,004%). Après une incubation à l'obscurité pendant 30 min à 25°C, la lecture des absorbances est effectuée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre **(Marouane et *al.*, 2014).**

Le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH est calculé par la formule suivante :

$$\mathbf{I\,\%} = [(\mathbf{Ablanc} - \mathbf{AEchantillon}) \,/\, \mathbf{Ablanc}]\ \mathbf{x100}$$

Les résultats ont été déterminés à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage, et qui sont exprimés en mg Equivalent d'Acide Ascorbique (EAA) par 100 gramme de poudre de lichen (annexe 1)

III.6. Etude de l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques de poudre de lichen

III.6.1. Souches bactériennes utilisées

Le test a été effectué sur trois souches bactériennes incluant *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicillineATCC43300, *Escherichia coli* ATCC25922 et *Pseudomonas aeruginosa*ATCC27853.es souches appartiennent à la collection du Laboratoire d'Ecologie Microbienne de l'Université de Béjaia.

III.6.2. Etude de l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques sur milieu solide

L'activité antibactérienne des extraits méthanolique de lichen a été testée selon la méthode sur milieu solide par diffusion sur gélose Mueller Hinton.

La gélose Mueller-Hinton (MH) a été coulée dans des boites de Pétri avec une épaisseur de 4mm. Les boites ont été ensuite séchées à 37°C pendant 20min afin d'éliminer l'excès

d'humidité. L'inoculum bactériens ont été ajustés jusqu'à obtenir une DO de 0,6 à 580 nm (correspondant à environ 10^8UFC/ml) puis ensemencés par écouvillonnage.

Après ensemencement de la souche à tester, des disques de papier Whatman N°1 (06mm de diamètre). Par la suite, 10 µl des extraits méthanoliques lichen et 10 µl de pénicilline (30mg/ml) ont été déposés sur chaque disque. Les boites ont été laissées à 4°C pendant 2 h, puis incubées à 37°C pendant 24 heures. Les diamètres des zones d'inhibition autour des disques ont été mesurés **(Bekka-Hadji, et *al.*, 2016)**.

III.6.3. Etude de l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques en milieu liquide

Les Concentrations Minimales Inhibitrices (CMIs) des extraits méthanoliques de lichen ont été déterminées selon la méthode de micro-dilution en Bouillon MH avec quelques modifications **(Vardar-Unlu et *al.*, 2003)**.

Les gammes des extraits méthanoliques comprises entre 0.015 et 15mg/ml ont été réalisées en microplaque de 96 puits à fond rond.

Les souches testées issues de culture fraiche ont été ensemencées dans du bouillon MH. Enfin chaque puits a été inoculé par la suspension bactérienne (charge finale de 10^7 UFC/ml). Après 24 h d'incubation à 37 °C, la CMI correspond à la concentration en extraits méthanoliques du premier puits ne présentant aucune croissance bactérienne.

III.7. Etude statistique

Les moyennes et les écarts-types ont été calculés à l'aide de Microsoft Office Excel 2007. Toutes les mesures ont été reproduites deux fois et les données ont été présentées sous forme de moyenne ± écart-type.

Les différences significatives entre les différents paramètres ont été déterminées par le test ANOVA en utilisant le logiciel Statistica.

Chapitre IV : Résultats et Discussion

IV.1. Résultats de la détermination de la composition approximative des broyats du lichen

La figure ci-dessous représente la composition approximative (%) de différents constituants d'une espèce de lichen de deux provenances : Sahra et Sétif.

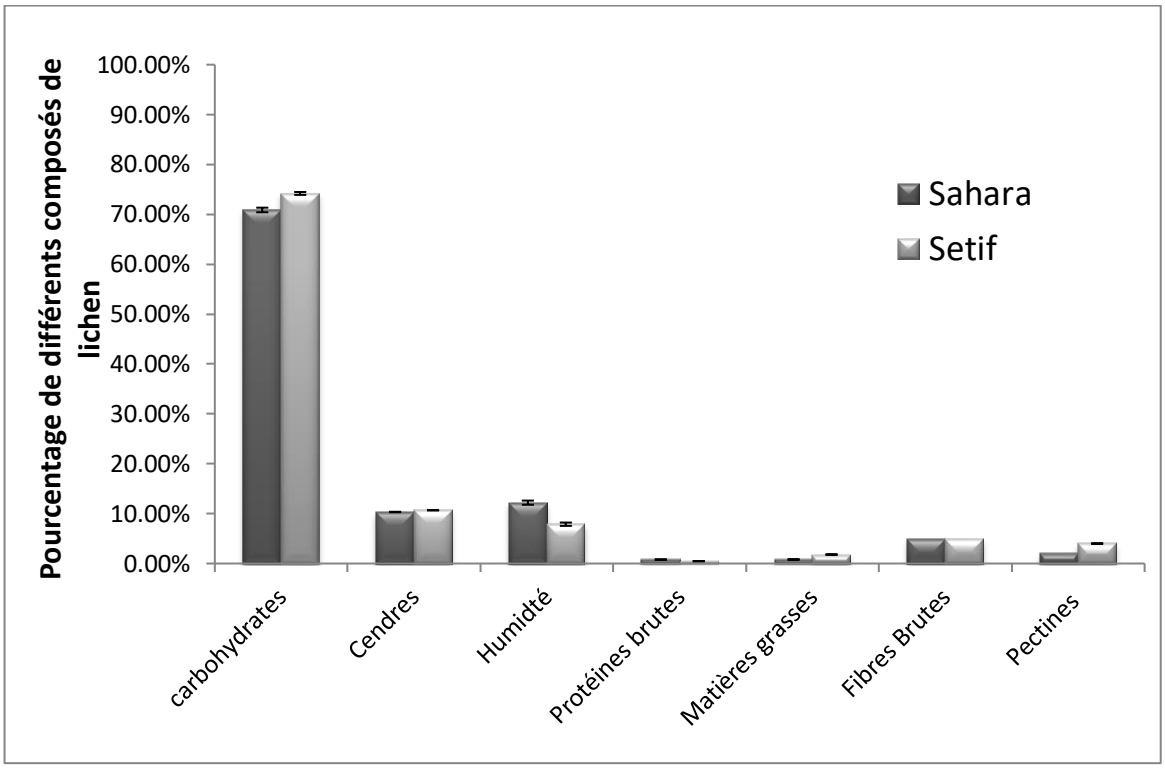


Fig. 8 : Composition approximative (%) de différents constituants d'*Evernia Prunastri* de deux provenances : Sahra et Sétif

IV.1.1. Résultats de la détermination de la teneur en eau et en matières volatiles

La teneur en eau et en matières volatiles, sont de 12.20 % et 7.88 % pour les broyats de lichen de Sahara et Sétif respectivement. Ces teneurs montrent des différences significatives pour les deux échantillons.

Les données rapportées par **Zhao et *al.* (2021)**, indiquent des teneurs en humidité variant de 8,86-16%) pour les lichens étudiés (*Ramalina conduplicans, Parmotrema tinctorum, Parmotrema pseudotinctorum, Ramalina hossei*s). Ce qui correspond a nos résultats.

IV.1.2. Résultats de la détermination du taux de cendres

Les cendres sont des résidus inorganiques d'un produit après que la matière organique a été enlevée en la brûlant à des températures très élevées. Les cendres peuvent contenir une variété de composés inorganiques, y compris sodium (Na), potassium (K), calcium (Ca),...La détermination

du contenu en cendres peut être importante pour plusieurs raisons. Il fait partie de l'analyse proximale pour l'évaluation nutritionnelle **(Colomban et Tournié, 2010)**.

La teneur en cendres pour lichen de Sahara est 10.33% et de 10.68 % pour celui de Sétif (fig.8), ce qui montrent des valeurs presque similaires.

Zhao et *al.* (2021), ont rapporté des teneurs en cendres variant de 4,01-12,1%) pour les lichens étudiés (*Ramalina conduplicans, Parmotrema tinctorum, Parmotrema pseudotinctorum, Ramalina hossei*s). Ce qui correspond a nos résultats.

- **Résultats de la détermination de la teneur en éléments minéraux (métaux lourds) par spectrométrie d'absorption atomique**

D'après la figure 9, la teneur en métaux lourds (Zn, Pb, Cd) de lichen de Sahara est plus élevée que celle de Sétif.

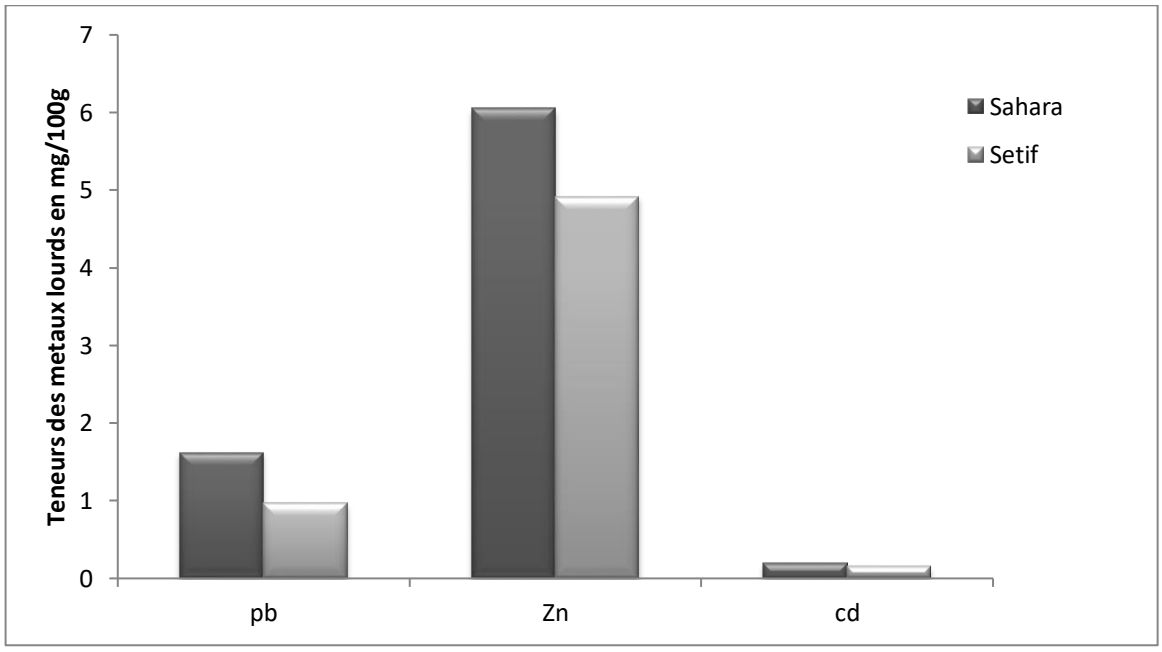


Fig. 9 : La teneur en éléments minéraux (métaux lourds) d'*Evernia Prunastri* de deux provenances : Sahra et Sétif

Les teneurs des métaux lourd (Zn, Pb et Cd) trouvée dans le lichen de Sahara est supérieures a celle de Sétif.

D'apres **Zhao et *al.* (2021)**, les teneurs en Zn varient de 2,2 a 8,34 mg/100g pour les lichens étudiés (*Ramalina conduplicans, Parmotrema tinctorum, Parmotrema pseudotinctorum, Ramalina hossei, Cetraria islandica, Everniastrum cirrhatum, Usnea pictoides, Lobaria orientalisn, Letharillac Ladonioides* et *Thamnolia vermiculars*). De même, **Stamenković et *al.* (2013)**, ont trouvé des teneurs en Zn de 6,6 mg/100g (*Evernia prunastri* de Cerjé) et 3,03 6,59

mg/100g (*Evernia prunastri* de Donje Vlase) de la Serbie. Pour le Pb, les teneurs obtenus sont de 0,12 et 0,14 mg/100g pour *Evernia prunastri* de Cerjé et *Evernia prunastri* de Donje Vlase respectivement. Cependant, le Cd n'a pas été détecté pour ces mêmes espèces. En comparaison avec ces résultats, nous constatons que les teneurs en Zn de nos lichens (Sahara et Sétif) sont en concordance et les teneurs en Pb et Cd en sont les plus élevées.

IV.1.3. Résultats de la détermination de la teneur en fibre brute

Les fibres sont des polymères glucidiques d'origine végétale, associées ou non à la lignine ou à d'autres constituants non glucidiques (polyphénols, saponines...) (**AFSSA, 2002)**.

Bien que les fibres n'aient pratiquement aucune valeur nutritionnelle, elles peuvent avoir des effets bénéfiques sur la santé intestinale. L'augmentation de l'apport en fibres alimentaires peut également réduire le risque de certaines maladies chroniques, telles que le diabète l'obésité, les maladies cardiovasculaires **(Zhao et *al.*, 2021)**.

La figure (8), montre que les teneurs en fibres brutes de l'espèce de lichen (*Evernia prunastri)* de Sahara et Sétif sont similaires (5%). Ce qui correspond aux résultats rapportés par **Zhao et *al.* (2021)**, et qui varient de 5,386-16,36 % et ce pour l'ensemble des lichens étudiées (*Ramalina conduplicans, Parmotrema tinctorum, Parmotrema pseudotinctorum, Ramalina hosseis*).

IV.1.4. Résultats de la détermination de la teneur en pectine

La pectine est un mélange complexe des polysaccharides se produisant dans les parois cellulaires primaires des plantes terrestres. De point de vue nutritionnel les pectines sont considérées comme des fibres solubles ayant une forte capacité de rétention d'eau. Plusieurs effets bénéfiques pour la santé ont été rapportées concernant l'élimination des métaux lourds et la diminution du taux de cholestérol plasmatique **(Olano-Martin et *al.*, 2002 ; Doukani et Tabak, 2014)**.

La pectine est utilisée dans de nombreuses préparations alimentaires en tant qu'agent gélifiant dans les confitures et gelées, comme épaississant et émulsifiant dans les produits lactés. La pectine est aussi utilisée en pharmacie et dans les produits cosmétiques pour ses capacités gélifiantes **(Rezzoug et *al.*, 2007)**.

D'après les résultats de la figure 8, les teneurs en pectine sont de 2% pour le lichen de Sahara et 4% pour le lichen de Sétif.

En comparant les deux régions de lichen, il ressort que le lichen de Sétif est plus riche en pectine par rapport au lichen de Sahara.

IV.1.5. Résultats de la détermination de la teneur en protéines

Les protéines sont indispensables à l'homme pour la production de leurs propres tissus et pour la synthèse de composants ayant une activité biologique vitale (hormones, enzymes,...). Les protéines sont à la base de la chaine alimentaire et entrent dans l'alimentation de l'homme en fonction de leur régime alimentaire **(Guéguena et *al.*, 2016)**.

Les résultats obtenus dans notre étude expérimentale sont illustrés dans la figure 8. Nous remarquons que le lichen présente un taux très faibles en protéines brutes qui est de 0,79 % pour le lichen de Sahara et de 0,44 % pour le lichen de Sétif.

D'après **Zhao et *al.* (2021)**, les compositions approximatives des lichens comestibles (*Ramalina conduplicans, Parmotrema tinctorum, Parmotrema pseudotinctorum* et *Ramalina hossei*). La teneur des lichens en protéines est relativement faible et varie de 5,95 à 16,2 %. Nos résultats se révèlent encore plus faibles.

IV.1.6. Résultats de la détermination de la teneur en lipides

Les lipides sont des constituants nutritionnels importants et jouent un rôle de réserve dans les cellules végétales spécialement au niveau des membranes **(Kader et *al.*, 2013)**.

Les résultats obtenus (fig. 8), montrent que le lichen de Sétif est plus riche en termes de lipide (1,80 %) par rapport au lichen de Sahara (0,80%).

D'après **Zhao et *al.* (2021)**, la teneur des lichens (*Ramalina conduplicans, Parmotrema tinctorum, Parmotrema pseudotinctorum* et *Ramalina hossei*) en lipides est relativement faible et varie de 1,3 - 6,5 %. Nos résultats se révèlent encore plus faibles pour le lichen de Sahara, et compris dans la gamme pour le lichen de Setif.

D'après nos résultats, les teneurs en lipides des lichens de Sétif et Sahara sont inferieures à celles trouvées par **Dertien et *al.* (1977)**, pour l'espèce *Evernia prunastri* et qui est de 28%.

- **Détermination du profil en acide gras par CPG/SM**

Le chromatogramme obtenu pour le lichen de Sétif révèle la présence de quatre pics (1, 2, 3, 4) et qui corresponds au Diisooctylphthalate (40.83%), a l'acide palmitique (38.21%), a l'acide linoléique (14.94%) et acide oléique (6.02%). Cependant, pour le lichen de Sahra plusieurs pics (23 pics) ont été identifiés et ne sont retenus que ceux présentant un pourcentage supérieurs ou égale à 1% (7 pics); acide linoléique (28.30%) ; Diisooctylphthalate (26.82%) ; acide oléique (17.15%) ; acide palmitique (12.28%) ; trans-2- acide oléique (5.23%) ; acide phthalique (3.42%) ; phytol (1.31%) (Annexes 3). Les acides gras majeurs se sont révélés les même, mais avec des pourcentages différents.

Dertien et al. (1977), ont remarqué que la fraction lipidique d'*Evernia prunastri* est caractérisée par une dominance d'acide palmitique, d'acide linolénique et d'acide oléique.

Ces auteurs indiquent que l'espèce *Evernia prunastri* est capable de résister a des hautes (58 °C) et basses (-5 °C) températures. En effet, les graisses et les acides gras sont nécessaire pour le lichen afin de s'adapté aux conditions défavorables.

IV.1.7. Résultats de la détermination de la teneur en carbohydrates

La teneur en glucides a été déterminée mathématiquement par soustractions de 100 %, le pourcentage d'humidité, de cendres, de protéines, de graisses et de fibres brutes.

% de carbohydrates = 100 - (% d'humidité + % de cendres + % de protéines + % de matières grasses + fibres brutes) (Tiencheu et *al.*, 2021).

La figure 8, représente les résultats obtenus pour les carbohydrates de lichen (*Evernia prunastri*) ; Sahara et Sétif.

La teneur des carbohydrates pour le lichen de Sahara est de 70,88 % et pour le lichen de Sétif, elle est 74.19 %. En comparant les lichens de deux régions, il ressort que la teneur des carbohydrates du lichen de Sétif est supérieure par rapport à celle de Sahara. Ces teneurs sont en concordances avec celles rapportées par **Zhao et *al.* (2021)** pour l'ensemble de lichens étudiés (*Ramalina conduplicans, Parmotrema tinctorum, Parmotrema pseudotinctorum, Ramalina hossei, Cetraria islandica*) et qui varient de 53,2-79,08%.

Les constituants membranaires sont différents pour l'algue et le champignon. Ce sont essentiellement la cellulose externe doublée par une couche interne de callose (un glucane constitué de résidus de glucose unis par des liaisons osidiques β(1→3) avec des ramifications β(1→6)) pour les algues. La membrane des hyphes de champignon est caractérisée par l'absence de cellulose et la présence constante de callose et de chitine. D'autres substances voisines des hémicelluloses ont été observées ainsi que des substances groupées sous le nom de lichénines de formule brute $(C_6H_{10}O_6)n$ (polymère de glucose) **(Coste, 2008)**.

IV.2. Résultats des analyses physicochimiques des broyats du lichen

IV.2.1. Résultats de la détermination du pH et de l'acidité titrable totale

Le pH est un paramètre dont la valeur caractérise l'acidité ou la basicité d'un milieu aqueux **(Bardez, 2010)**.

L'acidité titrable nous renseigne sur la quantité en acides organiques présentant dans l'échantillon. Sa connaissance est importante dont la mesure conditionne un grand nombre d'équilibres physico-chimiques et bactériologique. Les acides organiques sont, en général des intermédiaires des processus métaboliques, ils influencent la croissance des micro-organismes et affectent la qualité de conservation des produits **(Doukani et Tabak, 2014)**.

Bien que l'augmentation de l'acidité titrable reflète une diminution du pH, l'acidité titrable détermine le goût acide d'un produit, tandis que le pH détermine sa sensibilité aux microbes **(Tiencheu et *al.*, 2021)**.

Tableau I : Acidité et pH d'*Evernia Prunastri*de deux provenances : Sahra et Sétif

pH	a froid	a chaud	Acidité %	a froid	a chaud
Sahra	**6,085 ± 0,035**	**5,325 ± 0,092**		**0,16% ± 0**	**0,16% ± 0**
Setif	**5,535 ± 0,12**	**4,585 ± 0,021**		**0,32% ± 0**	**0,30% ± 0,00023**

Les valeurs de pH à froid et a chaud pour le broyat de lichen de Sahara sont plus élevées que celles du lichen de Sétif. De même, les valeurs de l'acidité titrable à froid et a chaud du lichen de Sétif sont plus élevées. Ce qui montre que le lichen de Sétif est légèrement plus acide.

Cette acidité est due probablement a la présence de quelques acide tels que acide citrique, acide malique, acide oxalique, acide glycérique, acide phospoglycerique, acide succinique, etc. **(Akbulut et Yildiz, 2010)**.

A chaud, les pH des deux lichens ont baissé de 6,085 et 5,535 à 5,325 et 4,585 pour les lichens de Sahara et Sétif respectivement. Cependant l'acidité n'a pas été affectée.

D'après **Akbulut et Yildiz, (2010)**, l'ébullition de lichen *Cetraria islandica* avec de l'eau entraîne la formation de grandes quantités d'un produit gélatineux appelé amidon de mousse ou lichénine qui est composé d'au moins de deux fractions de solubilités différentes : une fraction lichénane insoluble à froid ; mais soluble dans l'eau bouillante (lichénine), et une fraction isolichénine soluble dans l'eau froide. De même, **Turkmen et *al.* (2005)**, montre que le processus de cuisson entraîne un certain nombre de changements des caractéristiques physiques, et composition chimique des végétaux. L'ébullition et la cuisson ont un effet sur l'acide ascorbique, composés phénoliques, lycopène et l'activité antioxydante. D'après ces auteurs, la friture des tomates réduit de manière significative les teneurs en ascorbique, en phénols totaux et en lycopène de tomates. Ce qui peut expliquer la diminution du pH lors d'un chauffage a 70°C de nos échantillons de lichens.

IV.2.2. Conductivité électrique

La conductivité électrique traduit la capacité d'une solution aqueuse à conduire le courant électrique. Elle permet d'apprécier le degré de minéralisation de la solution dans la mesure où la plupart des matières dissoutes dans la solution se trouvent sous forme d'ions charges électriquement **(Hewitt, 2004)**.

Les résultats de la conductivité électrique de nos échantillons étudiés sont illustrés dans la figure 10.

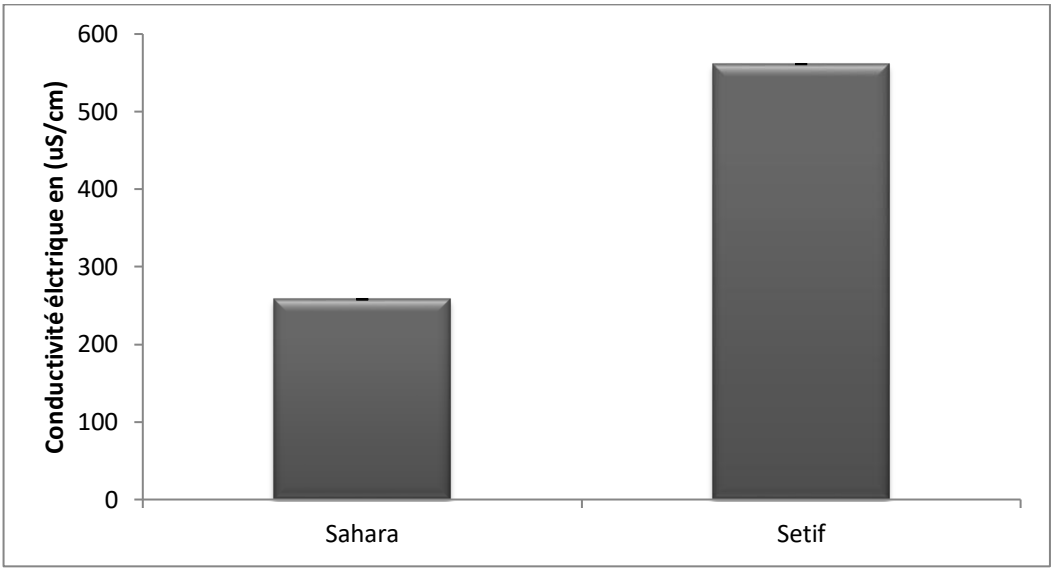


Fig. 10 : Conductivité électrique d'*Evernia Prunastri* de deux provenances : Sahra et Sétif

La conductivité électrique du lichen de Sétif (561.22 µS /cm) est plus importante que celle du lichen de Sahara (258.02µS/cm), ce qui traduit un degré de minéralisation très élevé surtout pou le lichen de Sétif.

IV.2.3. Résultats de dosage de la vitamine C

La vitamine C joue un rôle antioxydant et possède des propriétés biologiques intéressantes. Elle est utilisée non seulement pour enrichir les aliments et éviter les pertes pendant la transformation, mais elle contribue également à la stabilité et à l'apparence du produit. La consommation de la vitamine C a également été rapportée pour améliorer le taux de transformation du cholestérol, pour prévenir les cancers et les troubles associés à un manque de collagène **(Lee et Kader, 2000 ; Tiencheu et *al.*, 2021)**.

Les résultats de la détermination de la teneur en vitamine C de lichen (Sahara et Sétif) sont illustrés dans la figure ci-dessous.

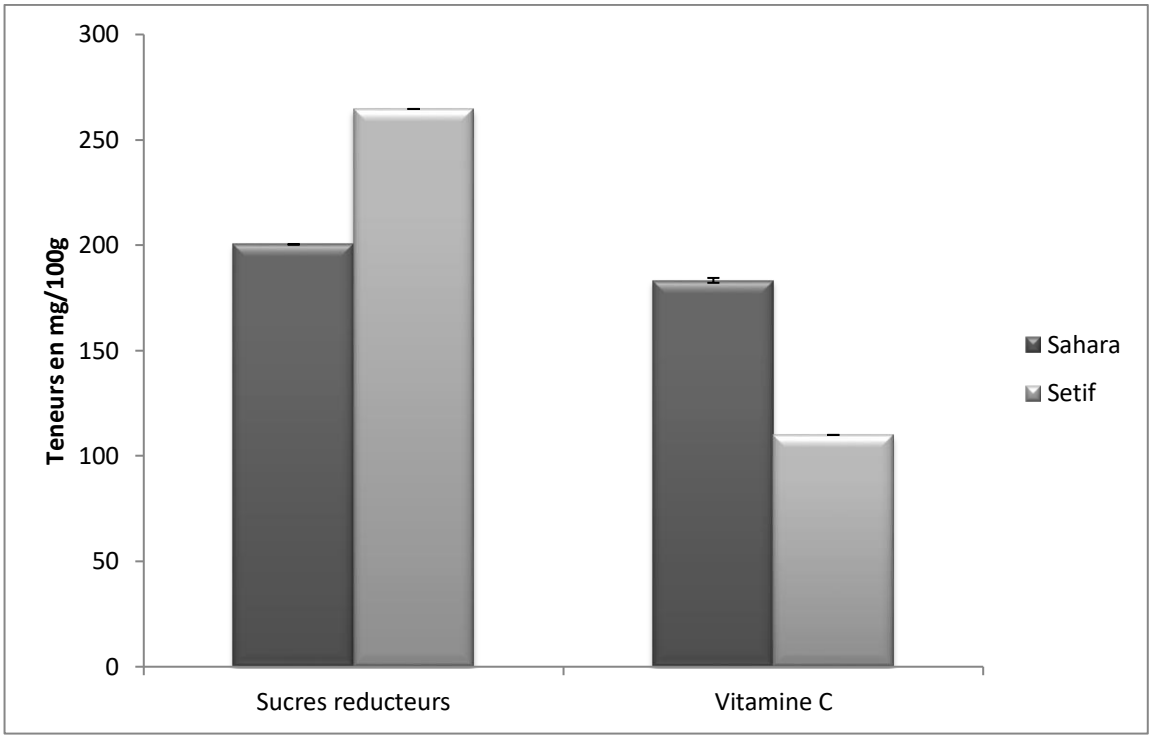


Fig. 11 : Teneurs en vitamines C et sucres réducteurs d'*Evernia Prunastri* de deux provenances : Sahra et Sétif

D'après nos résultats, la teneur en vitamine C dulichen de Sahara (183,33 mg/100g) est plus élevée par rapport à celle de Sétif (110 mg/100g).

L'alimentation est riche en vitamine C, elle est présente dans les fruits frais, les légumes frais, les pommes de terre, les graines germées **(Munnich et *al.*, 1987)**.

La recommandation journalière vitamine C pour un homme adulte, mâle de 70 kg est 110mg/ml, ce qui coïncide avec nos résultats.

IV.2.4. Résultats de la détermination qualitative et quantitative sucres

L'étude qualitative des présences des sucres réducteurs et des glycosides à donner des réactions positives pour ces deux éléments et pour les deux lichens.

- **Dosage des sucres totaux**

En comparant la teneur en sucres réducteurs du lichen de Sahara et Sétif, nous constatons que la teneur la plus importante est obtenue pour le lichen de Sahara et Sétif (264.66mg/100g), suivi par celle de Sahara (200.40mg/100g) (fig. 11).

D'après **Quillet et lestang-laisné, (1967)** la quantité des sucres réducteurs de lichen *Rivularia bullala* est de 40mg /100g.

D'après **Zhao et *al.* (2021)**, les compositions approximatives des lichens comestibles (*Ramalina conduplicans, Parmotrema tinctorum, Parmotrema pseudotinctorum, Ramalina hossei, Cetraria islandica, Everniastrum cirrhatum, Usnea pictoides, Lobaria orientalis, Letharillac Ladonioides, Thamnolia vermiculars*) ont été déterminées par plusieurs études antérieures. Les teneurs en nutriments des différentes variétés de lichens étudiés varient considérablement. Cependant, des différences significatives ont été observées entre les mêmes espèces de lichens cultivées dans différentes régions. Ce qui explique les variations que nous avons trouvées dans l'espèce de lichen appartenant a deux prévenances différentes : Sahra caractérisé par un climat aride et Sétif par un climat semi-aride.

La qualité et/ou la quantité des substances lichéniques varient en réponse aux fluctuations des facteurs environnementaux, tels que la température, les précipitations et les conditions d'intensité du rayonnement solaire. Les lichens sont largement répandus dans une grande variété d'habitats naturels avec une diversité d'environnements et de substrats et soumis à des facteurs stressants tels que les basses températures, l'obscurité prolongée, la sécheresse et la lumière continue. De nombreux travaux ont rapporté que le contenu en métabolites secondaires peut être une clé de la grande plasticité écophysiologique des lichens leur permettant de survivre dans différentes conditions environnementales, y compris des niveaux extrêmes **(Aoussar et *al.*, 2020).**

Le métabolisme de 1'eau des lichens est très différent de celui des plantes vasculaires. Les thalles n'ont pas une balance en eau stable. Ils suivent passivement les variations de l'humidité atmosphérique. Les lichens sont dits poïkilohydriques dont la température corporelle varie avec la température ambiante.

Les lichens peuvent survivre dans des régions très arides par suite de leur propriété d'absorber l'eau atmosphérique; l'absorption de l'eau liquide se fait par capillarité et hygroscopie des parois des hyphes. Les lichens, comme tous les organismes reviviscents, présentent des variations considérables du métabolisme suivant le degré d'hydratation. A l'état sec, ils ont une vie ralentie, mais dès qu'ils sont humidifiés, la photosynthèse et la respiration augmentent très rapidement **(Collombet, 1989)**.

Les lichens sont extrêmement sensibles aux environnements externes. Lorsque la teneur en dioxyde de soufre dans l'air dépasse 30 µg/m3, la croissance des lichens sera affectée de manière négative. Les lichens sont également sensibles au fluorure, à la fumée des véhicules, aux hydrocarbures et à la poussière, et accumulent plus facilement les métaux lourds.

Par conséquent, les lichens sont devenus un indicateur important pour la surveillance de la pollution atmosphérique et l'évaluation de la qualité de l'environnement. la pollution atmosphérique et l'évaluation de la qualité de l'environnement **(Zaho et *al.*, 2015)**.

La détermination de la teneur en éléments minéraux dans les lichens permet de révéler la présence ou l'absence des métaux lourds dans le lichen et aussi de leur capacité de stocker à long terme certains éléments, les éléments traces et les métaux lourds en particulier.

Les métaux et autres éléments sont libérés dans l'atmosphère par des activités industrielles ou par la mise en circulation de particules du sol. Ils sont alors présents dans l'atmosphère sous différentes formes avant de se déposer sur les thalles des lichens puis d'y être incorporés **(Daillant, 2003)**.

L'*Evernia prunastri* est considéré comme une espèce caractérisée par une bonne capacité d'accumulation des métaux. L'augmentation de la concentration de Pb dans un site donné est probablement confirmée par la grande quantité de métal provenant par exemple de l'industrie et probablement confirmée par la grande quantité de ce métal provenant des gaz d'échappement. Il a été suggéré qu'une teneur plus élevée en cations de Pb dans l'air ambiant peut avoir des effets négatifs sur la santé. De même, les niveaux de Cd dans les sites ruraux sont inférieurs à ceux des sites urbains et industriels (**Sujetoviene et Sliumpaite, 2013)**.

En termes de valeurs nutritionnelle, ce lichen n'est pas équilibré (teneurs faibles en protéines et en lipides), donc, il ne peut être utilisé dans l'alimentation que dans le cas nécessaire. Cependant sa richesse en sucres, vitamine C, Zn fait de lui un bon compliment alimentaire.

IV. 3. Résultats des analyses phytochimique

IV.3.1. Détermination qualitatives

Le screening phytochimique, nous a permis de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires au niveau des lichens. La détection de ces composés chimiques est basée sur des réactions de précipitation et un changement de couleur spécifique,….

L'évaluation de la composition phytochimiques des extraits des lichens sélectionnés pour cette étude a permis de mettre en évidence la présence de quelque constituants chimiques tels que : alcaloïdes, flavonoïdes, saponines, terpénoïdes , glycosides , sucres réducteurs et l'absence de tannins (tableau II).

Tableau II : Quelques paramètres phytochimiques

Paramètres	Broyat du lichen de Sahara	Broyat du lichen de Sétif	Observation
Saponines	(+)	(+)	Formation de la mousse.
Tannins	(-)	(-)	absence de la coloration bleu-vert et précipité.
Alcaloïdes	(+)	(+)	Présence de la coloration brune.
Terpénoïdes	(+)	(+)	présence de la coloration brune roujatre.
Flavonoïdes	(+)	(+)	présence de la coloration vert foncée + l'effervescence

Les résultats obtenus par **Roshimi et Rajkumer, (2014)** sur plusieurs espèces de lichen confirment la présence des saponines, alkalloïds, terpenoïdes, et des flavonoïdes dans l'extrait méthanolique. Cependant, ces auteurs ont mis en évidence la présence des tannins et l'absence de glycoside ce qui différents de nos résultats.

IV.3.2. Détermination quantitatives

Les rendements en extrait methanolique sont exprimés en g par 100 g de poudre de lichen ; il est de 9.8% pour le lichen de Sahara et de 5,25% pour celui de Sétif.

Les teneurs en composés phénoliques totaux, en flavonoïdes et en pro-anthcyanidinesdes extraits méthanolique du lichen de Sahra et Sétif ont été déterminées. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure suivante :

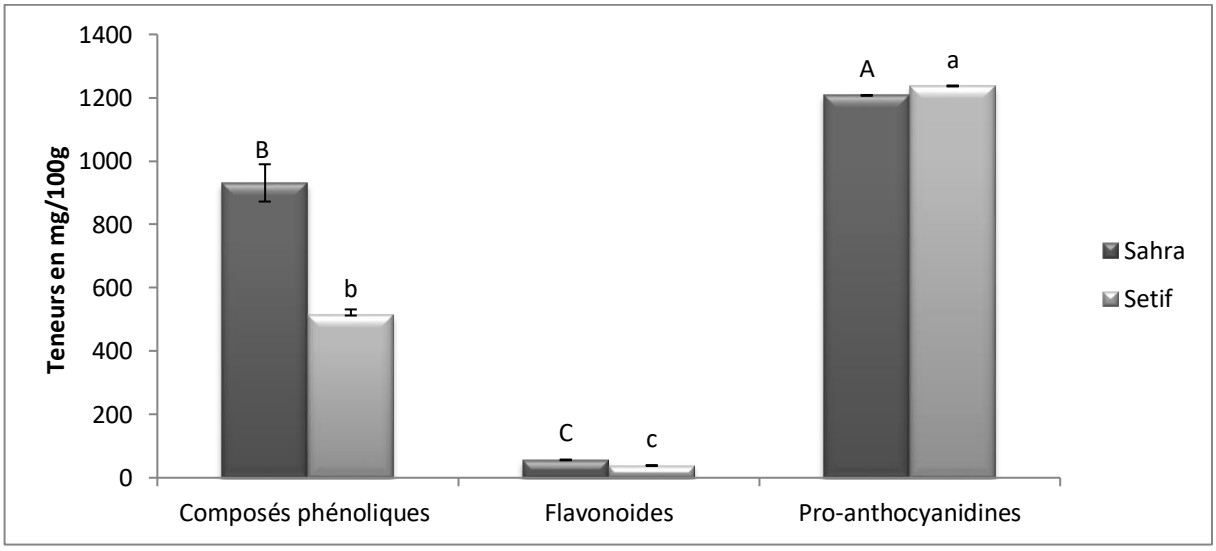


Fig. 12 : Teneurs en composés phénoliques, flavonoïdes et pro-anthocyanidines d'*Evernia prunastri* deux provenances : Sahra et Sétif

IV.3.2.1. Résultats de la détermination de la teneur en composés phénoliques

Les composés polyphénoliques possèdent un large éventail d'activités biologiques *in vitro* (antibactériennes, antioxydante, etc.). Ils présentent ainsi des propriétés antioxydantes par l'inhibition de l'oxydation aussi bien dans le domaine alimentaire (oxydation des lipides) que physiologique (stress oxydant) **(Frankel et Meyer, 2000)**.

D'apres la figure 12, la teneur en composés phénoliques est significativement plus élevée pour le lichen de Sahara (930,99 mg /100g) en comparaison avec celle de lichen de Sétif (513,33 mg /100g).

Mitrović*al.* (2011), ont trouvé une teneur en composés phénoliques de 80.73 mg /g pour l'espèce d'*Evernia prunastri* de la Sibérie. Ce qui est plus important par rapport à nos résultats.

La teneur en composés polyphénoliques le lichen de *Xanthoria parietina* de la région de Boumerdes est de l'ordre 13.9 mg **Bouchenak et *al.* (2020)**. Ce qui est moins faible par rapport a notre résultat.

Le contenu phénolique d'un extrait lichénique n'est que relatif et semble être lié à la nature de l'espèce, les conditions dans lesquelles l'extraction est faite, mais aussi aux méthodes d'extraction appliquées **(Behera et *al.*, 2005)**.

Les lichens montrent un métabolisme particulier qui se traduit par la biosynthèse de substances phénoliques fréquemment spécifiques **(Quilhot et *al.*, 1992)**.

IV.3.2.2. Résultats de la détermination des pro-anthocyanidines

Les proanthocyanidines sont un groupe de bioflavonoïdes polyphénoliques que nous trouvons partout dans les fruits et les légumes. Les proanthocyanidines ont suscité l'intérêt en raison de leur vaste activité pharmacologique et de leur potentiel thérapeutique **(Bagchi et *al.*, 1998).**

D'après la figure 12, les teneurs en pro-anthocyanidines sont très proches: le lichen de Sahara contient une quantité estimée à 1207,36 mg/100g alors que celle de Sétif est de 1236,72 mg/100g.

Les teneurs en proanthocyanidines peuvent être variables en raison de plusieurs facteurs tels que : la sensibilité des tanins aux différentes voies de dégradation (oxydation, la lumière,...), le stade de maturité, les conditions culturales, climatiques ou le stress de prédation **(Ghedadba et *al.*, 2015).**

D'après **Haesaerts (2010),** la dose journalière des proanthocyanidines de cranberry est 36 mg /j. Nos résultats sont beaucoup plus supérieurs à cette dernière.

IV.3.2.3. Détermination de la teneur en flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments naturels présents dans la majorité des végétaux considérés comme des micronutriments important puisque ils peuvent jouer des rôles antioxydants ou posséder des propriétés biologiques diverses **(Yang et *al.*, 2008)**.

Les résultats des flavonoïdes sont présentés dans la figure 12, d'après ces résultats le lichen de Sahara montre une teneur en flavonoïdes significativement élevée (56,34mg/100g) par rapport au lichen de Sétif (38,49mg/100g).

Mitrović *al.* (2011), ont trouvé une teneur en flavonoïdes de 27.46 mg /g pour l'espèce d'*Evernia prunastri* de la Sibérie.

Les teneurs en flavonoïdes des deux extraits (Sahara et Sétif) sont inférieurs à la teneur en flavonoïdes de lichen *Stereocaulon Paschale* (24.86 mg /g) **(Rankovic et *al.*, 2014).**

IV.4. Résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques

La capacité anti-oxydante (CAT), pouvoir réducteur (FRAP) et activité anti-radicalaire (DPPH) des extraits méthanolique du lichen de Sahra et Sétif ont été déterminées. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure suivante :

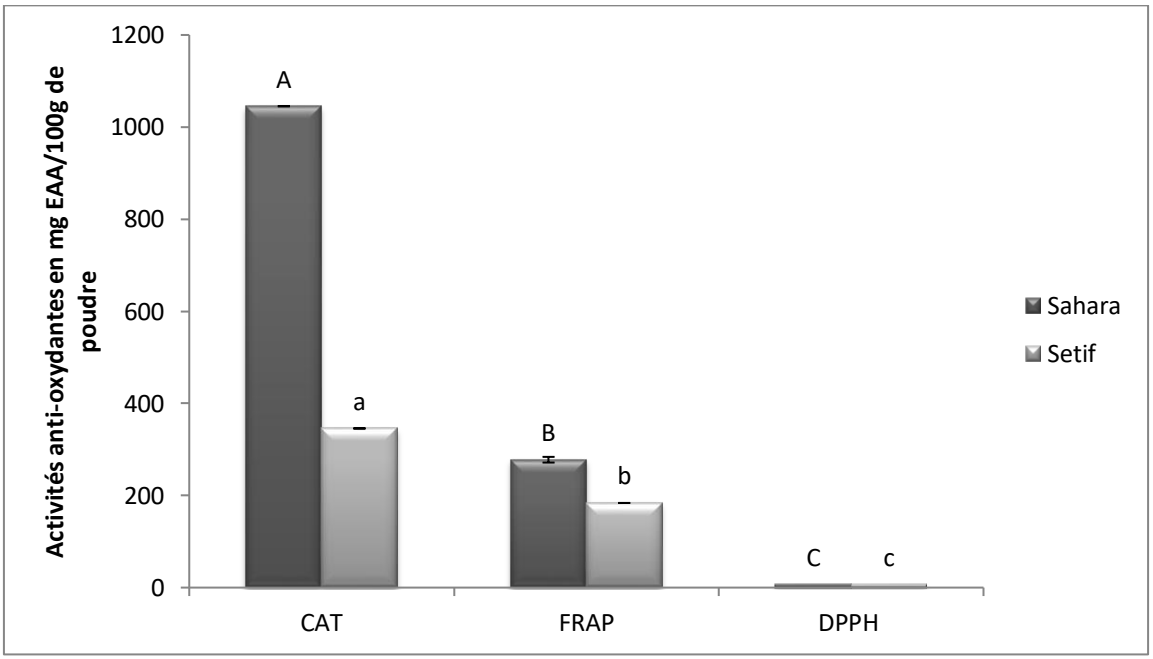


Fig. 13 : Capacité anti-oxydante (CAT), pouvoir réducteur (FRAP) et activité anti-radicalaire (DPPH) des extraits méthanolique d'*Evernia Prunastri* de deux provenances : Sahra et Sétif

IV.4.1. Capacité antioxydant totale (CAT)

La détermination de (CAT) est une méthode pour évaluer le taux de réaction de réduction parmi les antioxydants, présentes dans les extraits. Cette capacité antioxydante totale se base sur un mécanisme de transfert d'électron singulet et d'atome d'hydrogène **(Phatak et Hendre, 2014 ; Agbo et *al.*, 2015)**.

D'après les résultats présentés dans la figure 13, nous constatons la capacité antioxydante des extraits méthanolique de Sahra (1045.33 mg EAA/100g) est significativement élevée par rapport a celle de Sétif (345.62 mg EAA/100g).

Les capacités antioxydantes totales de nos extraits sont supérieures à celle trouvée par **Stojanović et *al.*(2010)**pour l'espèces d'*Evernia prunastri* et qui est de l'ordre de 0.06mg/100g.

Ce pouvoir antioxydant observé dans les extraits peut être dû essentiellement à la richesse des extraits en polyphénols, et aussi en fonction de la nature chimique des molécules bioactives.

IV.4.2. Pouvoir réducteur du Fer des extraits méthanoliques

C'est une analyse de l'activité antioxydante rapide, et reproductible. Dans cette méthode, la détermination de l'activité antioxydante est basée sur la capacité des polyphénols (spécialement les flavonoïdes) à réduire le fer ferrique Fe3+ en fer ferreux Fe2+ **(Karagozler et *al.*, 2008 ; Liu et *al.*,2009)**.

Les résultats représentés dans la figure 13, ont révélé que le pouvoir réducteur du lichen Sahara (277.66 mg EAA/100g de poudre) est significativement supérieur par rapport aux pouvoir réducteur du lichen de Sétif (183.75 mg EAA/100g de poudre).

Le pouvoir réducteur de l'extrait méthanolique de Sahara est supérieur à celle trouvée par **Bouchenak et *al.* (2020)** (206 mgEAA /100g) qui ont travaillé sur l'espèce *Xanthoria parietina* de la région de Boumerdes.

IV.4.3. Activité anti-radicalaire

Le test antioxydant DPPH est basé sur la capacité d'un antioxydant potentiel à piéger le radical du DPPH. En présence de composés antioxydants, le DPPH peut accepter un électron ou un atome d'hydrogène de la molécule piégeuse antioxydante, pour être converti en une molécule de DPPH plus stable **(Elkhamlichi et *al.*, 2017)**.

D'après nos résultats (fig.13), le pourcentage d'inhibition du DPPH enregistrés en présence des différents extraits méthanolique de lichen sont très faibles par rapport a la capacité anti-oxydante et au pouvoir réducteur. Cependant, l'extrait méthanolique du lichen de Sahara à donner le pourcentage le plus élevé (7.67 mg EAA/100g de poudre).

Les capacités de piégeage des radicaux libres de DPPH des extraits étudiés sont inférieures à celle trouvée par **Stojanović et *al.* (2010)** pour l'espèce *Evernia prunastri* de la Serbie (72.77mg/100g).

IV.5. Résultats de l'étude de l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques de lichen

IV.5.1. Résultats de l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques en milieu solide

Les résultats obtenus montrent des zones d'inhibition variant de 6 mm à 35 mm (fig.). D'après les résultats obtenus nous constatons que la meilleure activité été obtenue pour la souche de *S. aures* résistant a la méthicilline (SARM) avec un diamètre de 27.33 mm et ce pour l'extrait méthanolique du lichen de Sétif. La pénicilline utilisée comme contrôle adonner un diamètre de 35 mm.

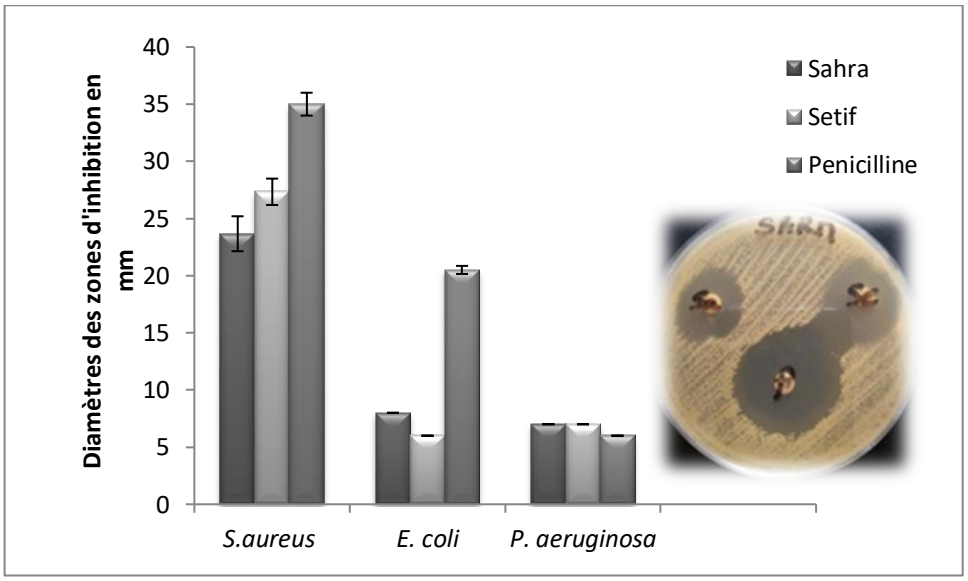


Fig. 14 : Résultats de l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques d'*Evernia Prunastri*

Ces résultats se rapprochent de ceux de **Kiran et *al*., (2013)** qui ont trouvé que les extraits d'acétone et de chloroforme obtenus de différents échantillons de l'espèces de Lichen *Evernia prunastri* de la Turquie présentent une activité antimicrobienne contre plusieurs souches (*Staphylococcus, Enterococcus* et *Bacillus*) avec des zones d'inhibitions variant de 6 à 23 mm pour les extraits chloroformiques et de 6 à 20 mm pour les extraits d'acétone. Pour les souches de *Staphylococcus* les zones d'inhibition obtenues varient de 12 à 17 mm, ce qui est moins important par rapport a nos résultats.

III.5.2. Résultats de l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques en milieu liquide

Les CMIs des extraits méthanoliques ainsi que de la pénicilline sont celles obtenues dans les puits de la microplaque avant la première croissance, c.-à-dla ou aucune croissance n'est visible à l'oeil nu.

Les résultats de CMIs obtenus sont représentés dans la figure 15. Les Concentrations Minimales Inhibitrices obtenues pour varient de 0,117 à plus de 15 mg /ml. Les CMIs plus faibles sont celles obtenues avec les extraite méthanique de Séif et Sahra contre *S. aureus* et qui est de 0,117 mg /ml. Cependant, la CMI la plus élevée a été obtenues contre *E. coli* et *P. aeruginosa*et qui est de 7,5 mg/ml et ceux pour les deux extraits de lichens. En comparaison avec a pénicilline la plus faible CMI est retenue pour *P. aeruginosa* avec plus de 15 mg/ml.

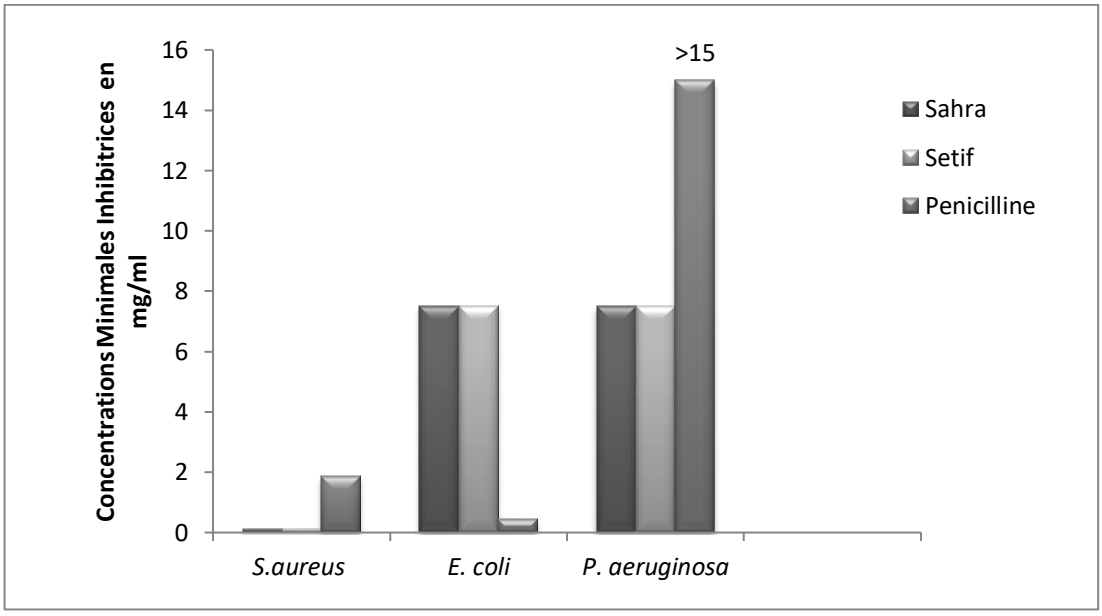


Fig. 15 : Résultat des CMIs des extraits méthanoliques d'*Evernia Prunastri*

Kosanic et *al*. (2013) ont trouvé que les extraits a base d'acétone d'*E. prunastri* de la Séberie inhibent tous les microorganismes testés, mais à des concentrations un peu élevées. Les CMIs obtenues pour l'extrait de ce lichen varient de 6.25 à 25 mg/ml, alors que pour le composé isolé de ce lichen (acide usnique), les CMIs varient de 0.25 à 1 mg/ml.

La CMI obtenue pour la souche de *S. aureus* en testant cet extrait est de 12.5 mg/ml, alors que l'acide usnique donne une CMI de 0.5 mg/ml. Ce qui montre que nos résultats sont plus intéressant du fait que la CMI de nos extraits est réduite presque de 2 fois en comparaison avec l'acide usnique).

Une autre étude faite par **Mitrović et *al.* (2011)** sur toujours les extraits méthanoliques d'*E. prunastri* de la Séberie, les auteurs ont obtenu des CMIs variant de 0,0391 à 10mg/ml contre

l'ensemble de souches testées. Pour es souches de *S. aureus*, la CMI est de 0,156 mg /ml, ce qui se rapproche de notre résultats.

Probablement, nous pouvons expliquer l'effet intéressant des extraits testés par leurs richesses en acide usnique et d'autres composés actifs.

Les métabolites secondaires des lichens présentent des intérêts biologiques pour l'homme en tant que produits pharmaceutiques. Leur biosynthèse et les voies impliquées dans leur régulation ont été examinées par un certain nombre d'auteurs et de nombreuses études ont porté sur leur rôle biologique en tant que protecteurs des thalles contre divers stress et leur permettant de supporter des conditions environnementales défavorables pour leur croissance **(Aoussar et *al.*, 2020).**

Conclusion

Les lichens de la provenance algérienne sont moins étudiés mais suscitent un grand intérêt en raison des composés bioactifs qu'ils synthétisent, permettant ainsi de mettre au point de nouvelles voies d'application dans les domaines de la pharmacie, de la cosmétique et de l'agroalimentaire.

Ce travail préliminaire est une initiation à l'étude des propriétés phytochimiques, physicochimiques et de quelques activités biologiques parmi lesquelles l'activité antibactérienne antioxydante des extraits méthanoliques d'une espèce de lichen *Evernia prunastri* appartenant a deux provenances qui sont: Sahra et Sétif.

A partir de nos résultats, nous pouvant conclure ce qui suit :

- La détermination de la composition approximative (%) de différents constituants d'une espèce de lichen a montré les résultats suivant :
  - les teneurs en carbohydrates, en pectines, en termes de matières grasses de lichen de Sétif sont plus élevées par rapport a celles de Sahra ;
  - les teneurs en humidité et en protéines de lichen de Sahara sont élevées que celles de Sétif humidité ;
  - les teneurs fibres brutes et en cendres pour le lichen de Sahara et Sétif sont presque similaires ;
  - la teneur en métaux lourds (Zn, Pb, Cd) de lichen de Sahara est significativement plus élevée que celle de Sétif ;
- Les analyses physicochimiques et phytochimiques ont donné les résultats suivants :
  - l'acidité titrable du lichen de Sétif est plus importante par rapport a celle de Sahra ;
  - la Conductivité électrique du lichen de Sétif est plus élevée que celle de Sahara ;
  - le lichen de Sahra est plus riches en sucres réducteurs, tandis le lichen de Sétif est plus riche en vitamine C ;
  - L'analyse phytochimique qualitative a révélé la présence d'alcaloïdes, flavonoïdes, phénoliques, saponines, terpénoïdes et glycosides et l'absence de tannins et ce pour les lichens de deux provenances ;
  - Les extraits méthanoliques des lichens ont montré une richesse remarquable en composés phénoliques et en pro-anthocyanidines et des teneurs faibles en flavonoïdes : les teneurs en composés phénoliques et en flavonoïdes de lichen Sahara sont plus élevées par rapport à celles de Sétif et les teneurs en pro-anthocyanidines sont plus au moins proches ;

- L'efficacité antioxydante de nos extraits méthanoliques de lichens (*Evernia prunastri)* de deux provenances (Sahra et Sétif) a été déterminée *in vitro* par trois méthodes (CAT, DPPH et FRAP). Les résultats obtenus montrent que les activités antioxydantes des extraits méthanoliques du lichen de Sahara sont plus importantes que celles de Sétif et ceux pour les trois méthodes. Ce qui en relation directes avec la riche en en composés phénoliques, flavonoïdes et pro-anthocyanidines.

- L'activité antibactérienne extraits méthanoliques de lichens a été déterminée par la méthode de diffusion sur milieu solide et la méthode de microdillution sur milieu liquide contre trois souches bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*).

Les résultats obtenus indiquent que les deux extraits possèdent des activités antibactériennes plus au moins prononcées avec une activité plus importante contre *Staphylococcus aureus*. Cette activité est due probablement aux composés phénoliques, flavonoïdes et pro-anthocyanidines.

Dans cette perspective et dans le but de compléter ce travail, il serait intéressant de procèder à une caractérisation qualitative plus poussée, de ces extraits de lichen par la détermination des structures et propriétés chimiques de leurs composés phénoliques.

De même, une réflexion et des essais sur le mode d'utilisation de ces métabolites secondaires naturellement présents dans les lichens est nécessaire pour leur utilisation à la place des antioxydants de synthèse.

Références Bibliographiques

A

Agbo, M.O., Uzor, P.F., Akazie-Nneji, U.N., Eze-Odurukwe, C.U., Ogbatue, U.B .,Mbaoji, E.C. 2015. Antioxidant, total phenolic and flavonoid C Gupta guontent of selected nigerian medicinal plants. Journal of Pharmaceutical Sciences, 14(1) : 35-41.

AFSSA:Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments.2002. Les fibres alimentaires : définition, méthode de dosage, allégations nutritionnelles, Rapport du comité d'experts spécialisé dans la nutrition humaine, 1-62.

Akbulut, G., Yildiz, A. 2010. An Overview to Lichens: The Nutrient Composition of Some Species. Kafkas Üniv Fen Bil Enst Derg, 3(2):79-86.

Alpsoy, L., Orhan, F., Nardemir, G., Agar, G., Gulluce, M., Aslan, A. 2013. Antigenotoxic potencies of a lichen species, *Evernia prunastri*. Toxicology and lndustrial Health, 31(2) : 1-9 .

Andersson, S.G.E., Zomorodipour, A., Andersson, J.O., Sicheritz-Ponten, T., Alsmark, U.C.M., Podowski, R.M., Naslund, A.K., Eriksson, A., Winkler, H.H., Kurland, C.G. 1998. The genome sequence of Rickettsia prowazekii and the origin of mitochondria. Nature, 396:133-140p.

Animech, H., Dipankar, S. 2017. Criblage phytochimique préliminaire et évaluation de l'activité d'anti-diarrtique de l'extrait éthanolique de feuilles de *Clerodendrum infortunatum*. Revue internationale de la recherche pharmaceutique actuelle, 9 : 143-146.

Antolovich, M., Prenzler, P.D., Patsalides, E., McDonald, S., Robards, K. 2001. Méthodes pour tester l'activité antioxydante. L'Analyste, 127(1) : 183-198.

AOAC. 2000. Official Methods of Analysis. 17th Edition, The Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD, USA. Pp : 5-15.

Armstrong, R.A., Welch, A.R. 2007. Competition in lichen communities. Symbiosis, 43 : 1-12.

Asplund, J., Wardle, D.A .2016. How lichens impact on terrestrial community and ecosystem properties. Biological Reviews, 1-19.

Asta, J. 2019. Les lichens, de surprenants organismes pionniers. ***In :*** encyclopédie de l'environnement. 14p.

Aoussar, N., Rhallabi, N., Ait Mhand, R., Manzali, R., Bouksaim, M., Douira, A., Mellouki, F. 2020. Seasonal variation of antioxidant activity and phenolic content of *Pseudevernia furfuracea, Evernia prunastri and Ramalina farinacea* from Morocco. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, 19: 1-6.

Aoussar, N., Achmit, M., Es-sadeqy, Y., Vasiljević, P., Rhallabi, N., Ait Mhand, R., Zerouali, K., Manojlović, N., Mellouki, F. 2021. Phytochemical constituents, antioxidant

and antistaphylococcal activities of *Evernia prunastri* (L.) Ach., *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf. and *Ramalina farinacea* (L.) Ach. from Morocco. Archives of Microbiology, f Springer Nature, 1-8.

Audigie, C.L., Dupont, G., Zouszain, F. 1984. Principes des méthodes d'analyse biochimique. Tome 1. Ed. Doin, Pp : 136-155.

Ayoola, Coker, G.A., H.A.B., Adesegun, S.A., Adepoju-Bello, A.A., Obaweya, K., Ezennia, E.C., Atangbayila, T.O. 2008. Phytochemical screening and antioxidant activities of some selected medicinal plants used for malaria therapy in southwestern Nigeria. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 7 (3): 1019-1024.

B

Bagchi, D., Garg, A., Krohn, R. L., Bagchi, M., Bagchi, D. J., Balmoori, J. et Stohs, S. J. 1998. Protective effects of grape seed proanthocyanidins and selected antioxidants against TPA-induced hepatic and brain lipid peroxidation and DNA fragmentation, and peritoneal macrophage activation in mice. General Pharmacology: The Vascular System, 30(5): 771-776.

Banso, A., Adeyemo, S. 2006. Phytochemical screening and antimicrobial assessment of *Abutilon mauritianum*, *Bacopa monnifera* and *Datura stramonium*. Biokemistri, 18(1): 39-44.

Barbarier,S., wolff, M. 2010. Multirésistance chez *Pseudomonas aeruginosa* Vers l'impasse thérapeutique ?.médcine science, 26 (11): 960-968.

Bartosz, G. 2003. Generation of reactive oxygen species in biological systems. Comments on toxicology, 9 : 5-21.

Basu, A., Rhone, M., Lyons,T.J. 2010. Berries: emerging impact on cardiovascular health. Nutrition Review, 68 (3) :168-177.

Behera, B.C., Verma, N., Sonone, A., Makhija, U. 2005. Antioxydant and antibacterial activities of lichen us neaghattensis *in vivo*. Biotechnology letters, 27: 991-995.

Bekka-Hadji, F., Bombarda, I., Touati, A. 2016.Antibacterial activity against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* of five essential oils from Algerian medicinal plants (Lamiaceae). Journal of Essential oil research, 28(6) : 518–527.

Belitz, H.D., Grosch, W., Schieberle, P. 2009. Lipids. ***In:*** Food Chemistry. 4th édition. Berlin. Springer.158-247.

Bellenfant, S., Vallade, J., Beguinot, J., Sirugue, D., Lemmel C. et le Groupe Lichens de Bourgogne (GLIB). 2010. Les lichens une symbiose exemplaire. Rev. sci. Bourgogne-Nature. 12 : 30-45.

Ben Abdallah, R., Frikha, D., Mallej, S., Sassi, S. 2019. Evaluation of the antibacterial and antifungal activities of marine algae. Journal Jim Sfax , 219(31):38- 44.

Boullard, B. 1997. Dictionnaire plantes et champignons, Editeur ESTEM, 875p.

Bouchenak O., Boumaza S., Yahiaoui K., Benhabyles N., Laoufi R., Toubal S., Khiari O., Blizak D., Arab K. 2020. Evaluation de l'activité antioxydante et l'effet antimicrobien des composes phénoliques extraits du lichen «*Xanthoria parietina* » de la région de Boumerdes. Revue des Bio Ressources, 10 (2):92-103.

Bousque, A. 2018. « *Pseudomonas aeruginosa* » : résistance aux antibiotiques, lecture et interprétation de l'antibiogramme. Biologie médicale, 69 :1-12.

Boustie, J., Grübe, M. 2005. Lichens a promising source of bioactive secondary metabolites. Plant Genetic Resources, 3(2) : 273-287.

Bruneton, J.2009. Tanins. ***In:*** Pharmacognosie: Phytochimie, Plantes médicinales. 4ème édition. Paris: Tec et Doc, Lavoisier. Pp : 442- 482.

Burkholder, P.R., Evans, A.W., Mcveigh, I., Thornton, H.K. 1994. Antibiotic activity of lichens. Proceedings of the National Academy of Sciences, 30 (9): 250 - 255.

Burkin, A.A., Kononenko, G.P. 2015. Metabolites of Toxigenic Fungi in Lichens of Genera *Alectoria, Bryoria, Evernia, Pseudevernia,* and *Usnea*. Izvestiia Akademii nauk SSSR. Seriia Biologicheskaia, 361-367.

C

Campaniello, D., Bevelacqua, A., D'Amto, D., RasarioCorbo, M., Alteiri, C., Singaglia, M. 2005. Microbial characterization of table olives processed acoording styles. Grasas Y Aceities, 4 : 289-294.

Chou, S.T., Chao, W.W., Chung, Y.C. 2003.Antioxydative activity and safety of 50% ethanolic red bean extract (*Phaseolusra diatus* L. var. Aurea). Journal of Food Science, 68 : 21-25.

Clauzade, G., Rondon, Y.2014.Types morphologiques et Types Biologiques chez les Lichens. Bulletin de la société de la France, 113 (2) ,61-71.

Clauzade, G., Roux, C. 1987. Généralités sur les lichens et leur détermination. ***In :*** Bulletin de la Société Botanique du Centre – Ouest, Nouvelle série. France. TOME 18. Pp:147-214.

Clauzade, G., Roux, C. 1985. likenoj d'okcidenta europo : ilustrita determin libro. Société botanique du Centre-Ouest, Saint-Sulpice-de-Royan (France). 893p.

Cocchietto, M., Skert, N., Nimis, P.L.,Sava, G. 2002. A review on usnic acid, an interesting natural compound. Natur wissens chaften, 89:137-146.

Collombet, C. 1989. Lichen d'islande et lichen pulmonaire. Thèse de doctorat en science pharmaceutique. Université Joseph Fourier Gourier Grenoble I. 120 p.

Colomban, P.H., Tournié, A. 2010. Les cendres végétales, matières premières des verres et des émaux : un exemple, les cendres de végétaux utilisées par Fr. D de Montmolin. ladir report, 1-12.

Constenla, D., Ponce, A.G., Lozano, J.E. (2002). Effect of pomace drying on apple pectin. Lebensmittel Wissenschaftund Technologie, 35 (3) : 216-221.

Coste, C. 2008. Introduction à l'étude des lichens.1-7.

Cotelle, N. 2001. Role of Flavonoids in Oxidative Stress. Current Topics in Medicinal Chemistry, 1 : 569-590.

Crozier, A., Jaganathb, I.B., Cliffordc, M.N. 2009. Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. Natural Product Reports, 26 :1001-1034.

Culberson, C.F. 1969. Chemical and botanical guide of lichen products. Nouvelle édition. North Carolina : Chapel Hill (NC) : Presses de l'Université de Caroline du Nord. 628p.

Culberson, C.F. 1963. The lichen substances of the genus *Evernia*. Phytochemistry, 2(4): 335-340.

D

Dai, J., Mumper, R.J. 2010. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxydant and Anticancer Propreties. Molecules ,15:7313-7352.

Daillant, O. 2003. Lichens et accumulation des metaux lourds. Bulletin d'informations de l'Association française de Lichénologie , 28(1) :31-43.

Dalpé, Y.2019. Les lichens, une manne méconnue. La corne d'abondance, 35(1) : 9-1.

Davies, J., Davies, D. 2010. Origines et évolution de la résistance aux antibiotiques. Revues de microbiologie et de biologie moléculaire,74(3) : 417-433.

Dertien , B.K ., Kok, L.J., Kuiper, P.J.C. 1977. Lipid and Fatty Acid Composition of Tree-Growing and Terrestrial Lichens. Physiologia Plantarum, 40(3): 175–180.

Djibo, A.K., Samaté, A.D., Nacro, M. 2004. Composition chimique de l'huile essentielle de *Ocimum americanum* Linn., syn. O. canum Sims du Burkina Faso. Comptes Rendus Chimie, 7 : 1033-1037.

Doat, G. 1978. Les tannins dans les Bois tropicaux. Revue Bois et Forêts des Tropiques, N° 182 : 37-54.

Donkin, R.A.1981. The "Manna Lichen": *Lecanora esculenta*. Anthropos, Bd. 76 : 562- 576.

Douibi, C., Ramdani, M., Lograda, T., Pierre, C., Gilles, F. 2016. Chemical composition and antimicrobial activity of *Evernia prunastri* and *Ramalina farinacea* from Algeria. Biological Sciences and Pharmaceutical Research, 4(5):35-42.

Doukani , K., Tabak ,S. 2014. Profil Physicochimique du fruit "Lendj" (*Arbutus unedo* L.). Nature and Technology, 51- 64.

Du, J., Cullen, J.J., Buettner, G.R. 2012. Ascorbic acid: chemistry, biology and the treatment of cancer. Biochimica et Biophysica Acta, (2) : 443- 457.

Duncan, K.R., Suzuki, Y.J. 2018.Vitamin E Nicotinate. Antioxidant, 7(5): 1-14.

E

Edenharder, R., Grünhage, D. 2003. Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tert-butyl hydroperoxide or cumenehydroperoxide in *Salmonella typhimurium* TA102. Mutation Research, 540:1-18.

Elix, J. A. 1996. Biochemistry and secondary metabolites. ***In :***LichenBiology. Nash,T.H. Cambridge University Press, Cambridge : 154-180.

Elkhamlichi, A., El-Hajaji, H., Faraj, H., Alami, A., El-Bali, B., Lachkar, M. 2017. Phytochemical screening and evaluation of antioxidant and antibacterial activities of seeds and pods extracts of *Calycotome villosa* subsp. Intermedia. Journal of Applied Pharmaceutical Science, 7(4) :192- 198.

Engler, R., Lacoux, D. 2009. Le Thalle Lichénique. Bulletin Association Française Lichénologique, 34 (1) : 20-26.

F

Fahselt, D.1994, Secondary biochemistry of lichens. Symbiosis, 16 : 117-165.

Favier, A. 2003. Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité Chimique, N° 270, 108-115.

Feller,C., Jeanson. P., Giummelly, P., Bonaly, P. 1991. Comparaison de différentes méthodes d'hydrolyse acide en vue du dosage des glucides totaux dans les sols. Science du sol, 29 (l) : 13-22.

Fontanay, S., Mougenot, M.E., Duval, R.E. 2015. Évaluation des activités antibactériennes des huiles essentielles et/ou de leurs composants majoritaires. Hegel, 5 :109-118.

Foster, T.J. 2002. *Staphylococcus aureus.* Microbiologie médicale moléculaire, 2: 839-888.

Frankel, E.N., Meyer, A.S. 2000. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. Journal of the Science of Food and Agriculture, 80:1925-1941.

G

Gardes, A. M., Bonnefont, R.D., Abedinzadeh, Z., Jore, D. 2003. Espèces réactives de l'oxygène : Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? .L'actualité chimique, N° 270, 91-96.

Garcia, E. J., Oldoni, T. L. C., Alencar, S. M., Reis, A., Loguercio, A. D., Grande, R. H. M. 2012. Antioxidant activity by DPPH assay of potential solutions to be applied on bleached teeth. Brazilian Dental Journal, 23(1) : 22–27.

Gavanji , S., Mohammadi, E., Larki, B., Bakhtari, A., 2014. Antimicrobial and cytotoxic evaluation of some herbal essential oils in comparison with common antibiotics in bioassay condition. Integrative Medicine Research, 3 : 142–152.

Ghedadba, N., Hambaba, L., Ayachi, A., Aberkane, M. C., Bousselsela, H., Oueld-Mokhtar, S. M. 2015. Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits desfeuilles de *Marrubium deserti* de Noé. Phytothérapie, 13(2): 118-129.

Ghedira, K. 2005. Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. Phytothérapie, 4: 162-169.

Giusti, M.M., Jing, P. 2007. Natural pigments of berries: functionality and application. In Zhao,Y. Berry fruit: Value-added products for health promotion,CRC Press :Taylor and Francis Group, LLC, 105-146.

González-Tejero, M. R., Martínez-Lirola, M. J., Casares-Porcel, M., Molero-Mesa, J. 1995.Three Lichens Used in Popular Medcin in Eastern Andalucia (SPAIN). Economic Botany, 49 (1) : 96-98.

Guéguena, J., Walrand, S., Bourgeois, O. 2016. Les protéines végétales, contexte et potentiels en alimentation humaine Plant proteins: Context and potentialities for human food. Cahiers de nutrition et de dietetique, 51 : 177-185.

Gülçin, İ., Oktay, M., Küfrevioğlu, İ., Aslan, A. 2002. Deternination of antioxidant activity of lichens *Cetraria islandica* (L) Ach. Journal of Ethnopharmacology, 79 : 325-329.

H

Haesaerts, H. 2010. Le dosage des proanthocyanidines (PAC) de cranberry dans les compléments alimentaires : enjeux et derniers développements. Phytothérapie, 8: 218–222.

Hanssanpour, S., Maherisis, N., Eshrathah, B., Baghbani, N.F. 2011.Plants and secondary metabolites (Tannins): A Review. International Journal of Forest, Soil and Erosion, 1(1):47-53.

Hatipoglu, G., Sökmen, M., Bektas, E., Daferera, D., Sökmen, A., Demir, E., Sahin, H. 2013. Automated and standard extraction of antioxidant phenolic compounds of Hyssopusofficinalis L. ssp. angustifolius. Industrial Crops and Products, 43: 427-433.

He, J., Giusti, M.M. 2010.Anthocyanins: Natural Colorants with Health-Promoting Properties. The Annual Review of Food Science and Technology, 1 : 163-187.

Hennebelle, T., Sahpaz, S., Bailleul, F. 2004. Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. Phytothérapie, 1 : 3-6.

Hewitt , G.F. 2004. Conductivité. Théorie et Pratique. France ,50p.

Hopkins, W.G. 2003. Molécules et métabolisme. ***In :*** physiologie végétale. 2^{eme}édition. Bruxelles: De Boeck. Pp : 267-281.

Hopkins, W.G.2003. Physiologie végétale. 2eme Edition. Bruxelles : Deboeck.. 396 p.

Hosseini, S.S., Khodaiyan, F., Yarmand, M.S. 2016. Optimization of microwave assisted extraction of pectin from sour orange peel and its physicochemical properties. Carbohydrate Polymers, 140 : 59-65.

I

Iserin, P. 2001. Encyclopédies des plantes médicinales: identification, préparations, soins. Paris : Larousse. 335 p.

J

Karleskind, A. 1992. Généralités. ***In :*** Manuel des corps gras. Paris : Lavoisier, TEC. et DOC. Pp.1-46.

Jha, D. K., Panda, L., Lavanya, P., Ramaiah, S., Anbarasu, A. 2012. Detection and confirmation of alkaloids in leaves of *Justicia adhatoda* and bioinformatics approach to elicit its anti-tuberculosis activity. Biotechnology and Applied Biochemistry, 168 : 980-990.

Joulain, D., Tabacchi, R. 2009. Lichen extracts as raw materials in perfumery. Part 1: Oakmoss, Flavour and Fragrance Journal, 24 (2): 49 - 61.

Jovanovic, S.V., Steenken, S., Tosic, M., Marjanovic, B., Simic, M .G. 1994. Flavonoïdes comme antioxydants. Journal de l'American Chemical Society, 116(11) : 4846-4851p.

Judde, A. 2004. Prévention de l'oxydation des acides gras dans un produit cosmétique : mécanismes, conséquences, moyens de mesure, quels antioxydants pour quelles applications? Oléagineux, Corps gras, Lipides, 11, (6): 414-418.

K

Kader, J.C., Baillet, B., Grosbois, M., Galle, A.M., Hirsch, A.M., Jolliot, A., Oursel, A. 2013. Biologie moléculaire de la biogenèse des lipides des plantes. Acta Botanica Gallica. 140 (7) : 735-754.

Karabulut, G., Ozturk, S. 2015. Antifungal Activity of *Evernia Prunastri*, *Parmelia sulcata*, *Pseudevernia Furfuracea* Var.Furfuracea. Pakistan Journal of Botany. 47 (4), 1575 - 1579.

Karagözler, A.A., Erdağ ,B., Çalmaz Emek,Y., Aktaş Uygun ,D. 2008. Antioxidant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoecha shastata*. Food Chemistry, 111(2) : 400–407.

Karabulut, G., Ozturk, S. 2015. Antifungal Activity of *Evernia Prunastri*, *Parmelia sulcata*, *Pseudevernia furfuracea* Var. Furfuracea. Pakistan Journal of Botany,47 (4), 1575 - 1579.

Kiran, F., Yildiz, A et Osmanağaoğlu, Ö. 2013. Bazi Liken Örneklerinin Antimikrobiyal Özelliklerinin Belirlenmesi. Türk MikrobiyolojiCemiyeti Dergisi, 43 (3): 97 - 103.

Kolly-Ray, M., Magnin-Gonze, J. 2016.Mousses, lichens et hépatiques du Bois de Versoix. Bulletin du Cercle vaudois de botanique, 45: 7-14.

Kosanic, M., Ranković , B.,Vukonevic, J. 2010. Antioxidant properties of some lichen species. Association of Food Scientists &Technologists, 48 :584-590.

Kosanic, M., Manojlovic, N., Jankovic, S., Stanojkovic, T., Rankovic, B. (2013). *Evernia prunastri* and *Pseudoevernia furfuraceae* lichens and their major metabolites as antioxidant, antimicrobial and anticancer agents. Food and Chemical Toxicology, 53 : 112 - 118.

Kosanic, M., Rankovic, B., Stanojkovic, T., Vasiljevic, P., Manojlovic, N. 2014. Biological activities and chemical composition of lichens from Serbia. EXCLI Journal.13 :1226 - 1238.

Krishna Murty, N., Rama Rao, K. 1979.Vitamin C (Ascorbic Acid). Methods in Enzymology, 62 : 12-14.

L

Lackovicova, A., Guttova, A., Bakor, M., Pisut, I. 2013. Response of *Evernia prunastri* to urban environmental conditions in Central Europe after the decrease of air pollution. The Lichenologist, 45 (01): 89-100.

Lamina, S., Ezema, C.I., Theresa, A.I., Anthonia, E.U. 2013. Effects of free radicals and antioxidants on exercise performance. Oxidants and Antioxidants in Medical Science, 2 (2) : 83-91.

Leclerc, H., Gaillard, J.L., Simonet, M. 1995. Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien. Paris : Doin. 535p.

Lee, S.K., Kader, A.A . 2000. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. Postharvest Biology and Technology, 20 : 207-220.

Liu, L., Sun, Y., Laura, T., Liang, X., Ye, H., Zeng, X. 2009. Determination of polyphenolic content and antioxidant activity of kudingcha made from Ilex kudingcha C.J. Tseng. Food Chemistry, 112(1) :35–41.

Loppi, S., Frati, L. 2006. Lichen diversity and lichen transplants as monitors of air pollution in a rural area of central Italy. Environmental Monitoring and Assessment, 114 : 361- 375p.

M

Maksimovic, Z., Malencic, D., Kovacevic, N. 2005. Polyphenol contents and antioxidant activity of Maydis stigma extracts. Bioresource Technology, 96 : 873-877.

Marouane, A., Naoui, A., Medjahed, H., Ali, K., Saadi, A. 2014. Activité antioxydant des composés phénoliques d'huile d'olive extraite par méthode traditionnelle. International Journal Biological Chemical Science, 8 (4) : 1865-1870.

Martinez, C.M.1995. Oxygen free radicals and humandisease. Biohimie, 77: 147- 161.

Mitrovic, T., Stamenkovic, V., Tosic, S., Stankovic, M., Radojevic, I., Stefanovic, O., Comic, L., Curcic, M., Markovic, S. (2011). Antioxidant, Antimicrobial and Antiproliferative Activities of Five Lichen Species. International Journal Of Molecular Sciences, 12 : 5428-5448.

Molnar, K., Farkas, E. 2010. Résultats actuels sur les activités biologiques des métabolites secondaires du lichen. Zeitschrift Für Naturforschung C, 65: 157-173.

M'Sadak, Y., Elouaer, M.A., El Kamel, R. 2012. Evaluation du comportement chimique des composts sylvicoles, des tamisats et des mélanges pour la conception des substrats de culture. Nature &Technologie, 5 (1) : 54-60.

Moussard, C. 2006. Biochimie structural et métabolique. 3eme édition. Bock et Larcier. Bruscelles. 352p.

Munnich, A., Ogier, H., Saudubray, J.M., Amédée-Manesme, O. 1987. Les Vitamines : aspects métaboliques, génétiques, nutritionnels et thérapeutiques. Paris : Masson. 428 p.

Munzi, S., Pisani, T., Renzi, M., Loppi, S., Paoli,L. 2013. Effect of nitrogen supply on the C/N balance in the lichen *Evernia prunastri* (L.) Ach. Turkish Journal of Biology, 37: 165 -170.

Muylaert, A., Maînil, J.G. 2012. Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur« contagiosité». Annales de MédcineVétérinaire, 156: 109- 123.

N

Nabors, M. 2008. Biologie végétale. 1er édition. France : Pearson Education. 614p.

Naczk, M., Shahidi, F. 2004.Extraction and analysis of phenolics in food. Journal of Chromatography, 1054: 95-111.

Nash, T. H. 2008. Lichen Biology. 2nd Edition. Cambridge, 502 p.

Nhan, T.X., Gillet,Y., Vandenesch, F. 2012. Diagnostic et traitements des infections toxiniques à *Staphylococcus aureus*. Journal Des Anti-Infectieux, 14(3) :117-126.

Nicklin, J., Graeme-cook, K., Paget, T., Killington, R. 2000. L'essentiel en Microbiologie. Paris : Berti. 365p.

Nowicka, B., Kruk, J. 2012. Plastoquinol is more active than α-tocopherol in singletoxygen scavenging during high light stress of Chlamydomonas Reinhardtii. Biochimica et Biophysica Acta, 1817 (3) :389-394.

Ntezurubanza, L., Scheffer, J.J.C., Looman, A., BaerheimSvendsen, A. 1984. Composition of Essential Oil of *Ocimumkilimands charicum* Grown in Rwanda. Planta Medica, 50(5): 385-388.

O

Oakaenfull, D.1981. Saponins in food. Food Chemistry,6 : 19-40.

Olano-Martin, E., Gibson, G.R ., Rastall, R.A. 2002. Comparison of the in vitro bifidogenic properties of pectins and pectic-oligosaccharides. Journal of Applied Microbiology, 93: 505-511.

Olafsdottir, E.S., Ingolfsdòttir, K. 2001. Polysaccharides from lichens: structural characteristics and biological activity. Planta Medica, 67 : 199-208.

Orzechowski, A., Ostaszewski, P., Jank, M., Berwid, S.J.2002. Bioactive substances of plant origin in food-impact on genomics. Reproduction. Nutrition. Development, 42 : 461-477.

Ouali Alami, F.Z., Elabidi, A., Mouhir, L., Fekhaoui, M., Serghini, A. 2014. Utilisation des Lichens comme Bioindicateurs de la Pollution Atmosphérique par le Plomb, Cadmium et Zinc de la Région de Rabat-Sale-Zemmour-Zaér (Maroc). Afrique Science, 10(3) : 89-106.

P

Pandey, K.B., Rizvi, S. 2009.plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2(5) : 270-278.

Pelouze, J., fremy, E. 1854. Picroérythrine. ***In :*** Traité de chimie générale, analytique, industrielle et agricole. Tome 6.3^{eme} édition. Paris : Victor Masson Et Fils. Pp : 193-307.

Percival, S.L. 2014. Microbiology of waterborne diseases, Microbiological Aspects and Risks.Second Edition. Elsevier Academic Press, Amsterdam. 695p.

Phatak, R.S., Hendre, A.S. 2014. Total antioxidant capacity (TAC) of fresh leaves of Kalanchoepinnata. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 2(5) : 32-35.

Pierre, A. 2016. Analyses de Lichens par Spectrométrie de Masse : Déréplication et Histolocalisation. Thèse de Doctorat (Chimie analytique) Université Rennes 1. Sous le Sceau de l'Université Bretagne Loire. 358p.

Pinta, M., Barroin, G., Baudin, G., Bellanger, J., Boiteux, H., Boucetta, M., Ecrement, F., Fritsche, J., Goux, R., Kovacsik, G., Kuhn, V., Laporte, J., Mariée, M., Normand, J., Riandey, C., Ropert, M.E., Rousselet, F., Voinovitch, I. 1971. Spectrométrie d'absorption atomique. Tome I. Paris : Masson et Cie Orstom. 855 p.

Pisoschi, A. M., Pop, A. 2015. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. European Journal of Medicinal Chemistry, 97 : 55-74.

Podterob, A.P. 2008. Chemical composition of lichen and their medical application. Pharmaceutical Chemistry Journal, 42 (10) : 582 -588.

Poljsak, B., Šuput, D., Milisav, I. 2013. Achieving the balance between ROS and antioxidants: when to use the synthetic antioxidants. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2013: 1-11.

Popovici, C., Saykova, I., Tylkowski, B. 2009. Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. Revue de Génie Industriel, 4 : 25-39.

Prieto, P., Pineda, M., Aguillar, M. 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of phosphor molybdanum complex: specific application to determination of vitamin E. Analytical biochemistry, 269 : 337-341.

Q

Quilhot, W., Hidalgo, M. E., Flores, E., Fernandez, E., Pena, W.1992. Possibilités d'utilisation de substances lichéniques comme protecteurs solaires. Substances naturelles d'origine végétale. 135 -141.

Quillet,M., lestang-laisné, G. 1967. Convenance glucidique de l'association symbiotique Cyanophycée-Ascomycète. Bulletin de la Société Botanique de France.135-140.

R

Rashmi, S., Rajkumar, H. G.2014. Preliminary phytochemical screening of different solvent extracts of lichens from Kodagu district, Karnataka. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 3(4) :209-212.

Ramaut, J.L. 1965. Réflexions sur la valeur chimiotaxonomique des substances licheniques a basses concentrations: le cas de l'acide usnique chez *Evernia prunastri* (L.) ACH. Phytochemistry. 4(1) : 199- 202.

Rankovic, B. 2019. Lichen secondary metabolites bioactive properties and pharmaceutical potential. Springer. Second Edition. Serbia. 260p.

Ranković, B., Kosanić1, M., Stanojković,T. 2014. Stereocaulon Paschale Lichen As Antioxidant, Antimicrobial And Anticancer Agent. Farmacia, 62(2) :306-317.

Rezzoug, S-A., Maache-Rezzoug, Z. Allaf, K. 2007. Etude de la disponibilité de la pectine extraite à partir d'écorces d'oranges suite a un prétraitement thermomécanique. Récents Progrès en Génie des Procédés, N° 96 : 1-10.

Rolland, Y. 2004. Antioxydants naturels végétaux. Oléagineux, Corps gras, Lipides, 11(6): 419-424.

Rotimi,V.O., Laughon, B.E., Bartlett, J.G., Mosadomi, H.A. 1988. Activities of nigerian chewing stick extracts against *bacteroides gingivalis* and *bacteroides melaninogenicus*. Antimicobial agents and chemotherapy, 32(4) : 598-600.

Roux, C., Bellemere, A., Boissiere, J.C., Esnault, J., Janex-Favre, M.C., Letrouit- Galino, M.A., Wagner.G. 1986. Les bases de la systématique moderne des lichens. Bulletin de la Société Botanique de France ,133(2) :7-40.

Rozzamri, A., Atiqah-Izyannie, A.M., Mat Yusoff, M., Ismail-Fitry, M.R., 2020. Effects of leavening agents in batter system on quality of deep-fried chicken breast meat. Food Research. 4 (2), 327 -334.

S

Saghir, A., Al-Shabib, N.A. 2020.The Impact of Natural Antioxidants on Human Health***. In:*** Functional Food Products and Sustainable Health. Firstédition. Pp :11-24.

Sarni-Manchado, P., Chegnier, V. 2006. Les polyphénols en agroalimentaire. Paris : TECH et DOC, Lavoisier. 398p.

Senol, Z.M., Gul, U.D., Simsek, S. 2019. Assessment Of Pb^{2+} Removal capacity Of Lichen *(Evernia prunastrie)* : Application Of Absorption Kinetic, Isotherm Models, and Thermodynamics. Environmental Science and Pollution Research, 1-12.

Sérusiaux, E., Diederich, P., Lambinon, J. 2004. Les Macrolichens de Belgique, du Luxembourg et du Nord de la France : Clés de détermination. Volume 40. Luxembourg : Musée National d'Histoire Naturelle. 192 p.

Shahidi, F. 1997. Natural Antioxidants: An overview. ***In :*** Natural Antioxidants: chemistry, health effects and applications. Canada : AOCS mission statement. Pp :1-11.

Shukla, V., Pant Joshi, G., Rawat, M.S.M. 2010. Lichen as a potential natural source of bioactive compounds : a review. Phytochemistry Reviews, 9:303-314.

Singleton, V.l., Othofer, R., Lamuela-Raventos, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteureagent. Methods in enzymology, 299 : 152-178p.

Smith, C.W., Aptroot, A., Coppins, B.J., Fletcher, A., Gilbert, O.L., James, P.W., Wolseley, P.A. 2009.The Lichens of Greta Britain and Ireland. The British Lichen Society.1046 p.

Sofowora, A. 2010. Les Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Suisse : édition Karthala. 384p.

Solak, S. 2016. Fatihormanlarının (Şişli, İstanbul) likenleri (Doctoral dissertation, Selçuk

Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü).74p.

Stamenković, S.S., Mitrović, T.L.J., Cvetković, V.J., Krstić, N.S., Baošić, R.M., Marković, M.S., Nikolić, N.D., Marković, V.L.J., Cvijan, M.V. 2013. Biological indication of heavy metal pollution in the areas of Donje Vlase and Cerje (southeastern Serbia) using epiphytic lichens. Archives of Biological Sciences , Belgrade, 65 (1) : 151-159.

Stojanović, G., Stojanović, I., Stankov-Jovanović, V., Mitić, V., Kostić. D. 2010. Reducing power and radical scavenging activity of four Parmeliaceae species. Central European Journal of Biology, 5(6): 808-813.

Stojanovic, I.Z., Radulovic, N.S., Mitrovic, T.LG., Stamenkovic, S.M., Stojanovic, G.S. 2011. Volatile constituents of selected Parmeliaceae Lichens. Journal Of The Serbian Chemical Scocity, 76 (7) : 987-994.

Souley Kallo, M., Adamou, R., Sawadogo, G., Ayouba Mahamane, A., Maman Maarouhi, I., Ikhiri, K . 2018. Enquête ethnobotanique et criblage phytochimique de quelques plantes tinctoriales du Niger en vue d'une valorisation en énergie solaire. Journal International de biologie et de chimie, 12(2): 867-883.

Sujetoviene, G., Sliumpaite, I. 2013. Response of *Evernia prunastri* transplanted to an urban areain central Lithuania. Atmospheric Pollution Research, 4 :222-228.

T

Tiencheu, B., NjabiNji, D., Achidi, A.U., Egbe, A.C., Tenyang, N., Ngongang, E.F.T., Djikeng, F.T. 2021. Nutritional, sensory, physico-chemical, phytochemical, microbiological and shelf-life studies of natural fruit juice formulated from orange (*Citrus sinensis*), lemon 1(Citrus limon), Honey and Ginger (*Zingiber officinale*). Heliyon, 7 : 1-11.

Tievant, P .2001.Guide des lichens:350 espèces de lichens d'Europe. Paris : Delachaux et Niestlé. 304 p.

Trachi, M. 2015. Caractérisation physicochimique des amandes amères (*Prunus amygdalus*). Possibilité de valorisation. Thèse de Doctorat Technologie Alimentaire. Université M'Hamed Bougara-Boumerdes. 149 p.

Turkmen, N., Sari, F., Velioglu. Y.S. 2005. Analytical, Nutritional and Clinical Methods The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. Food Chemistry, 93 : 713-718

Turkmen, N., Sari, F., Velioglu, Y.S. 2006. Effect of extraction solvents onconcentrationand antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin-Ciocalteu methods. Food Chemistry, 99 : 835-841.

V

Vacaresse, N., Vieira, O., Robbesyn,F., JuÈrgens, G., Salvayre, R., Negre-Salvayre, A. 2001. Phenolic antioxidants trolox and caffeicacidmodulate the oxidized LDL-induced EGF-receptor activation. British Journal of Pharmacology, 132(8) :1777-1788.

Velioglu, Y.S., Mazza, G., Gao, L., Oomah, B.D. 1998. Antioxidant Activity and TotalPhenolics in Selected Fruits, Vegetables, and Grain Products. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46, 4113-4117.

Vertuani, S., Angusti, A., Manfredini, S. 2004. The Antioxidants and Pro-Antioxidants Network: An Overvie. Current Pharmaceutical Design, 10(14):1677-1694.

W

Waksmundzka-Hajnos, M., Sherma, J. 2011. Application of HPLC in the Analysis of phynols, phynolic acid and tannins In: High Performance Liquid Chromatography in Phytochemical Analysis. France : CRC press. Pp : 477-478.

Wang, L.S., Narui,T., Harada, H., Chicita, F., Culberson, C.F., Culberson, W.L. 2001. Ethnic uses of lichens in Yunnan, China. Brylogist, 104 (3) : 345-349.

Wirth, V., Kirschbaum, U.1999. Les lichens bio-indicateurs. France : Eugen Ulmer Eds.128p.

Y

Yamamoto, Y., Hara, K., Kawakami, H., Komine, M. 2015. Lichen Substances and Their Biological Activities. Recent Advances in Lichenology, 181-199.

Yang ,R .Y., Lin, S., Kuo ,G .2008. Content and distribution of flavonoids among 91 edible plant species . Asia of pacific journal of clinical nutrition ,17(1)):275-279.

Yuan, X., Xiao, S., Taylor, T.N. 2005. Lichen-Like Symbiosis 600 Million Years Ago. Science, 308 : 1017-1020.

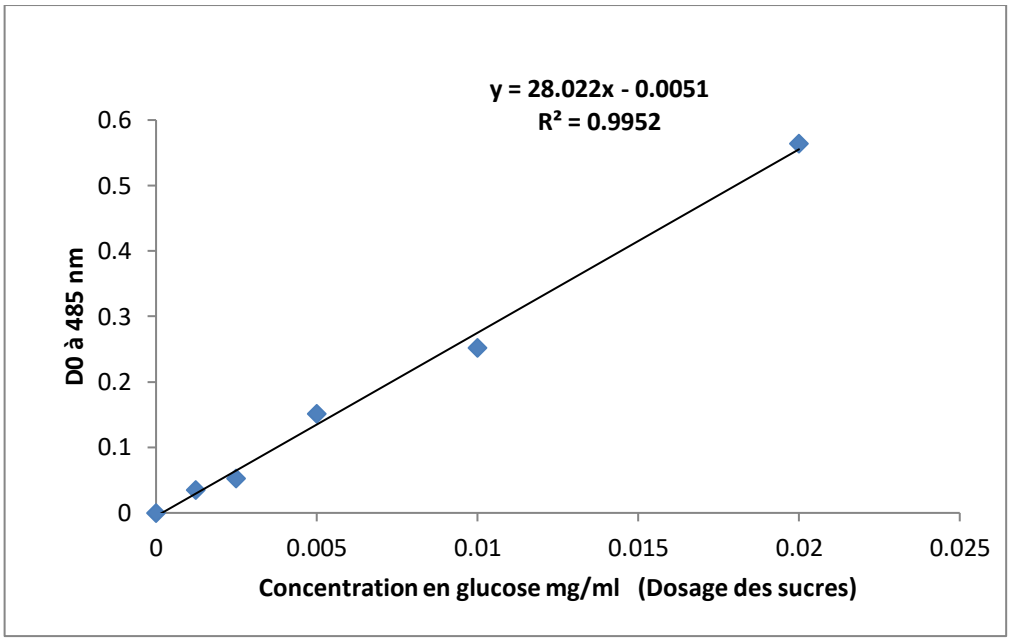
Z

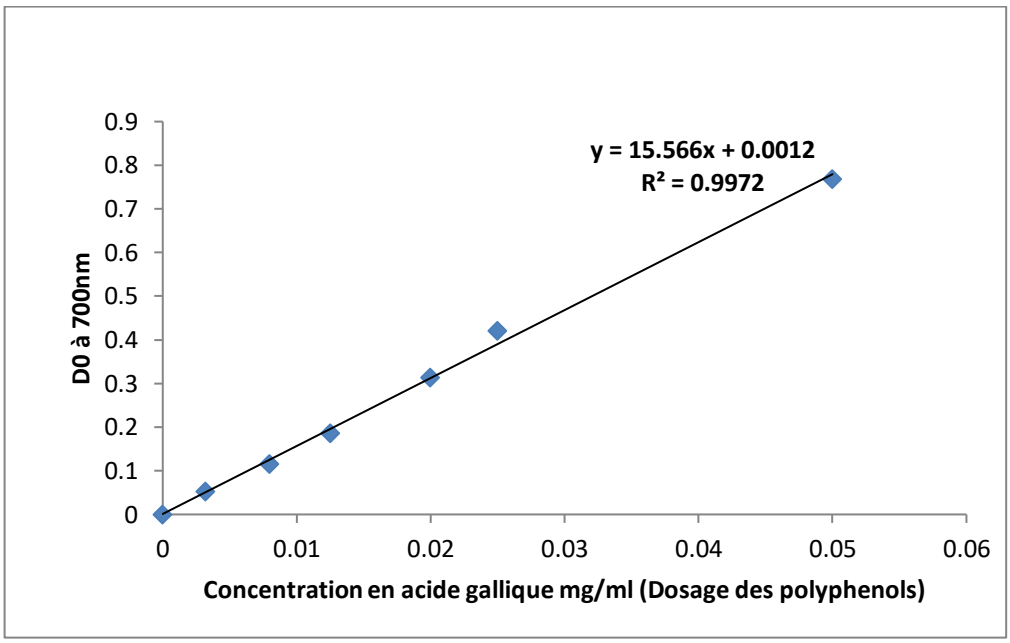
Zhao, Y., Wang, M., Xu, B. 2021 .A comprehensive review on secondary metabolites and health-promoting effects of edible lichen. Journal of Functional Foods, 80 : 1-17.

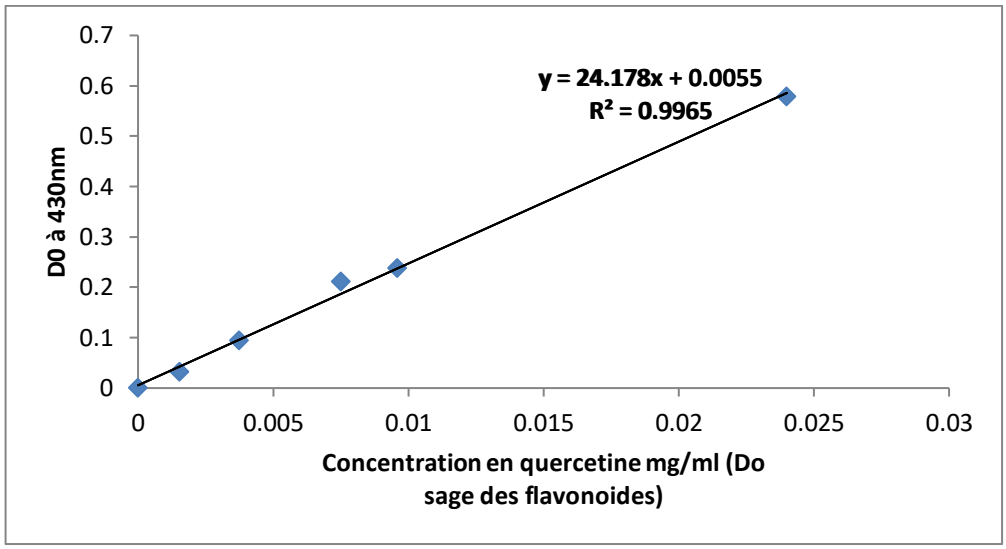
Zambare, V.P., Christopher, L.P. 2012. Biopharmaceutical potential of lichens. Pharmaceutical Biology, 50(6): 778-798.

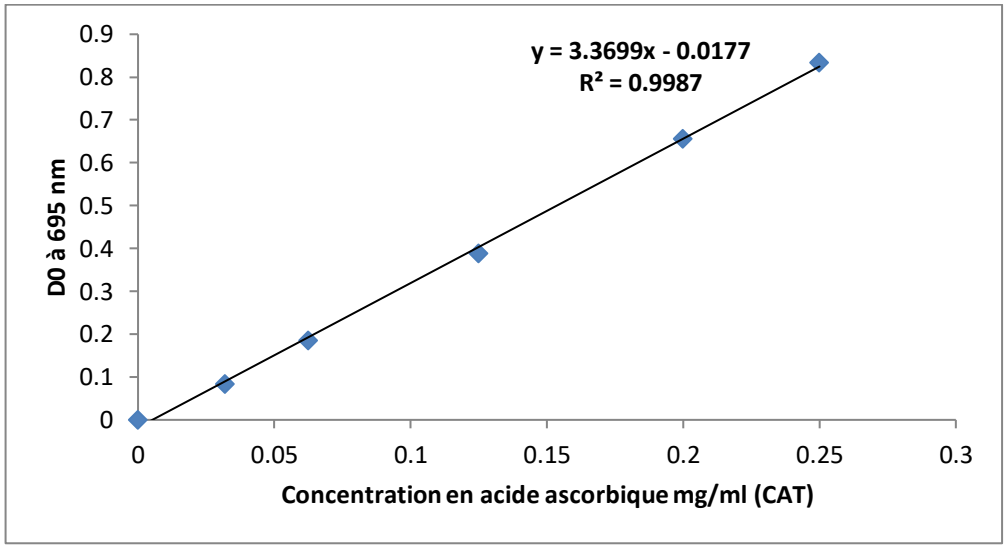
Annexes

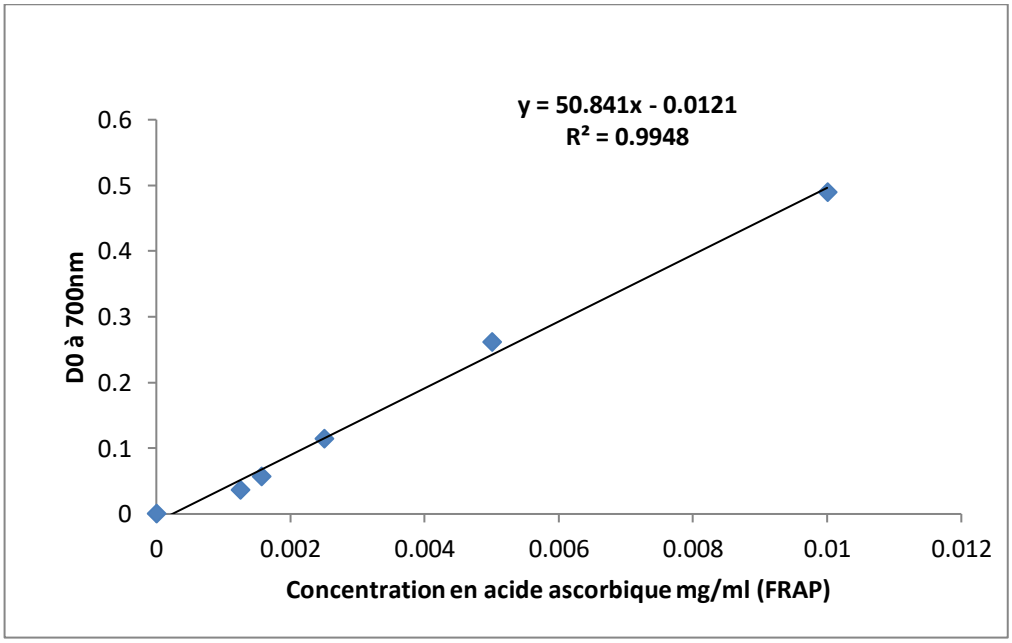
ANNEXES 1

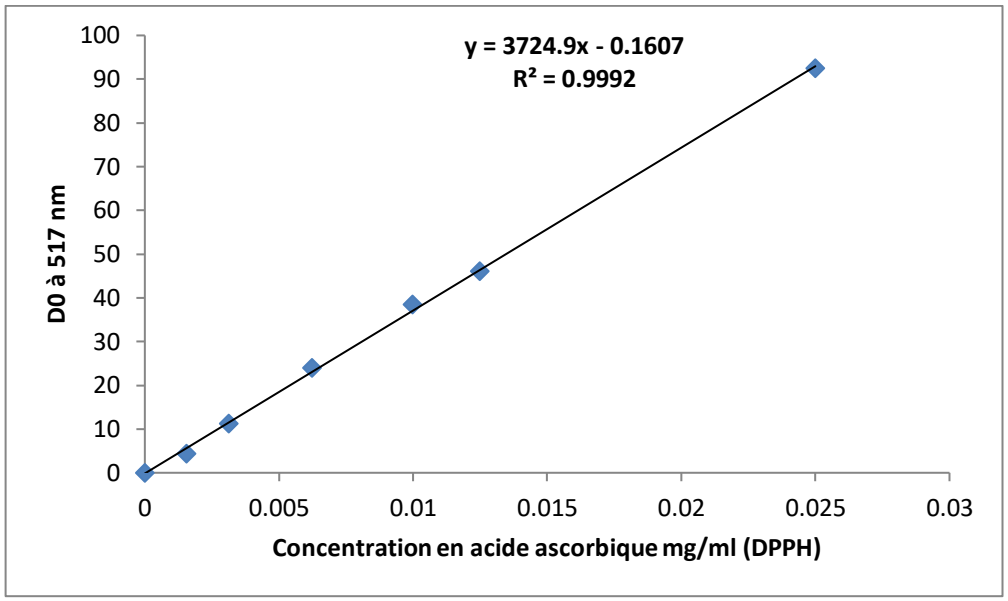

y = 28.022x - 0.0051
R² = 0.9952
D0 à 485 nm
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
0
0.005
0.01
0.015
0.02
0.025
Concentration en glucose mg/ml (Dosage des sucres)


y = 15.566x + 0.0012
R² = 0.9972
D0 à 700nm
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
0
0.01
0.02
0.03
0.04
0.05
0.06
Concentration en acide gallique mg/ml (Dosage des polyphenols)

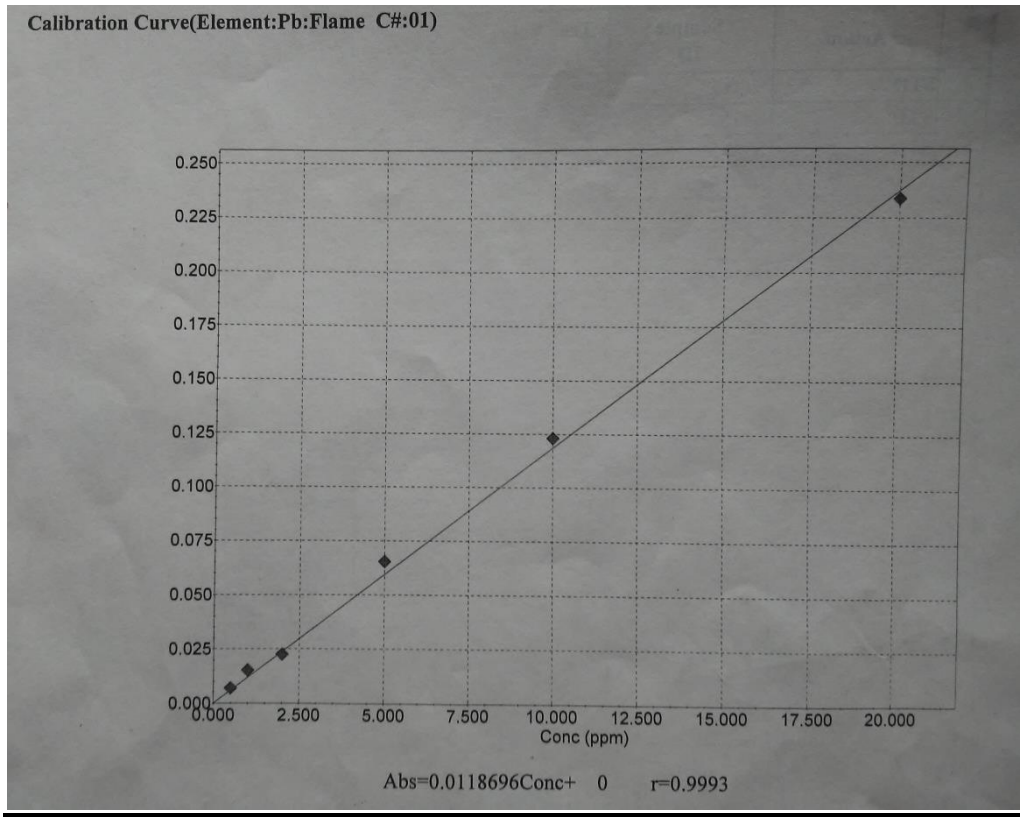

y = 24.178x + 0.0055
R² = 0.9965
D0 à 430nm
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
0
0.005
0.01
0.015
0.02
0.025
0.03
Concentration en quercetine mg/ml (Do sage des flavonoides)

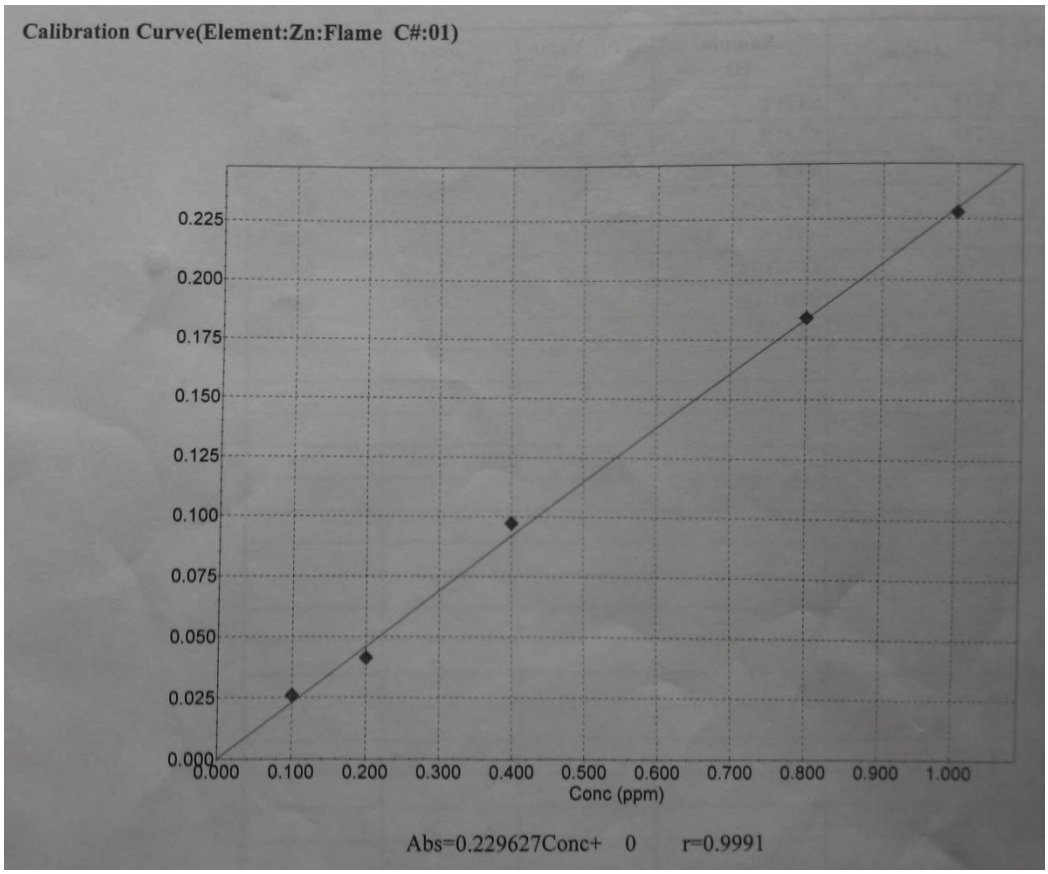

y = 3.3699x - 0.0177
R² = 0.9987
D0 à 695 nm
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
0
0.05
0.1
0.15
0.2
0.25
0.3
Concentration en acide ascorbique mg/ml (CAT)

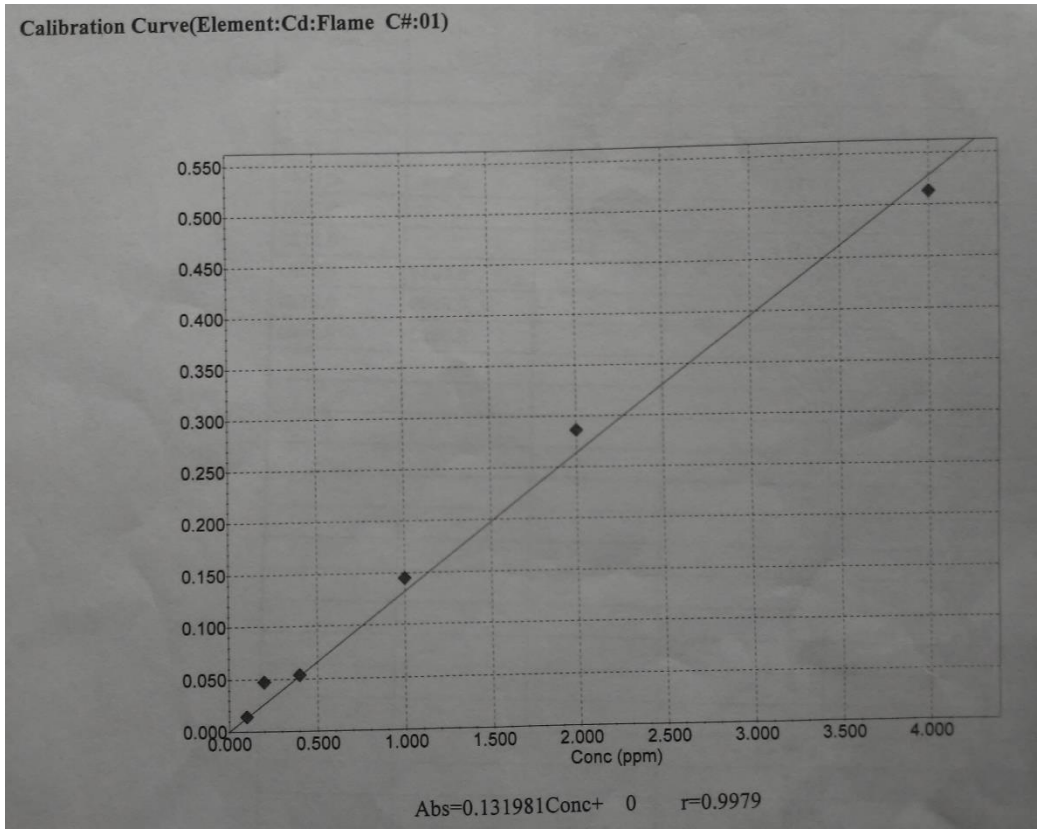

y = 50.841x - 0.0121
R² = 0.9948
D0 à 700nm
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
0
0.002
0.004
0.006
0.008
0.01
0.012
Concentration en acide ascorbique mg/ml (FRAP)


y = 3724.9x - 0.1607
R² = 0.9992
D0 à 517 nm
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0
0.005
0.01
0.015
0.02
0.025
0.03
Concentration en acide ascorbique mg/ml (DPPH)

ANNEXE 2


Calibration Curve(Element:Pb:Flame C#:01)
0.250
0.225
0.200
0.175
0.150
0.125
0.100
0.075
0.050
0.025
0.000
0.000
2.500
5.000
7.500
10.000
12.500
15.000
17.500
20.000
Conc (ppm)
Abs=0.0118696Conc+ 0 r=0.9993


Calibration Curve(Element:Zn:Flame C#:01)
0.225
0.200
0.175
0.150
0.125
0.100
0.075
0.050
0.025
0.000
0.000 0.100 0.200 0.300 0.400 0.500 0.600 0.700 0.800 0.900 1.000
Conc (ppm)
Abs=0.229627Conc+ 0 r=0.9991


Calibration Curve(Element:Cd:Flame C#:01)
0.550
0.500
0.450
0.400
0.350
0.300
0.250
0.200
0.150
0.100
0.050
0.000
0.000 0.500 1.000 1.500 2.000 2.500 3.000 3.500 4.000
Conc (ppm)
Abs=0.131981Conc+ 0 r=0.9979

ANNEXE 3

- **Profil en acide gras par CPG/SM de lichen de Sétif**

N° Pic	Temps de rétention	Pourcentages (%)	Nom chimique	Nom scientifique
1	20.678	38.21	hexadecanoic acid, methyl ester	Acide palmitique ($C_{16}H_{32}O_2$)
2	27.693	14.94	9 ,12-octadecadienoic acid (z - z)- methyl ester	Acide linoléique ($C_{18}H_{32}O_2$)
3	28.319	6.02	9- octadecenoic acid(z) - methyl ester	Acide oléique ($C_{18}H_{34}O_2$)
4	43.808	40.83	1,2 -benzenedicarboxylic acid , diisooctyl ester	Diisooctyl phthalate ($C_{24}H_{38}O_4$)

- **Profil en acide gras par CPG/SM de lichen de Sahara**

N° Pic	Temps de rétention	Pourcentages(%)	Nom chimique	Nom scientifique
11	20.741	12.28	hexadecanoic acid, methyl ester	Acide Palmitique ($C_{16}H_{32}O_2$)
12	23.291	3.42	phthalic acid methyl octyl ester	acid phthalique ($C_8H_6O_4$)
13	28.050	28.30	9 ,12-octadecadienoic acid (z z)- methyl ester	Acide linoléique ($C_{18}H_{32}O_2$)
14	28.698	17.15	9- Octadecenoic acid (z) - methyl ester	Acid oléique ($C_{18}H_{34}O_2$)
16	29.476	1.31	3, 7, 11, 15-tetramethyl-2-hexadecen-1-ol	Phytol ($C_{20}H_{40}O$)
17	30.728	5.23	octadecenoic acid methyl ester	trans-2- acide oléique
22	43.976	26.82	di-n-octyl phthalate	Diisooctyl phthalate ($C_{24}H_{38}O_4$)

جامعة محمد الصديق بن يحيى
مكتبة الكلية
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Résumé

Le but de cette étude est d'évaluer les propriétés phytochimiques, physicochimiques et de quelques activités biologiques (l'activité antibactérienne et antioxydante) des extraits méthanoliques d'une espèce de lichen *Evernia prunastri* appartenant à deux provenances qui sont: Sahra et Sétif.

Différents paramètres physicochimiques et phytochimiques incluant la composition approximative (humidité, teneurs en cendre, teneurs en protéines, lipides, sucres, etc.) ont été étudiés. Pour l'évaluer l'activité antioxydante, les méthodes de phosphomolybdène, réduction du Fer et DPPH ont été utilisées.L'activité antibactérienne extraits méthanoliques de lichens a été déterminée par la méthode de diffusion sur milieu solide et la méthode de microdillution sur milieu liquide contre trois souches bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*).

En termes de valeurs nutritionnelle, ce lichen n'est pas équilibré (teneurs faibles en protéines et en lipides). Cependant une richesse en sucres, en vitamine C et en Zn a été décelée.

Pour les analyses quantitatives (composés phénoliques, flavonoïdeset pro-anthocyanidines) la région de Sahara est plus riche que Sétif. Les activités antioxydantes des extraits méthanoliques du lichen de Sahara sont plus importantes que celles de Sétif. Les extraits méthanoliques des deux régions possèdent des activités antibactériennes très intéressantescontre *Staphylococcus aureus.*

Les résultats obtenus indiquent que les deux extraits possèdent des activités antioxydanteset antibactériennes .Cette activité est due probablement aux composés phénoliques, flavonoïdes et pro-anthocyanidines.

Mots clés : paramètres photochimiques, paramètres physicochimiques, activité antioxydante, activité antibactérienne, lichens, *Evernia prunastri*, composés phénoliques.

Abstract

The aim of this study is to evaluate the phytochemical, physicochemical properties and some biological activities (antibacterial and antioxidant activity) of methanolic extracts of a species of lichen *Evernia prunastri* belonging to two provenances which are: Sahra and Setif.

Different physicochemical and phytochemical parameters including approximate composition (moisture, ash contents, protein, lipid, sugar contents, etc.) were studied. To evaluate the antioxidant activity, the methods of phosphomolybdenum, iron reduction and DPPH were used. The antibacterial activity of methanolic extracts of lichens was determined by the diffusion method on solid medium and the microdilution method on liquid medium against three bacterial strains (*Staphylococcus aureus, Escherichia coli and Pseudomonas aeruginosa*).

In terms of nutritional values, this lichen is not balanced (low protein and lipid contents). However a richness in sugars, vitamin C and Zn was detected.

For quantitative analyses (phenolic compounds, flavonoids and pro-anthocyanidins) the Sahara region is richer than Setif. The antioxidant activities of the methanolic extracts of Sahara lichen are higher than those of Setif.The methanolic extracts from both regions have very interesting antibacterial activities against *Staphylococcus aureus*.

The results obtained indicate that both extracts have antioxidant and antibacterial activities, probably due to phenolic compounds, flavonoids and pro-anthocyanidins.

Key words: photochemical parameters, physicochemical parameters, antioxidant activity, antibacterial activity, lichens, *Evernia prunastri*, phenolic compounds.

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم الخواص الكيميائية النباتية والفيزيائية والكيميائية وبعض الأنشطة البيولوجية (النشاط المضاد للبكتيريا ومضادات الأكسدة) للمستخلصات الميثانولية لأحد أنواع الأشنات(إيفرنيابروناستري*Evernia prunastri*) التي تنتمي إلى منطقتين وهما: الصحراء وسطيف.

تمت دراسة العديد من المتغيرات الفيزيائية والكيميائية النباتية بما في ذلك التركيب التقريبي (الرطوبة ، محتوى المادة المعدنية، البروتين ، الدهون ، محتوى السكر ، إلخ). لتقييم نشاط مضادات الأكسدة ، تم استخدام طرق الفوسفوموليبدينوم وخفض الحديد وطرق DPPH. تم تحديد النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصات الميثانولية من الأشنات من خلال طريقة الانتشار على الوسط الصلب وطريقة بطريقة التركيزاتالصغيرة على الوسط السائل ضد ثلاث سلالات بكتيرية (*Staphylococcus aureus*و *Escherichia coli*و *Pseudomonas aeruginosa*).

من حيث القيمة الغذائية ، فإن هذا الأشنة غير متوازنة (محتوى منخفض من البروتين والدهون). ومع ذلك ، فقد تم الكشف عن نسب مرتفعة من حيث السكريات وفيتامين ج والزنك.

بالنسبة للتحليلات الكمية (المركبات الفينوليةوالفلافونويد والمؤيد للأنثوسيانيدين) فإن منطقة الصحراء أغنى من سطيف. الأنشطة المضادة للأكسدة للمستخلصات الميثانوليةلأشنة الصحراء أكبر من تلك الموجودة في سطيف. تمتلك المستخلصات الميثانولية للمنطقتين أنشطة مضادة للبكتيريا المكورات العنقودية الذهبية.

الكلمات المفتاحية: العوامل النباتية الكيميائية ، العوامل الفيزيائية والكيميائية ، النشاط المضاد للأكسدة ، النشاط المضاد للبكتيريا ، الأشنات ، إيفرنيابروناستري*Evernia prunastri*، المركبات الفينولية .