



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة زيان عاشور-الجلفة

Université Ziane Achour - Djelfa

كلية علوم الطبيعة و الحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم العلوم البيولوجية

Département de Biologie



Projet de fin d'étude

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Biologie

Spécialité :Biotechnologie végétale

Thème:

**Etude Comparative de l'activité antioxydant de *Anaptychia ciliaris*
et *Xanthoria parietina***

Présenté par : M^{elle} : Djaber Sarra

M^{elle} : Medguedem Saliha

Soutenu devant le jury:

M ^r Bouguetaia Y	M.A(A)	Université de Djelfa	Président
M ^r Boumakhleb A			Promoteur
M ^r Bezini E	M.A(A)	Université de Djelfa	Co-promoteur
M ^{me} Dehbi F	M.A(A)	Université de Djelfa	Examinatrice
M ^r Adli B	M.A(A)	Université de Djelfa	Examineur

Année Universitaire: 2018-2019

Sommaire

Remerciements

Dédicace

Liste des figures

Liste des tableaux

Les abréviations

INTRODUCTION..... 01

Chapitre I: Synthèse Bibliographique

1. Les lichens..... 02

2. Différents types de thalles lichéniques..... 02

• Les thalles crustacés..... 02

• les thalles foliacés..... 03

• les thalle fruticuleux..... 03

• les thalles gélatineux..... 03

• Les thalles squamuleux..... 04

• Les thalles lépreux 04

• Les thalles composites 05

3. L'intérêt des lichens..... 05

• Usages alimentaires..... 05

• Usages médicaux..... 06

• Usages industriels..... 06

• Usage en bio-indication..... 06

4. *Xanthoria parietina*..... 06

1. Description..... 06

2. Classification..... 07

5. *Anaptychia ciliaris*..... 07

1. Description..... 07

2. Classification.....	08
6. Les métabolites.....	08
1. Définition.....	08
2. Les types de métabolites	08
3. les métabolites primaires.....	08
4. Les métabolites secondaires.....	08
7. Rôle des métabolites secondaires.....	09
8. Voies de biogenèse des métabolites lichéniques secondaires	09
1. Lavoie de l'acétate polymalonate.....	10
• Les depsides.....	10
• L'acide usnique.....	11
2. La voie de l'acide mévalonique.....	12
3. La voie de l'acide shikimique.....	12

Chapitre II Matériel & Méthodes

1. Récolte des lichens.....	13
2. Préparation des échantillons à l'extraction.....	13
3. Macération.....	15
1. Principe.....	15
2. Mode opératoire.....	15
4. La décoction.....	15
1. Mode opératoire.....	15
5. L'infusion	15
5. Mode opératoire	15
6. Méthodes d'analyses.....	15
1. Tests phytochimiques.....	15
2. Recherche des métabolites.....	16
• Recherche des alcaloïdes	16
3. Recherche des substances polyphénoliques.....	16
• Flavonoïdes.....	16
• Test de Tanins/polyphénols (test du FeCL ₃).....	16
• Tanins catéchiques.....	16

• Tanins galliques.....	16
4. les Dérivés Anthracéniques.....	17
1. Dérivés anthracéniques libres.....	17
2. Dérivés anthracéniques combinés.....	17
• O-hétérosides (anthraquinones).....	17
• O-hétérosides à génines réduites.....	17
• C-hétérosides.....	17
5. Test de mucilage.....	17
6. Etude de l'activité antiradicaire par la méthode du DPPH.....	17
7. Expression des résultats.....	18

Chapitre III Résultats & Discussion

1. Tests phytochimiques.....	19
1.1. Les alcaloïdes.....	19
2. Les substances polyphénoliques.....	21
1. Flavonoïdes.....	21
2. Les tanins	21
3. Dérivés anthracéniques.....	21
4. Test de mucilage.....	22
3. L'activité antioxydante du <i>X. parietina</i> et <i>A. ciliaris</i>	22
Conclusion	25
Référence bibliographique.....	27

Annexes

Résumé

Remerciements

Avant toute, nous remercions Dieu, le tout-puissant, de nous avoir donné la force et la patience pour achever ce travail.

*Nous adressons nos sincères remerciements à Monsieur **Abdallah BOUMAKHLEB**,... d'avoir accepté de nous encadrer, et pour sa disponibilité et son aide tout le long de ce modeste travail, qu'il trouve ici toutes nos gratitude.*

*Nous exprimons mes vifs remerciements à monsieur **BEZINI**, maître de conférence à la faculté des sciences de la nature et de la vie, Université de Ziane Achour -Djelfa, pour son aide et ses conseils.*

*Nous tenons à exprimer notre très grande considération et notre profonde reconnaissance à monsieur **BOUGUETAIA Y**, maître de conférence à l'Université de Ziane Achour-Djelfa, Département de Biologie, nous avoir fait l'honneur de présider le jury de soutenance.*

*Nous tenons également à remercier madame **DEHBI F**, maître de conférences à l'université Ziane Achour-Djelfa, d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Nous tenons également à remercier monsieur **ADLI B**, maître de conférences à l'université Ziane Achour-Djelfa, d'avoir accepter d'examiner ce travail.*

Nous tenons vivement à remercier tout le personnel du laboratoire de l'université Ziane Achour-Djelfa.

Enfin à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce modeste travail.

Dédicaces

Je ne trouve aucun mot ou expression, qui vont exprimer mes vifs sentiments de gratitude et remerciements.

Je dédie ce travail :

Aux êtres les plus chers : Mes parents,

A MA MERE

«Tu m'à donné la vie, la tendresse et le courage pour réussir. Tous ce que je peux offrir ne pourra exprimer l'amour et la reconnaissance que je te porte. En témoignage, je t'offre ce modeste travail pour te remercier pour tes sacrifices et pour l'affection dont tu m'as toujours entourée.»

A MON PERE

«Mon plus haut exemple et mon modèle de persévérance pour aller toujours de l'avant et ne jamais baisser les bras. Pour son enseignement continu à m'inculquer les vraies valeurs de la vie et pour ses précieux conseils.»

A mes chers frères :Miloud, Ali et Rachid.

*A mes chers sœurs : Fatima, Hadjira, Ikram
et Bouchra.*

A mes amis : Hadjer, Kheira, Meriem, Houda et Selma.

A ma partenaire Salha.

SARRA

Dédicaces

Tout d'abord, Ahmed Allah Tout-Puissant pour l'aider à terminer ce travail

*À celui qui m'a donné tout ce dont j'avais besoin pour réaliser ses espoirs,
à celui qui m'a fait avancer ma , à ma première école,*

Mon cher père

*Que Dieu me récompense la meilleure peine des deux
Pour qui j'ai fait chaque offre, À celui qui a été patient pour tout, À la
source de tendresse*

Ma mère

*Pour ceux qui gardent dans leurs yeux les souvenirs de mon enfance et
de ma jeunesse, à ceux qui m'ont aidé*

Mes frères et sœurs

*Pour ceux qui ne suffisent pas les lignes pour les mentionner et remplir
mon cœur, À mes sœurs qui leur ont donné la vie*

Mes chers amis

*Pour qui beaucoup aidé et sans ses conseils, n'ai pas fini ce travail, au
professeur respecté*

BOUMAKHLEB A

*Pour tous ceux qui se tenaient à côté de moi était motivé pour
mes camarades*

medquedem saliha

Liste des Figures

Liste des Figures

Figures	Titres	Pages
1	<i>Lecanora rupicola</i>	02
2	<i>Xanthoria parietina</i>	03
3	<i>Usnea filipendula</i>	03
4	<i>Collema undulatum</i> a Laurer ex Flot	04
5	<i>Normandina pulchella</i> (Borrer) Nyl.b	04
6	<i>Lepraria incana</i>	05
7	<i>Cladonia cristatella</i>	05
8	<i>Xanthoria parietina</i>	06
9	<i>Anaptychia ciliaris</i>	07
10	Les différentes voies de biosynthèse des métabolites secondaires lichéniques	10
11	Structure d'un depside (atranorine) et d'un tridepside (acide lasallique)	11
12	Schéma de biosynthèse de l'acide usnique	11
13	Types de composés appartenant à la voie des mévalonates	12
14	Structures chimiques de l'acide shikimique, de la phénylalanine et des composés dérivés de l'acide pulvinique	12
15	Localisation géographique de la forêt de Sen Elba Gharbi	13
16	: Les étapes adoptées dans la préparation de l'extrait pour les deux espèces (<i>Xanthoria parietina</i> et <i>Anaptychia ciliaris</i> .)	14
17	Solution de DPPH.	18
18	Représentations graphiques de l'évolution du pourcentage d'inhibition du radical DPPH° en fonction des concentrations de extrait <i>Xanthoria parietina</i> en ml.	23
20	Représentations graphiques de l'évolution du pourcentage d'inhibition du radical DPPH° en fonction des concentrations de Acide ascorbique en ml.	24

Liste des Figures

21	Spectrophotomètre UV-Visible.	
22	Appareille de centrifuge.	
23	Balance analytique	

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableaux	Titres	Pages
1	Classes de métabolites secondaires	16
2	Composition phytochimique des extraits des lichens <i>Xanthoria parietina</i> et <i>Anaptichya ciliaris</i> préparés par infusion dans l'eau, macération en milieu aqueux et décoction	29

Liste des abréviations

Liste des abréviations

mn : Minute

g : Gramme

% : Pourcentage

cm : Centimètre

ml: Millilitre

HgCl₂ : Chlorure de mercure(II)

µl : Microlitre

FeCl₃ : Chlorure ferrique

H₂SO₄ : Acide sulfurique

NH₄OH: Ammoniac

HCl: Acide chlorhydrique

DPPH: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

nm: Nanomètre

AA: Acide ascorbique

UV: Ultra-Violet

DO témoin: Densité optique du tube contrôle négatif.

DO extrait : Densité optique de l'échantillon.

DPPH (%) : Pourcentage de réduction du DPPH.

°C: Degré Celsius

KI: Iodure de potassium

I₂: Iode

T° : Température

IC₅₀ :

INTRODUCTION

Introduction

L'homme depuis l'antiquité exploite les ressources naturelles dans le traitement des maladies, comme les espèces végétales. La civilisation humaine dès la fin du 20^{ème} siècle, a orientée les efforts de la recherche médicale et l'industrie pharmaceutique, vers l'exploitation des ressources naturelles, pour des médicaments efficaces et sans effets secondaire. Cela a poussé les monopoles mondiaux de l'industrie pharmaceutique, a utilisé les espèces végétales comme matière première alternative à ceux d'origine ordinaire (**Defraigne et Pincemail, 2008**).

Parmi ces espèces utilisées dans l'industrie pharmaceutiques, les lichens qui ont un effet thérapeutique sur différentes maladies (**Boullared ,1997**) .Alors après le développement du domaine médicinal, il a été découvert que ces végétaux inférieurs, ont un pouvoir thérapeutique grâce aux substances nommées les métabolites secondaires. Ces métabolites lichéniques comme ceux des végétaux supérieurs, prouvent leur pouvoir antibactérien et antioxydant (**Lagarde ,2017**).

Les métabolites secondaires produits par les lichens, ont plusieurs missions tel que : la protection en réponse à un stimulus externe intensité lumineuse, prédation, pathogène, conditions climatiques, etc., mais ils peuvent aussi représenter des antioxydants naturels, qui sont conseillés par les spécialistes de la médecine, comme traitement préventive contre les maladies provoquées par l'oxydation (**Claudia, 2016**).

Alors que, les lichens ont été le sujet des nombreuses études dans le domaine du phytopharmaceutique, à travers le monde, mais en Algérie peu d'études ont été réalisées dans ce volet, à part des études comme (**Serradj et al, 2014 ; Agroum et Koucha, 2016**), sur l'activité antioxydante et antibactérienne. Or, ces études semblent insuffisantes par rapport à la richesse de la flore lichénique de notre pays. Donc, et dans ce contexte notre travail a pour objectif de contribuer dans ce domaine, par l'étude de l'activité antioxydant des espèces lichéniques de notre région, dont les deux espèces l'objet de ce travail sont les plus abondantes dans nos forêts. Alors notre étude a été scindée en trois parties :

- Première partie : une synthèse bibliographique ;
- Deuxième partie : matériel et méthodes ;
- Troisième partie : résultats et discussion.

Chapitre I
Synthèse
Bibliographique

1. Les lichens

La première mention du terme " lichen " apparaît au 4ème siècle avant JC pour désigner les hépatiques (*Théophraste*). En 1798 à 1814 ,le suédois *Acharius* différencie les lichens des autres cryptogames par leur morphologie. Alors que, la véritable nature symbiotique du lichen, est décrite pour la première fois par Schwendener et De Barry en 1867. (**Clother ,2008**) (**Slimani et al,2013**) (**Ait hammou,2015**).

Donc, le lichen est une association symbiotique entre deux êtres vivants un champignon hétérotrophe et une algue verte ou une cyanobactérie (**Clauzade et Rondon,2014**). Dans cette association, les deux partenaires trouvent un bénéfice réciproque avec un rôle bien défini pour chacun. Alors, le champignon est responsable de la structure et la protection physique de l'ensemble (protection contre les pertes d'eau trop brutales, contre les rayonnements solaires trop intenses, contre les animaux, etc.), ainsi que la fourniture des sels minéraux, de l'eau et les antibiotiques nécessaires à leur bon développement, et assure la reproduction sexuée par la production de spores, et l'algue apporte la matière organique, en synthétisant entre autres des glucides par photosynthèse (**Clauzade et Roux,1987**) (**Dieu, 2015**).

Par rapport aux plantes supérieures, la structure des lichens est spécifique, et ils ne possèdent* ni racine, ni tige, ni feuille, mais un appareil végétatif rudimentaire : le thalle.

2. Différents types de thalles lichéniques

Le thalle est caractérisé par une diversité remarquable de forme et de couleur (**Slimani et al,2013**). On distingue généralement 7 types de thalles:

- **Les thalles crustacés** sont les plus communs (90 %), ils forment une croûte qui adhère fortement au substrat à tel point que seule la pointe d'un couteau peut permettre son détachement (**MASSON , 2014**).



Figure 01: *Lecanora rupicola* (MASSON , 2014).

- **Les thalles foliacés** : Se présentent sous forme de lames ou de feuilles, plus ou moins lobées ou découpées, se détachant facilement du substrat (Dieu, 2015).



Figure02: *Xanthoria parietina* (Boumakhleb, 2016).

- **Les thalles fruticuleux**: Présentent des formes barbues ou en lanière, et adhérant au substrat par une surface réduite (Clauzade et Roux, 1987).



Figure 03: *Usnea filipendula* (MASSON, 2014).

- **Les thalles gélatineux** Sont noirs et cassants à l'état sec, ont une consistance gélatineuse à l'état humide (figure 04) (Parrot, 2014).



Figure 04: *Collema undulatum* a Laurer ex Flot.(Parrot,2014).

- **thalles squamuleux**, ils sont constitués de petites écailles plus ou moins serrées les unes contre les et autres (Clauzade Roux,1987).



Figure 05: *Normandina pulchella*(Borrer) Nyl.b. (Parrot,2014)

- **thalles lépreux** Ressemblent à de la poudre se détachant facilement du substrat (Parrot,2014)(MASSON , 2014).

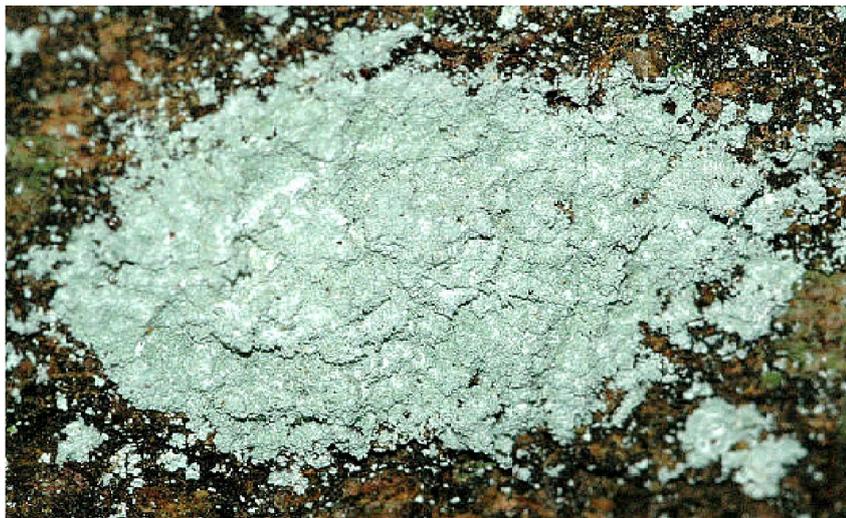


Figure06: *Lepraria incana* (Masson, 2014).

- **thalles composites**, ils sont constitués d'un thalle primaire et un thalle secondaire dressé:
 - a) - Thalle primaire, crustacé, squamuleux ou plus rarement foliacé, plus ou moins étalé sur le substrat.
 - b) - Thalle secondaire, fruticuleux, formé d'éléments se développant plus ou moins perpendiculairement au substrat (Clauzade et Roux, 1987).



Figure07: *Cladonia cristatella* (MASSON, 2014).

3. L'intérêt des lichens:

Les lichens ont été utilisés depuis l'Antiquité comme plantes médicinales et pour de multiples autres usages alimentaires ou artisanaux et parmi ces usages, on cite :

- ✚ **Usages alimentaires** : certains lichens constituent un fourrage pour des animaux comme par exemple, les rennes de Laponie. D'autres peuvent également être utilisés dans la cuisson comme la *Pseudevernia furfuracea* en Algérie (Echiba) (Benkhalifa et

al.,2013), e tdans certaines régions, ils sont consommés comme aliment pour l'homme (Japon, Canada).

- ✚ **Usages médicaux** :Certains lichens sont utilisés en médecine traditionnelle. Les lichens du genre **Usnea** sont largement utilisés pour traiter la toux, la diarrhée et les douleurs abdominales. Alors que le potentiel antibiotique des lichens, a permis leur usage dans l'industrie pharmaceutique, comme la fabrication de sirops et de pastilles (**Ismed, 2012**).
- ✚ **Usages industriels** :Les lichens sont connus pour la fabrication de teintures, où quelques espèces fournissent des teintures de haute qualité. Ainsi que, d'autres espèces des lichens sont utilisées dans la fabrication des produits cosmétiques(parfums et de savons)(**Cardon et Du Chatenay, 1990**)(**Sen-Salerno et Blakeway, 1987**).
- ✚ **Usage en bio-indication** depuis le XIX^{ème} siècle des observatoires indépendants de la pollution à traversl'Europe (Angleterre, Allemagne et en France) révèlent que,la disparition des lichens dans les principaux centre urbains a constitué un indicateur de la progression de la pollution (**Bouziane, 2006**)(**Signoret, 2002**).

4. *Xanthoria parietina*

1. Description

Xanthoria parietina est un lichen foliacé, de couleur orange vif et de forme vaguement circulaire avec des marges lobées, et elle est nitrophile et plus-au-moins poléotolérante(**Boullared,1997**).



Figure 08:*Xanthoria parietina*(**Boumakhleb, 2016**).

La distribution de ce lichen est quasi mondiale : on la trouve dans le nord-ouest de l'Europe, en Afrique, en Asie, en Australie et en Amérique du Nord.

2. Classification

Selon (Clauzade et Roux,1987) et (Ozenda et Clauzade, 1970), la classification de cette espèce est sous l'ordre suivant :

Règne : Fungi

Embranchement : Ascomycota

Classe : Lecanoromycetideae

Ordre : Teloschistales

Famille : Teloschistaceae

Genre : Xanthoria

5. *Anaptychia ciliaris*

1. Description

Lichen fruticuleux formé de lanières étroites et bordées de longs cils gris-noirâtres très caractéristiques, *Anaptychia ciliaris* présente un thalle gris-blanc à l'état sec qui vire au vert à l'état humide.



Figure 09: *Anaptychia ciliaris* (Boumakhleb, 2016).

Une espèce s'implante sur les troncs des arbres, bénéficiant d'un fort éclaircissement. *A.ciliaris* est très largement répandue, notamment dans les régions de moyennes montagnes, elle s'est toutefois fortement raréfiée dans les régions ayant subi une forte dégradation de la qualité de l'air(Happe, 2016).

2. Classification

L'*Anaptychia ciliaris*, est fait partie de la même classe que le *X. parietina*, d'après (Clauzade et Roux,1987) :

Règne : Fungi

Embranchement : Ascomycota

Classe :Lecanoromycetideae

Ordre : Teloschistales

Famille :Physiaceae

Genre : Anaptychia

6. Les métabolites

1. Définition

Les métabolites sont les produits intermédiaires du métabolisme. Le terme métabolite est généralement, par définition, limité à de petites molécules. Les métabolites ont diverses fonctions, y compris l'énergie, la structure, la signalisation, un stimulant et des effets inhibiteurs sur les enzymes (Nill., 2005).

2. Les types de métabolites

Il existe deux grands groupes de métabolites :

3. les métabolites primaires

Les métabolites primaires sont des molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante, et leur présence est indispensable au développement et à la reproduction de l'organisme. Ils sont classés en quatre grandes catégories : les glucides, les lipides, les acides aminés et les acides nucléiques.

4. Les métabolites secondaires

Le terme « métabolite secondaire » est utilisé pour décrire une large gamme de composés chimiques dans les plantes qui ne sont pas impliqués dans les processus biochimiques de la croissance et de la reproduction des plantes (Amlan et Jyotisna, 2010) (Parrot,2016).

7. Rôle des métabolites secondaires

Plusieurs hypothèses ont été émises concernant leur rôle. Ils ne semblent pas essentiels à la croissance végétale, mais peuvent jouer un rôle important dans :

- Les mécanismes de défense contre les agressions extérieures. Dont certains métabolites tels que les anthraquinones, pourraient agir comme pigments accessoires, permettant en condition de faible luminosité de capter l'énergie solaire ou à l'opposé, de protéger l'organisme contre les effets nocifs induits par les radiations solaires. D'autre part, ils ont un rôle important dans les interactions de la plante avec son environnement tel que la protection contre les pathogènes, les herbivores (**Greathead, 2003**).
- Ils jouent un rôle protecteur contre le stress physique (**DAHL,2003**).

8. Voies de biogenèse des métabolites lichéniques secondaires

La diversité des métabolites secondaires lichéniques, est façonnée au travers trois voies de biosynthèse, qui sont des plus aux moins représentées en :

- ✚ La voie des **polyacétates-polymalonates**
- ✚ La voie de l'**acide mévalonique**
- ✚ La voie de l'**acide shikimique**(**Pierre ,2016**)

La figure 12 représente les différentes voies de biosynthèse des métabolites secondaires lichéniques(**Dieu ,2015**)

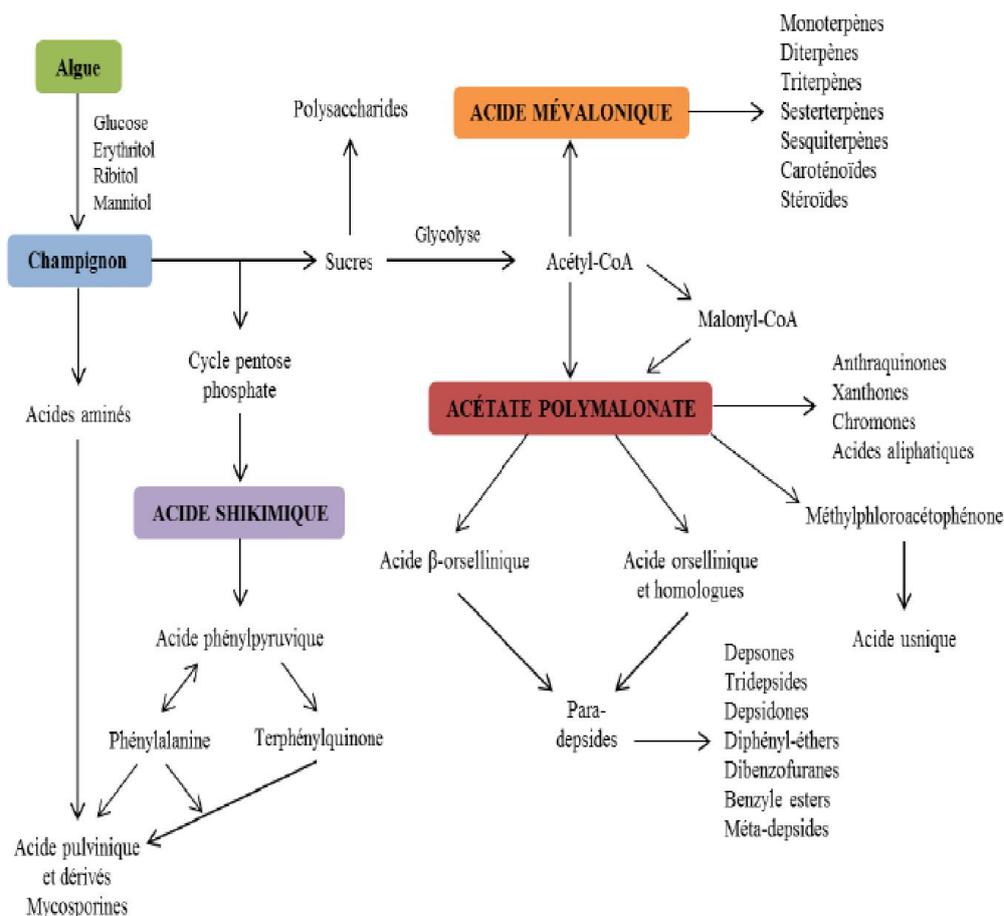


Figure10 : Les différentes voies de biosynthèse des métabolites secondaires lichéniques(DIEU ,2015).

1. Lavoie de l'acétate polymalonate

La voie de l'acétate polymalonate conduit à la synthèse des depsides, depsidones, depsones, dibenzofuranes, anthraquinones, xanthones, chromones, acides aliphatiques et dérivés de l'acide orsellinique.

Les depsides

Les depsides(atranorine par exemple) et les tridepsides (acide lasallique par exemple) sont issus du couplage entre deux ou trois unités d'acide orsellinique par estérification du groupement carboxylique d'une molécule avec le groupement hydroxyle d'une seconde molécule. Cet hydroxyle peut être en *para* ou en *meta* du deuxième noyau d'où la nomenclature de *para*- et *meta*-depsides.

Les depsides ne sont pas spécifiques aux lichens et sont également retrouvés dans certaines plantes de la famille des Lamiacées, des Papavéracées ou des Géraniacées (Mohamed et al., 2015).

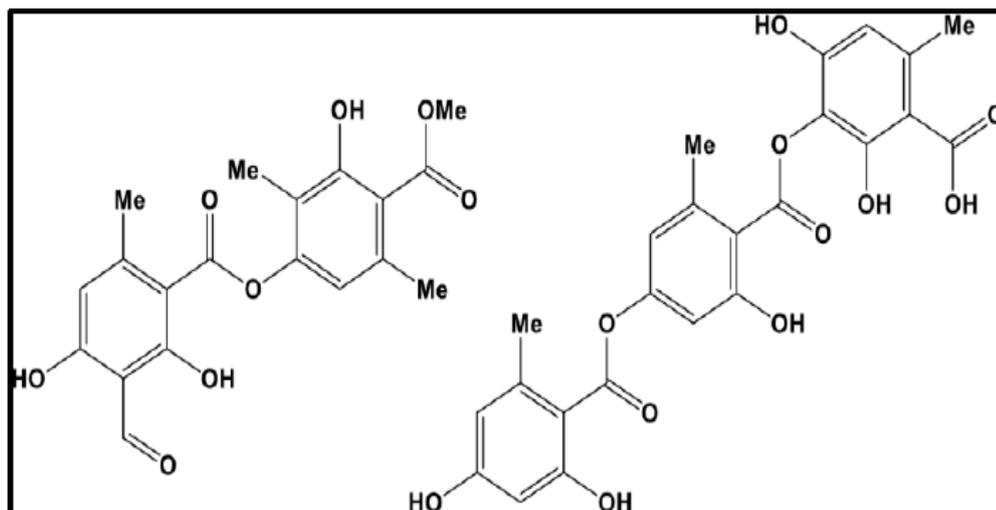


Figure11:Structure d'un depside (atranorine) et d'un tridepside (acide lasallique)

(Mohamed *et al.*, 2015).

🚩 L'acide usnique :

L'acide usnique est un pigment cortical jaune qui existe sous deux formes énantiomériques, acide (+)-usnique et acide (-)-usnique, selon l'orientation du groupement méthyle porté par le carbone asymétrique (en position 9b). Il est sans aucun doute le métabolite lichénique le plus commun et le plus étudié, et qui issu du couplage oxydatif entre deux molécules de méthylphloro-acétophénone (Taguchi *et al.*, 1966).

La voie de biosynthèse proposée, sous contrôle enzymatique, implique la méthylation du tétracétide avant cyclisation pour former la méthylphloro-acétophénone, suivie d'un mécanisme radicalaire conduisant à la cyclisation et la formation de l'acide hydro-usnique. Enfin, une étape finale de déshydratation permettrait l'obtention d'acide usnique (figure 12). (DIEU, 2015)

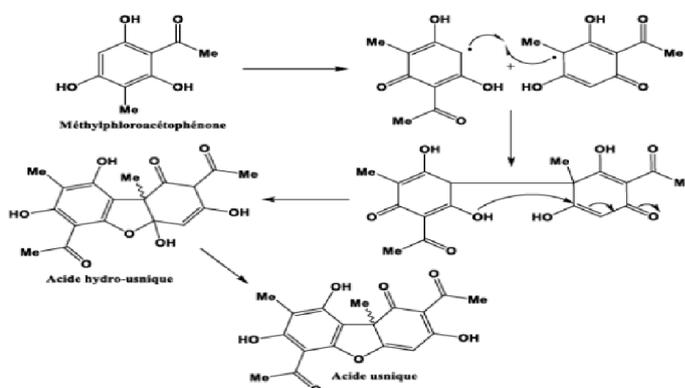


Figure 12:Schéma de biosynthèse de l'acide usnique (DIEU ,2015).

2. La voie de l'acide mévalonique

La voie biosynthétique de l'acide mévalonique produit différents types de terpènes qui sont présents dans les lichens, soit des di-ster et tri-terpènes, des stéroïdes et des caroténoïdes. Ces composés ne sont toutefois pas spécifiques aux lichens, ils sont aussi présents dans de nombreux organismes végétaux et animaux (Claudia, 2016).

Voie biosynthétique de l'acide mévalonique

Types de composés:

A. Di-, sester-, et triterpènes

B: Stéroïdes

C: Caroténoïdes

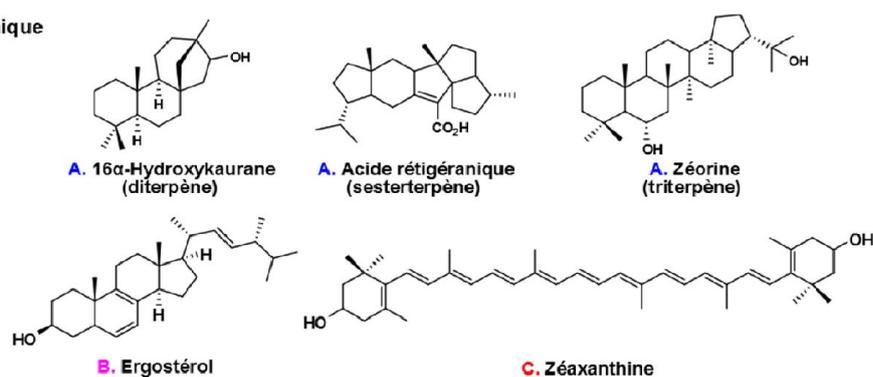


Figure 13: Types de composés appartenant à la voie des mévalonates (Claudia, 2016).

3. La voie de l'acide shikimique:

Cette voie est principalement utilisée pour la synthèse des dérivés de l'acide pulvinique ou des mycosporines chez les lichens. En revanche, elle permet la biosynthèse des acides aminés aromatiques (tyrosine, phénylalanine et tryptophane) et de quelques substances azotées chez les plantes (Lagarde, 2017).

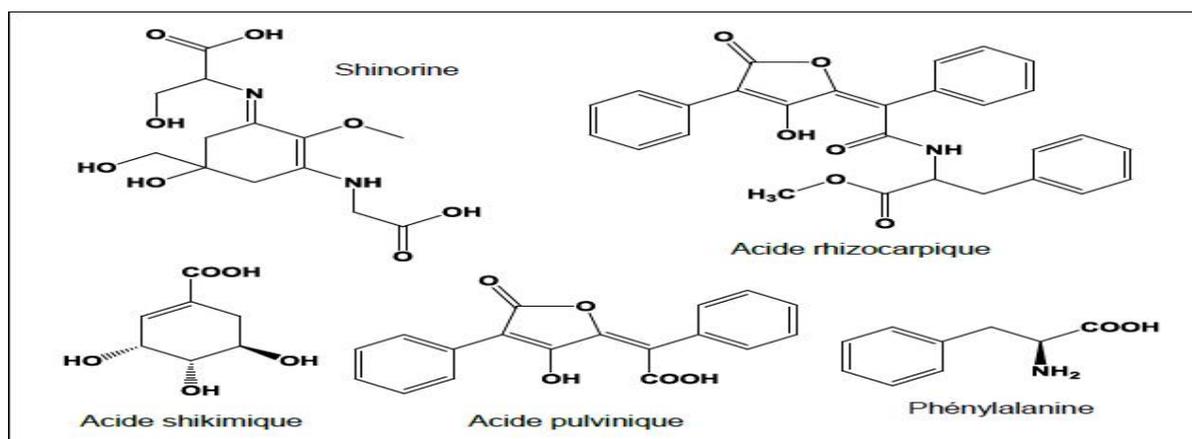


Figure 14: Structures chimiques de l'acide shikimique, de la phénylalanine et des composés dérivés de l'acide pulvinique (Lagarde, 2017).

Chapitre II

Matériel et méthodes

1. Récolte des lichens

Les deux espèces : *Xanthoria parietina* et *Anaptychia ciliaris*, ont été récoltées aux mois d'Avril 2019, de la forêt de Sen Elba Gharbi. Nous avons ciblé les pieds du pin d'Alep qui ont plus de lichens sur l'écorce. Les espèces ont été détachées de l'écorce du pin d'Alep et mises dans des enveloppes et transporter au même jour au laboratoire.

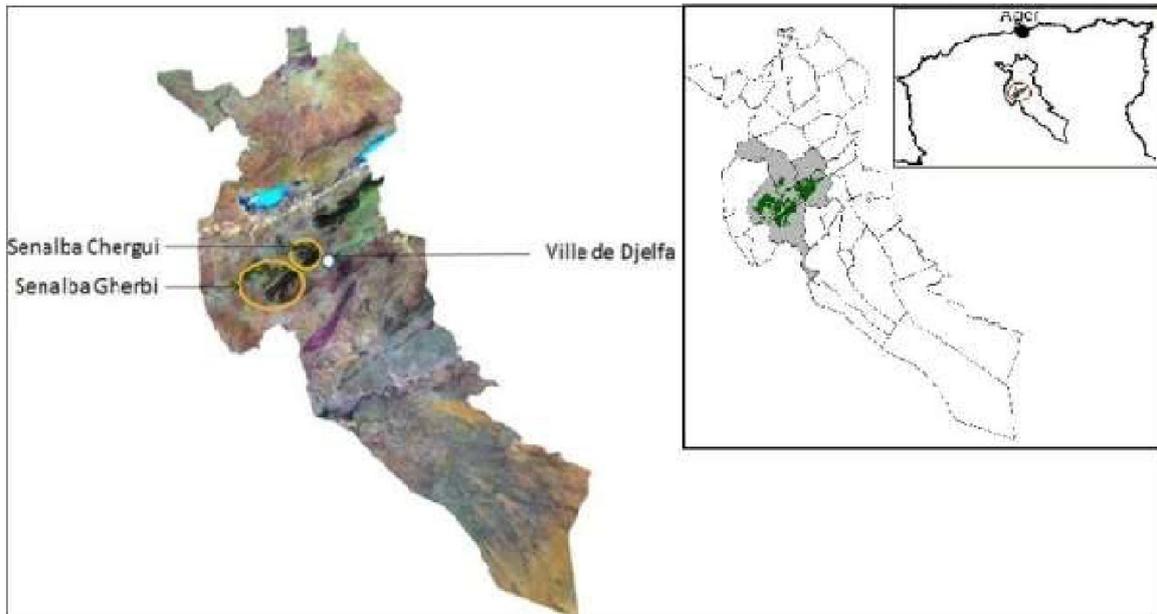


Figure 15: Localisation géographique de la forêt de Sen Elba Gharbi (Benhanifia, 2015).

2. Préparation des échantillons à l'extraction

Dès que les échantillons des lichens arrivés au laboratoire, ils ont été rincés par l'eau distillée pour les nettoyer de la poussière. Ensuite, nos échantillons sont laissés sécher dans un endroit sec et obscur. Après le séchage, les échantillons ont subi un broyage avec un mortier et un pilon pour les transformer en poudre.

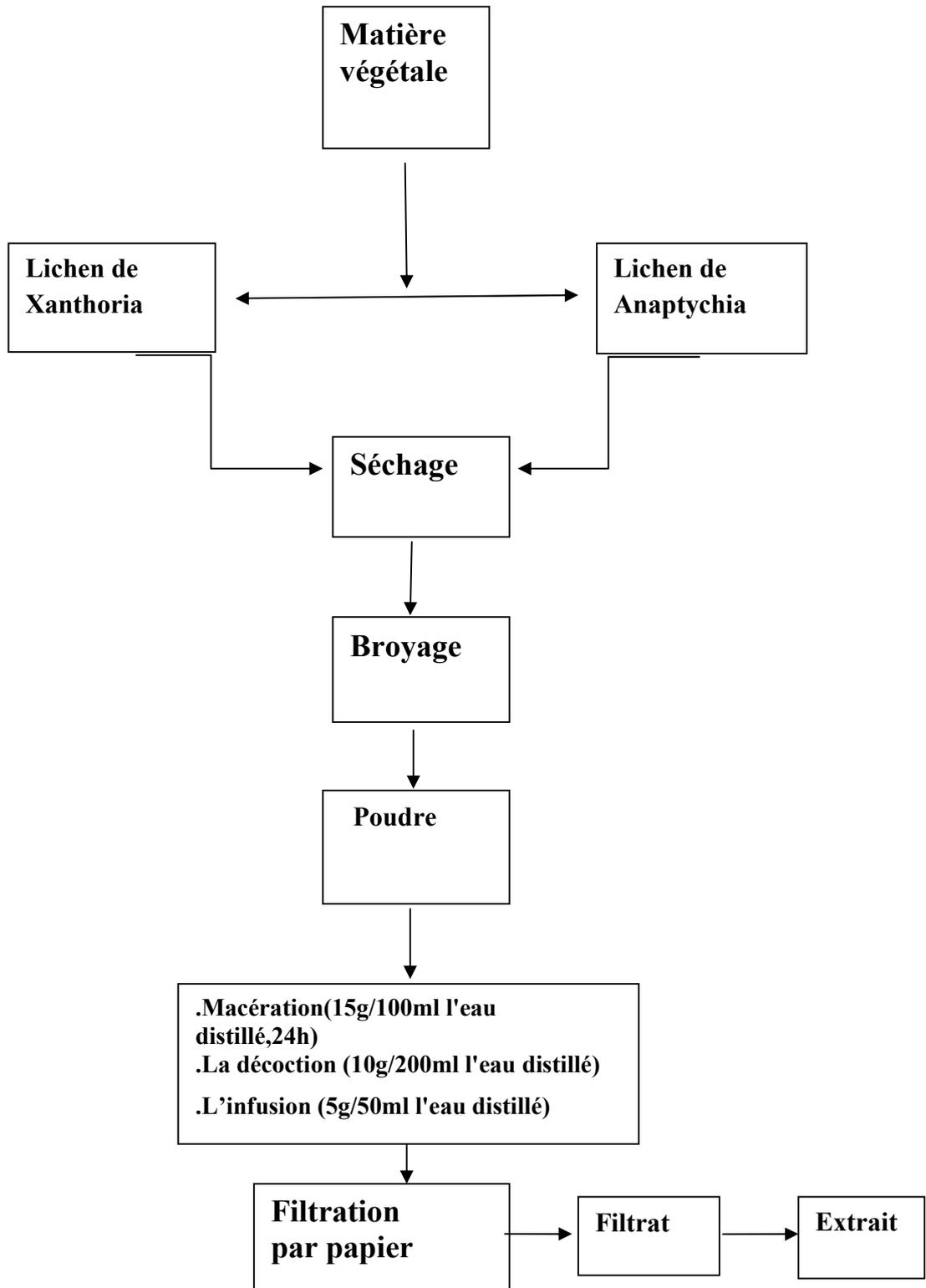


Figure 16: Les étapes adoptées dans la préparation de l'extrait pour les deux espèces (*Xanthoria parietina* et *Anaptychia ciliaris*.)

3. Macération

1. Principe

La macération est une opération qui consiste, à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec un solvant dans la température ambiante pour extraire les principaux actifs (**Kout et Chihel, 2018**).

2. Mode opératoire

15g de poudre de chaque échantillon des lichens ont été macérés dans 150 ml d'eau distillée, pendant 24 heures à 200 tr/min et à 37C⁰ par boîte chauffante, après la macération le mélange a été filtré pour obtenir un extrait macéré aqueux.

4. La décoction

C'est l'opération dans laquelle le solide est plongé dans le solvant liquide mis en ébullition, et elle est cependant très rapide et parfois indispensable (**Ben Amor, 2009**).

1. Mode opératoire

- Ajouter 10g de l'échantillon dans 200 ml d'eau distillée bouillant pendant 30 minutes,
- Laisser le mélange refroidir,
- Filtrer-le pour obtenir l'extrait.

5. L'infusion

L'infusion est le versement de l'eau bouillant sur la matière végétale, en laissant le mélange en repos entre 10 à 15 minutes (**Ben Amor, 2009**).

1. Mode opératoire

- Ajouter 5g de l'échantillon dans 50ml d'eau distillée bouillant pendant 20 minutes,
- Filtrer le mélange à l'aide d'un papier Whatman pour obtenir l'extrait.

6. Méthodes d'analyses

1. Tests phytochimiques

L'objectif des tests phytochimiques est la détection des différentes familles de métabolites secondaires existant dans l'espèce végétale étudiée – dans notre cas les lichens-par des réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration, à l'aide des réactifs spécifiques à chaque famille de composés, ainsi que des examens en lumière ultraviolette (**Hagerman et al., 2000**).

2. Recherche des métabolites

✚ Recherche des alcaloïdes

Pour détecter les alcaloïdes dans nos extraits, nous avons utilisé deux réactifs : Mayer et Wagner. Nous avons ajouté dans deux tubes à essai 1ml de chaque extrait, et déposé 5 gouttes de réactif de Mayer dans le 1er tube, et la même quantité de réactif de Wagner a été ajoutée dans le deuxième tube. L'apparition d'un précipité blanc ou brun, respectivement, indique la présence d'alcaloïdes (Azzi , 2012).

3. Recherche des substances polyphénoliques

✚ Flavonoïdes

Nous avons adopté le protocole suivant pour tester la présence des flavonoïdes, en utilisant 5 ml de notre extrait, puis additionner 5 ml de H₂SO₄ (10%) et après ajouté 5 ml de NH₄OH à 10%. Si la coloration s'accroît par acidification puis vire au bleu violacé en milieu basique, la présence d'anthocyanes est confirmée (Amadou D., 2005).

✚ Test de Tanins

Dans un tube à essai, nous avons introduit 2.5 ml d'extrait à analyser et ajouté 1 ml de solution aqueuse de FeCl₃ à 1 %. En présence de tanins, il se développe une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre (Azzi , 2012).

➤ Tanins catéchiques

Ils sont détectés par l'utilisation du réactif de Stiasny (10 ml de Formol à 30%, et 5ml du HCl concentré). Or, nous avons évaporé à sec cinq (5) ml de chaque extrait. Après, nous avons ajouté 15 ml du réactif de STIASNY au résidu, le mélange a été maintenu au bain- marie à une température entre 80° - 90° C pendant 30 min. L'observation d'un précipité rouge en gros flocons confirme la présence des tanins catéchiques dans le milieu (khorsi , 2013).

➤ Tanins galliques:

Pour identifier les tanins galliques, nous avons utilisé le FeCl₃ à 2 %. En effet, nous avons filtré la solution précédente, ensuite le filtrat est recueilli et saturé d'acétate de sodium. Après, nous avons additionné le mélange par 3 gouttes de FeCl₃ à 2 %, cela provoque l'apparition d'une teinte bleu noirâtre intense dénotant la présence de tanins galliques (khorsi , 2013).

4. les Dérivés Anthracéniques

1. Dérivés anthracéniques libres:

Dans un tube à essai, introduire 1 ml d'extrait à analyser et ajouter 1 ml de NH_4OH puis agiter. La coloration plus ou moins rouge indique la présence d'antraquinones libres(Amadou , 2005).

2. Dérivés anthracéniques combinés : trois types de dérivés

✚ Génine O-hétérosides

Evaporer à sec 10 ml de la solution à analyser, ensuite reprendre le résidu obtenu avec 10 ml d'eau distillée et 1 ml d'HCl. Le mélange chauffé au bain-marie pendant 15 min, après nous l'avons refroidi sous courant d'eau puis filtré. 5 ml de filtrat ont été mélangés avec 5 ml de chloroforme. 1ml de NH_4OH a été ajouté à la phase organique. La présence d'antraquinones est révélée par la coloration rouge plus ou moins(Amadou , 2005).

✚ O-hétérosides à génines réduites

Chauffer 5 ml d'hydrolysât avec quelques gouttes de FeCl_3 , pendant 5 min au bain-marie. Puis, agiter avec 5 ml de chloroforme. Séparer la phase chloroformique et l'introduire dans un tube à essai, avec 1 ml de NH_4OH . Après agitation, la coloration rouge intense révèle la présence des produits d'oxydation des anthranols(Azzi R., 2012).

✚ C-hétérosides : Reprendre la phase aqueuse qui a été conservée au cours de la caractérisation des O-hétérosides, par 10 ml d'eau distillée et ajouter 1 ml de FeCl_3 . Maintenir le tube dans un bain-marie bouillant pendant 30 mn, refroidir et agiter avec 5 ml de chloroforme, soutirer la phase chloroformique dans un tube. Ajouter 1 ml de NH_4OH et agiter. Une coloration rouge plus ou moins intense indique la présence de génines de Chétérosides(Azzi , 2012).

5. Test de mucilage

Nous avons ajouté 1ml de la solution à analyser avec 5 ml d'éthanol absolu. L'apparition d'un précipité floconneux indique la présence de mucilage(Amadou D , 2005).

6. Etude de l'activité antiradicaire par la méthode du DPPH

L'étude de l'activité antiradicalaire de nos extraits a été réalisée par, une méthode largement utilisée dans l'étude de l'activité antioxydante. Cette dernière est basée sur la mesure de la capacité des extraits étudiés à piéger le radical DPPH (2,2- diphényle-1-picrylhydrazyl), qui se caractérise par sa capacité à produire des radicaux libres stables. La présence de ces radicaux DPPH donne lieu à une coloration violette foncée de la solution, qui absorbe aux

environs de 515 nm. La réduction des radicaux DPPH par un agent antioxydant entraîne une décoloration de la solution (Lee et al, 1998; Bozin et al 2008) (Atoui et al., 2005).

Pour réaliser le test du DPPH, nous avons suivi le protocole décrit par **Bougandoura et Bendimerad (2012)**. Dans un tube à essai, un volume de 100 µl de différentes concentrations des extraits préparé par infusion (1 à 5 mg/ml) a été ajouté à 3.9 ml de solution éthanolique de DPPH (0.025 g/l) fraîchement préparée. Après 30 min d'incubation à l'obscurité, la lecture de l'absorbance a été effectuée à 515nm contre un témoin négatif composé du blanc, 100µl de méthanol avec 3.9 ml de la solution méthanolique, et nous avons les comparés avec un standard qui contient l'acide ascorbique à différentes concentrations :0.25 ml,0.5 ml,1 ml, 1.25 ml et 2 ml.

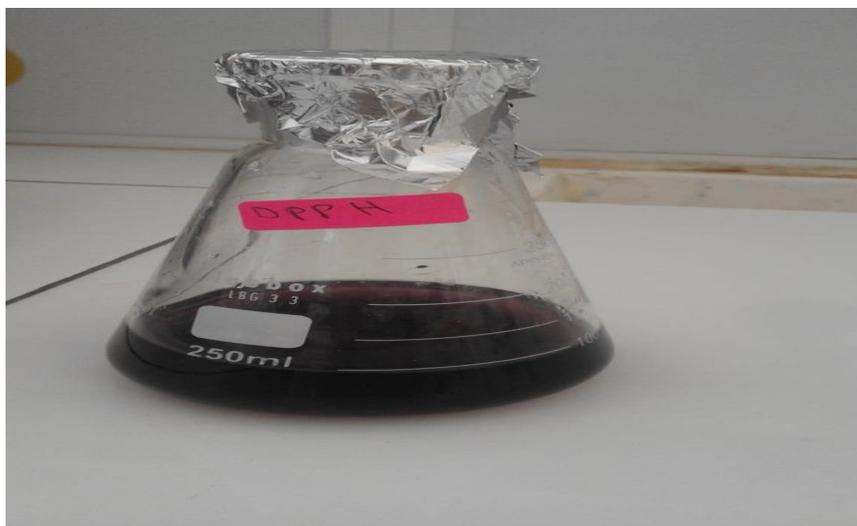


Figure17: Solution de DPPH.

7. Expression des résultats :

Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (I%) du radical libre calculé par cette formule:

$$I\% = \frac{[DO \text{ contrôle} - DO \text{ échantillon}]}{DO \text{ contrôle}} \times 100$$

DPPH (%) : Pourcentage de réduction du DPPH.

DO témoin: Densité optique du tube contrôle négatif.

DO extrait : Densité optique de l'échantillon.

Chapitre III

Résultats et discussion

1. Tests phytochimiques

Tableau 01: Résultats des tests phytochimiques des extraits de *Xanthoria parietina* préparés par les trois méthodes d'extraction.

Métabolites secondaires		Macération en milieu aqueux	décoction	Infusion
Alcaloïdes	Mayer	+++	+++	++
	Wagner	+++	+++	++
Flavonoïdes		++	-	+
Tanins	Simple	+	++	++
	Catéchiques	-	-	-
	Galliques	+	-	-
Dérivés anthracéniques	Libres	++	++	++
	O -hétérosides	-	-	
	O -hétérosides Génines	+++		+++
	C -hétérosides	++		++
Test de mucilage		+++	+++	+++

(-) : absence ; (+) : présence en faible quantité ; (++) : présence en quantité moyenne ; (+++) : Présence en quantité importante.

Tableau 02: Résultats des tests phytochimiques des extraits d'*Anaptichya ciliaris* préparés par les trois méthodes d'extraction.

Métabolites secondaires		Macération en milieu aqueux	décoction	Infusion
Alcaloïdes	Mayer	+++	+++	++
	Wagner	+++	+++	++
Flavonoïdes		++	+	+
Tanins	Simple	+	-	++
	Catéchiques	-	-	-
	Galliques	+	-	-
Dérivés anthracéniques	Libres	++	++	++
	O -hétérosides	-	-	
	O -hétérosides Génines	+++		+++
	C -hétérosides	++		++
Test de mucilage		+++	+++	+++

(-) : absence ; (+) : présence en faible quantité ; (++) : présence en quantité moyenne ; (+++) : Présence en quantité importante.

1. Les alcaloïdes

Les résultats obtenus après les tests phytochimiques, pour la détection des métabolites secondaire dans les extraits *Xanthoria parietina* sont représentés dans le **tableau 01**. Alors que, **le tableau 02**.remporte les résultats des tests phytochimiques de l'*Anaptichya ciliaris*.

Nous avons observé le changement de couleur des extraits des deux espèces,après l'ajout des réactifs: Mayer et Wagner. Une couleur vertedans le tube qui contient l'extrait du *X. parietina*, et pour le deuxième tube de l'*A. ciliaris* la couleur est changé vers le rouge brique. Il y a au même temps une formation des précipités blancs dans les deux tubes, qui confirme la présence des alcaloïdes dans les deux lichens.

Par rapport aux trois méthodes d'extraction utilisées, nous avons remarqué, que la méthode d'extraction n'a aucun effet sur le résultat du test phytochimique des alcaloïdes pour les deux lichens.

2. Les substances polyphénoliques

1. Flavonoïdes

Le test de l'existence des flavonoïdes dans l'extrait du *X. parietina*, par les méthodes macération et infusion est confirmé avec le changement de couleur vers le bleu violacé. Par contre, nous n'avons pas remarqué un changement de la couleur de l'extrait obtenu par décoction.

Pour la deuxième espèce (*A. ciliaris*), nous avons enregistré un changement de couleur au bleu violacé, des extraits résultant des trois méthodes d'extractions.

2. Les tanins

Dans notre partie expérimentale, nous avons essayé de détecter la présence des tanins simples, catéchiques et galliques dans les extraits des *X. parietina* et *A. ciliaris*.

Pour le *X. parietina*, et après l'ajout du FeCl_3 dans l'extrait nous avons observé le développement d'une coloration verdâtre, qui confirme la présence des tanins dans les extraits de ce lichen préparés par les trois méthodes différentes. D'autre part, nous avons transcrit l'absence des tanins catéchiques dans les trois extraits du *X. parietina*. Alors que, dans le cas des tanins galliques, la méthode d'extraction a un impact sur ce test, où nous avons remarqué un changement de couleur seulement dans l'extrait préparé par macération.

Dans les extraits de l'*A. ciliaris*, nous n'avons pas remarqué un changement de couleur pour l'extrait obtenu par décoction, mais le test des tanins prouve, que les extraits préparés par macération et infusion sont riches en tanins.

L'*A. ciliaris* comme le *X. parietina* enregistre l'absence des tanins catéchiques dans les trois extraits. Pour les tanins galliques, nous avons noté leurs absences dans les extraits obtenus par décoction et infusion, et la présence de ces métabolites dans l'extrait préparé par macération est confirmée par l'apparition d'une teinte bleue noirâtre intense.

3. Dérivés anthracéniques

Les résultats du test des anthracéniques libres, confirment la présence de ces métabolites dans les extraits des espèces étudiées. Par contre, nous avons noté l'absence des O –hétérosides dans les différents extraits des *X. parietina* et *A. ciliaris*.

Le test des O –hétérosides génines dans les extraits des *X. parietina* et *A. ciliaris*, préparés par macération et infusion, montre l'absence de ce dérivé anthracénique. Alors que le test des C –hétérosides confirme l'existence de ces métabolites dans ces lichens. En conséquence, nous avons constaté que la méthode d'extraction n'a aucun effet sur la présence des dérivés anthracéniques.

4. Test de mucilage

Le test de la présence du mucilage prouve que, les extraits des lichens (*X. parietina* et *A. ciliaris*), sont riches en substances, où nous avons observé l'apparition des précipités floconneux après l'ajout de l'éthanol absolu ; ainsi que la méthode d'extraction n'a aucun effet sur l'existence du mucilage dans ces lichens.

3. L'activité antioxydante du *X. parietina* et *A. ciliaris* (piégeage du radical DPPH)

Les résultats du test au DPPH du *X. parietina* sont représentés par la figure 18. La courbe révèle que l'extrait de ce lichen possède un pouvoir anti-radicalaire.

Le plus grand taux d'inhibition du *X. parietina* est égal à 38.23% qui est équivalent à la valeur de concentration de : 2ml. Par contre, la concentration : 5 ml a enregistré le plus faible taux d'inhibition avec une valeur de : 33.42 %. Le IC₅₀ de cette espèce correspond à une valeur égale à : 31.37 %. Pour les autres concentrations : 1 ml, 3 ml et 4 ml, nous avons noté des taux d'inhibition : 35.02%, 37.16% et 37.43% respectivement.

Pour la deuxième espèce *A. ciliaris*, nous avons transcrit une valeur de taux d'inhibition de IC₅₀ équivalent à : 15.24% et qui correspond à une concentration égale à : 2 ml. D'autre part, nous avons relevé des résultats obtenus (figure 19) que, le plus faible taux d'inhibition est égale à une valeur de : 12.03 % qui est l'interprétation de la concentration de : 1 ml.

Alors nous constatant des résultats du test au DPPH pour les deux espèces (*X. parietina* et *A. ciliaris*), que *A. ciliaris* a un pouvoir antioxydant plus fort que *X. parietina*.

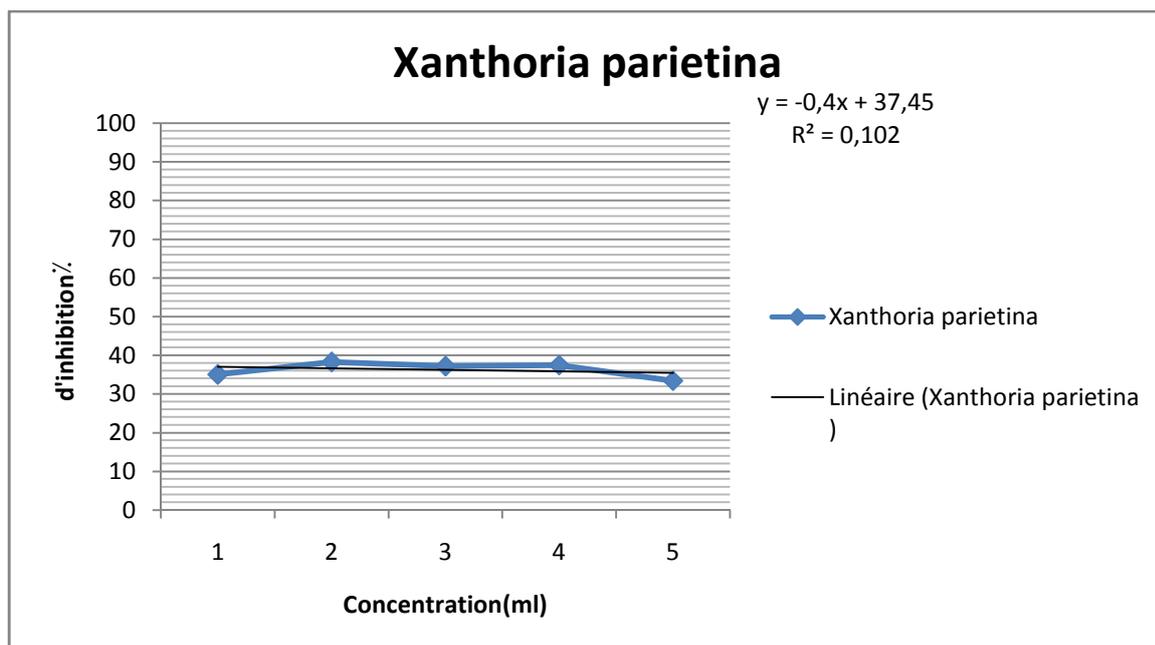


Figure 18: Représentations graphiques de l'évolution du pourcentage d'inhibition du radical DPPH° en fonction des concentrations de extrait *Xanthoria parietina* en ml.

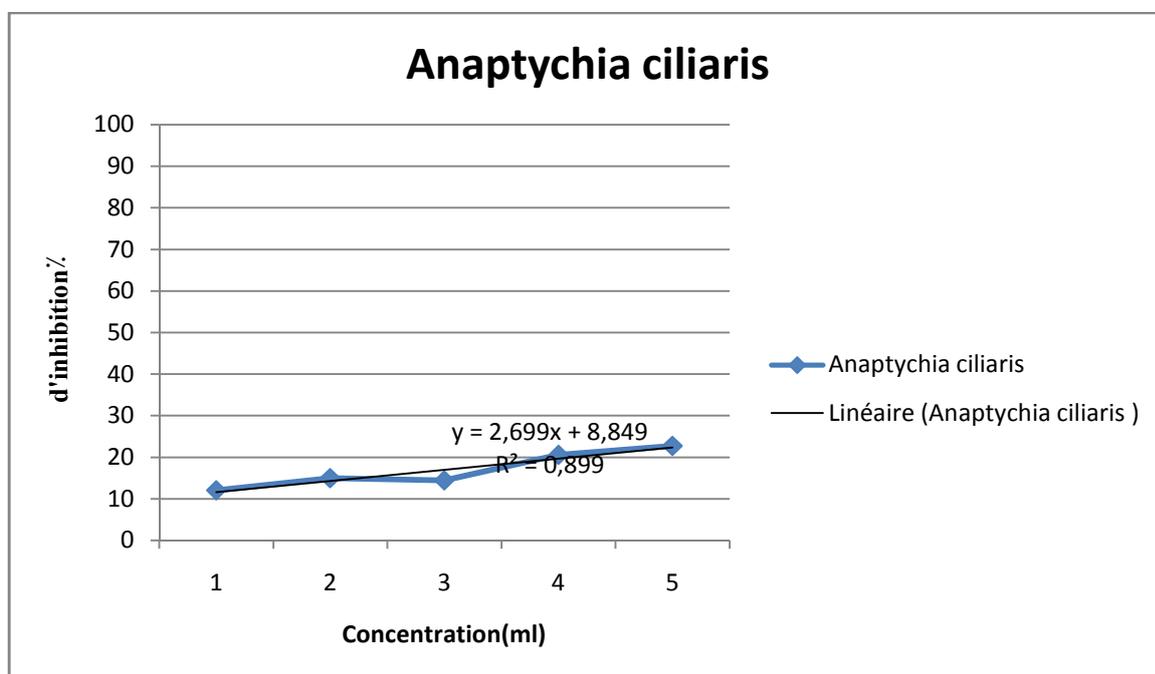


Figure 19: Représentations graphiques de l'évolution du pourcentage d'inhibition du radical DPPH° en fonction des concentrations de extrait *Anaptychia ciliaris* en ml.

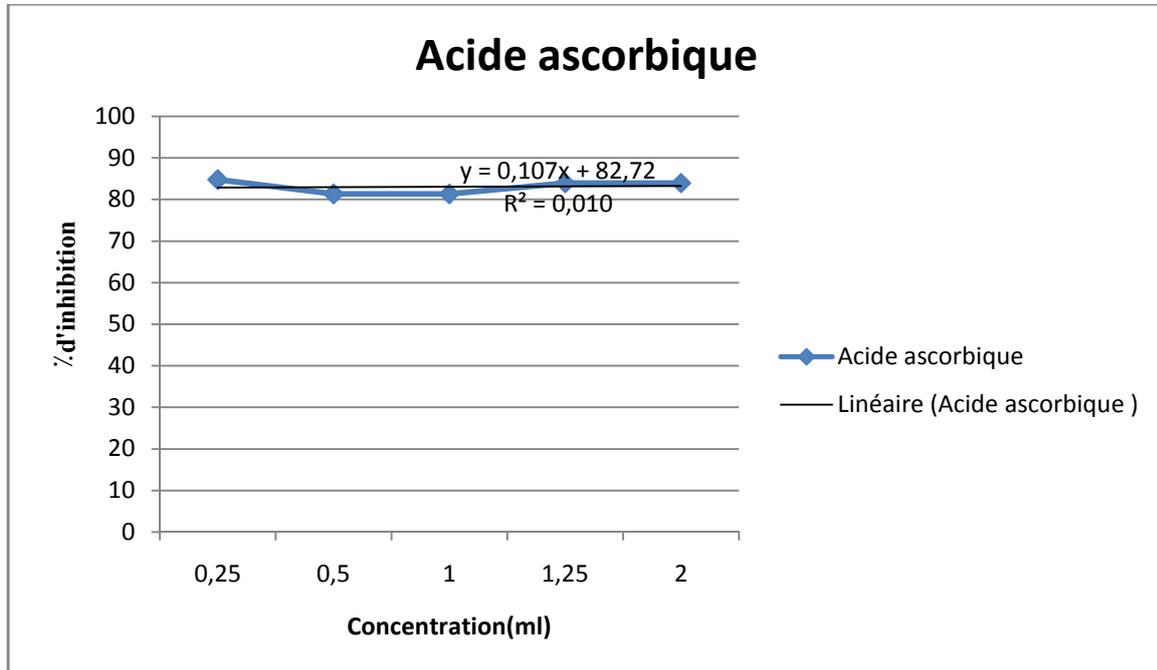


Figure20: Représentations graphiques de l'évolution du pourcentage d'inhibition du radical DPPH° en fonction des concentrations de Acide ascorbique en ml.

Conclusion

Cette étude comparative a pour objectif, de contribuer à la connaissance de certaines caractéristiques phyto-chimiques des deux espèces lichéniques très abondantes dans les forêts de notre région (Djelfa). Le premier lichen est un foliacé : *Xanthoria parietina*, et le deuxième, *Anapychia ciliaris* est une espèce fruticuleuse. Donc nous sommes intéressés au pouvoir antioxydant de ces deux espèces, par la réalisation des tests phyto-chimiques sur des extraits préparés par trois méthodes d'extraction différentes: macération, infusion et décoction.

Les résultats obtenus confirment l'existence des alcaloïdes dans les extraits des espèces l'objet d'étude, malgré que les extraits testés sont préparés par trois méthodes différentes, la coloration observée est identique pour le *X.parietina* et l'*A.ciliaris*.

Le test des flavonoïdes sur les extraits du *X.parietina* affirme la présence de ces métabolites, dans les extraits obtenus par macération et infusion, alors que, ce test a été négatif pour l'extrait préparé par infusion. Par contre, les flavonoïdes ont été présents dans les trois extraits de l'*A.ciliaris*, et nous n'avons enregistré aucun effet de la méthode d'extraction sur la présence de ces substances.

Le test des tanins simples a confirmé la présence de cette métabolite dans les extraits de ces deux espèces, sauf l'extrait de l'*A.ciliaris* eu par décoction. Pendant que, l'absence de tanins catéchiques a été consolidée dans les extraits de ces deux espèces, préparés par les trois méthodes différentes. Pour les tanins galliques, ils ont été présents dans les extraits du *X.parietina* et de l'*A.ciliaris* préparés par macération, mais le test de ces substances a été négatif pour les autres extraits.

Pour les dérivés anthracéniques, les résultats des tests des anthracéniques libres, O – hétérosides génines et C – hétérosides, réalisés sur les différents extraits, ont montré que, le *X.parietina* et de l'*A.ciliaris* sont riches en ces métabolites. Alors que, le test des anthracéniques de type O – hétérosides a été négatif pour les extraits de ces deux espèces.

Le test de l'existence du mucilage dans les différents extraits des espèces étudiées, a été positif, il a prouvé que la méthode de préparation de l'extrait n'a aucun impact sur la présence de cette substance.

Enfin, le test au DPPH a montré que le *X.parietina* et de l'*A.ciliaris* ont un pouvoir antioxydant important où, le taux d'inhibition IC_{50} de l'extrait du *X.parietina* a atteint une

Conclusion

valeur égale à : 31.37 %, tandis que la valeur du IC_{50} de la deuxième espèce (*A.ciliaris*) a enregistré un taux équivalant à : 15.24%. Donc le pouvoir du lichen : *X.parietina*. est plus important par rapport à : l'*A.ciliaris*.

Référence bibliographique:

A

- **AIT HAMMOU, M. 2015.** analyse taxonomique et écologique des lichen de la région de Tiaret. Thèse de doctorat .Université Ahmed Benbella, Oran (Algerie), 2015, 6p.
- **Agroum S., et Koucha S., 2016.** Evaluation de l'activité antioxydante in vivo et hypoglycémante des composés phénoliques d'extraits du lichen *xanthoria parietina* de la région de Boumerdès. Mémoire M2. Université Boumerdès. 112p.
- **Amlan, K., et Jyotisna, P. S. (2010).** A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. *Phytochemistry*, 71, 1198 – 1222.
- **ATOUI. A.k., MANSOURI. A., BOSKOU. G., KEFALAS. P. 2005.** Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chemistry* 2005; 89: 27-36.
- **AZZI R., 2012.** Contribution à l'étude de plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète sucré dans l'ouest algérien : enquête ethno pharmacologique, analyse pharmaco-toxicologique de figuier (*Ficus carica*) et de coloquinte (*Citrullus colocynthis*) chez le rat Wistar. Thèse de doctorat, Tlemcen, p49.

B

- **BEN AMOR B. 2009.** Maîtrise de l'aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction de principes actifs : texturation par détente instantanée contrôlée (DIC). Thèse de doctorat. Université De La Rochelle, P3.
- **Ben khalifa A., Madani L., N., Bouti K, Toumi. M. 2013.** *Pseudevernia furfuracea* (L) Zopf. (1903), un lichen d'utilité pédagogique nationale. Lettre d'information CNDRB, Alger.

- **Benhanifia K.2015.**RAPPORT SUR L'ANALYSE DES AGENTS ET CAUSES DE LA DEFORESTATION ET DE LA DEGRADATION DANS LES SITES PILOTES DU PROJET FFEM DJELFA-ALGERIE,CTS, Arzew, Algérie,p01.
- **BOUGANDOURA. N. ,BENDIMERAD. N. 2012.**Evaluation de l'activité antioxydante des extrais aqueux et méthanolique de *satureja calamintha ssp.Nepata* (L.) Briq. Revue «Nature et Technologie ». B- Sciences Agronomique et Biologique, n° 09/ Juin 2013. Pages 14 à 19.
- **BOULLARED B.1997.** Dictionnaire des Plantes et Champignons. In : (EDITEUR. SCIENTIFIQUE, TECHNIQUE ET MEDICALES, éd.),(5, rue Rousselet, 75007)Paris, p864.
- **Bouziane M. 2006.**Etude physico-chimique de l'accumulation de métaux lourds par les lichens. Thèse Doct. Université Sci. et Tech. Lille. 185p.
- **Bozin B., Mimica- dukic N., samojlikl ., Goran A., Igic R; 2008.**Phenolics as antioxydants in garlic(*Allium sativum* L.,Alliaceae) .Food Chemistry,; 111:925-9.

C

- **CARPENTIER C .2016.**Investigations phytochimiques de lichens soumis au stress de la nordicité. Thèse de doctorat. université laval. Québec, Canada, P11.
- **Cardon, D. et Du Chatenay G., 1990.**Guide des teintures naturelles: Plantes, lichens, champignons, mollusques et insectes. Delachaud et Niestlé, 400 p.
- **CLAUZADE G ., ROUX C.1987.** Généralités sur les lichens et leur détermination. Bulletin de la société botanique du centre-ouest, Dignac (France) nouvelle série, tome 18 ,p148,p151,p153

- **CLAUZADE G ., RONDON Y .1966.**Types morphologiques et types biologiques chez les Lichens, Bulletin de la Société Botanique de France, Facultés des Scierwes et de Médecine-Pharmacie, Marseille,1p.
- **COSTE C.2011.** Écologie et fonctionnement des communautés lichéniques saxicoles-hydrophiles. Biodiversité et Ecologie, Thèse de doctorat,- Université Paul Sabatier - Toulouse III, 9p.

D

- **DAHL W.2003.**contribution à l'étude des métabolites secondaires chez les lichens fructiculeux *cladina stellaris* et *cladina rangiferina*. thèse de doctorat. université du québec à chicoutmi. Canada, 14p.
- **DIALLO A.2005.**Etude de la Phytochimie et des activités biologiques de *SyzygiumGuineense*Willd. (*Myrtaceae*),Thèse de docteur en pharmacie, Mali,p41,p43.
- **DIEU A. 2015.** Recherche de molécules antimicrobiennes d'origine lichénique Etude phytochimique de trois lichens & approche synthétique de deux composés actifs. Thèse doctorat. Université de Limoges.28P, 299p.

G

- **Greathead, H. (2003).** Plants and plant extracts for improving animal productivity. Proceedings of The Nutrition Society, 62, 279 – 290.
- **GREGORY G., DIMIJIAN M.2003.**Les lichens et la qualité de l'air. Fascicule enseignants. Projet Interreg III-RICSTI.UCL Université catholique de louvain.p5,p11.

H

- **HAGERMAN AE, MULLERI, MAKKAR HPS .2000.**Quantification of tanins in tree foliage.FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in food and Agriculture.Vienna, 26p.
- **Happe, D. 2016.**Connaissance et conservation des lichens. La Lettre de l'arboriculture. N°77. Pp : 9-12.

I

- **Ismed F. 2012.**Phytochimie de lichens du genre *Stereocaulon*: étude particulière de *S. halei Lamb* et *S. montagneanum Lamb*, deux lichens récoltés en Indonésie.Thèse Doct. Université de Rennes 1. 285p.

J

- **J-C MASSON. 2014.**Les Lichens, Bio-Indicateurs De La Qualité De L'air, 3p.

K

- **KOUT M., CHIHTEL A.2018.** Activité antibactérienne et caractéristiques phytochimiques des lichens issus de l'est algérien. Master. Université des Frères Mentouri Constantine(Alger),p18.
- **KHORSI k.2013.**Contribution à l'étude chimique du ROMARIN (*Rosmarinus officinalis*L) ALGÉRIEN. Licence. Université Moulay Tahar - Saida(Alger),p42.

L

- **LAGARDE A .2017.**Études phytochimiques du lichen *Nephroma laevigatum* et de ses champignons endolichéniques. Évaluation des activités antiprolifératives et anti-biofilms.. Chimie organique. Thèse de doctorat. Université de Limoges(France).40p.

- **Lee S.K., Mbwambo Z.H, Chung H.S, L, Games E.J.C, Metha R.G. 1998.** Evaluation of the the antioxidant potential of natural products. *Combinatorial Chemistry and High Throughput Screening*; 1:35-46

M

- **MURRAY N. 2008.** Biologie Végétale: Structure, fonctionnement, écologie et biotechnologies. In: (Pearson Education France, Ed), (47 Bis, rue des Vinaigriers 75010). Paris, p406.

N

- **Nil, K. R. 2005.** Glossary of biotechnology terms. CRC Press (Taylor and Francis Group). 4^{ème} édition. 402p.

O

- **Ozenda P. et Clauzade G., 1970.** Les lichens: étude biologique et flore illustrée. Ed: Masson et C^{ie}. Paris. 816p

P

- **PARROT D .2016.** Etude de quatre lichens marins, maritime ou terrestre et des bactéries associées : Evaluation de la diversité bactérienne et recherche de métabolites d'intérêt. thèse de doctorat. Université européenne de Bretagne, P24.
- **PIERRE A .2016.** Analyses de lichens par spectrométrie de masse : déréplication et his- tolocalisation. Chimie analytique. Thèse de doctorat. Université Rennes 1, Français, 17p.

S

- **Sen-Salerno, M. Blakeway, J., 1987.**La mousse de chêne, une base de la parfumerie. Revue pour la Science, N° 115, pp: 82-92 in Bull. Ass. fr.Lichénologie, Paris, 12 (1): 12-14.
- **Signoret J. 2002.** Etude de la qualité de l'air en Lorraine-Nord par les lichens. Thèse Doct. Université de Metz. 139p.
- **Serradj M., AhmedA., Boumedris Z., Djebbar M., Tahar .A. 2014.**Réponses d'antioxydants chez *Flavoparmelia caperata* (L.) Hale à la pollution atmosphérique au niveau de deux zones urbaine et semi-urbaine dans la région d'Annaba (Est de l'Algérie). Pollution atmosphérique,N° 221. 13p.
- **SLIMANI A , Ahmed A, SERRADJ M , Hamel T, COSTE C.2013.** Contribution a l'étude de la flore lichénique dans la zéenaie de Bougous(foret de Ramel Tonal) au niveau du Parc National d'El Kala Nord Est Algérien, 23p.

T

- **Taguchi, H.; Sankawa, U.; Shibata, S.1966.** Tetrahedron Letters, 42, 5211-5214.

ANNEXES

Annexes

Annexe 01

Les réactifs de Mayer et de Wagner sont préparés comme suit :

Réactif de Mayer

Solution A : 1.358 g de chlorure de mercure (HgCl_2) sont dissous dans 60ml d'eau distillée.

Solution B : 5g d'iode de potassium (KI) sont dissous dans 10ml d'eau distillée. Les deux solutions sont mélangées et le volume final est ajusté à 100 ml avec l'eau distillée.

Réactif de Wagner : Dans 2g de KI et 1.27g de I_2 sont dissous dans 75 ml d'eau distillée. Le volume obtenu est ajusté à 100ml avec l'eau distillée.

La réactif de Stiansy est préparé comme suit:

Réactif de **STIASNY** : 10 ml de Formol a 30%, et 5ml de HCl concentré sont ajoutés a 5 ml de la solution a tester. Le mélange est chauffé au bain-marie pendant 15 mn.

Annexes

Annexe 02

MATERIEL ET REACTIF

Matériels	Réactifs
<ul style="list-style-type: none">- Balance électrique- Barreau magnétique- Béchers- Micropipettes- Papier aluminium, Papier filtre watman- spatules- Spectrophotomètre UV- Tubes à essais	<ul style="list-style-type: none">- Ammoniac (NH₄OH)- Chloroforme (CHCl₃)- Eau distillé- Ethanol- Méthanol- Acide chlorhydrique(HCL)

Annexe03



Spectrophotomètre UV

Annexe04



Appareille de centrifuge.

Annexe05



Balance analytique

Résumé

Le but du présent travail est l'étude comparative de trois techniques d'extraction sur l'étude phyto-chimique et les activités anti-oxydantes des lichens « *Xanthoria parietina* et *Anaptychiaciliaris* ». Extraction par macération en milieu aqueux, extraction par décoction, extraction par infusion. Le screening phyto-chimique révèle la présence des: **Alcaloïdes, Dérivés anthracéniques, Mucilage**, dans tous les modes d'extraction mais en quantités différentes. Les **Tanins, C -hétérosides de génines et C -hétérosides** ont été présents en quantité faible, moyenne et importante sur nos échantillons, sauf l'absence des **Tanins** dans l'extraction par décoction chez le lichen *Anaptychia ciliaris*. **Tanins catéchiques** et **O -hétérosides** ont été négatifs sur nos échantillons, les **Tanins gallique** présents en faible quantité dans l'extraction par macération. L'activité anti-oxydante étudiée avec la méthode du test anti-radicalaire (DPPH), la meilleure inhibition du radical libre DPPH est celui de l'extrait de *Anaptychia ciliaris* qui a donné un IC50 de 15.24%, et dans l'extrait de *Xanthoria parietina* meilleure inhibition. 38.23 %. L'activité anti-radicalaire de l'acide ascorbique par la méthode de DPPH c'est la meilleure avec un taux de 84.75%.

Mots clés: lichens, *Xanthoria parietina*, *Anaptychia ciliaris*, activité anti-oxydante, DPPH.

Summary

The purpose of this present work is a comparative study of three extraction technics on the phytochemical study and the antioxidant activities of the lichens of *Xanthoria parietina* and *Anaptychia ciliaris*. Extraction by maceration in an aqueous medium, extraction by decoction, extraction by infusion.

Phytochemical screening reveals the presence of: **Alkaloids, Anthracene derivatives, Mucilage**, in all manner of extractions but in different quantities. **Tannins, C-heterosides of Genins and C-heterosides** were present in small and medium and large quantities on our samples, except absence Tannins in the preparation by decoction in the lichen *Anaptychia ciliaris*. **Catechin tannins** and **O-heterosides** were negative on our samples, **Gallic tannins** presence in small amounts in the preparation by maceration. The antioxidant activity studied with the anti-free radical test method (DPPH), the best inhibition of the free radical DPPH is that of the extinguishing *Anaptychia ciliaris* which gave an IC50 of 15.24%, and in the extract of *Xanthoria parietina* better inhibition 38.23%. The antiradical activity of Ascorbic acid by DPPH method is the best because about 84.75%.

Key words: lichens, *Xanthoria parietina*, *Anaptychia ciliaris*, antioxidant activity, DPPH.

المخلص

الغرض من هذا العمل هو الدراسة المقارنة لثلاث تقنيات استخلاص عن الدراسة الكيميائية النباتية وأنشطة مضادات الأكسدة في الأشنات *Xanthoria parietina*, *Anaptychia ciliaris* الاستخلاص بواسطة النقع في وسط مائي، الاستخلاص بواسطة الاغلاء، الاستخلاص بالتسريب. يكشف الفحص الكيميائي النباتي عن وجود: فلويدات، مشتقات أنتراسين، صمغ، في جميع طرق الاستخراج ولكن بكميات مختلفة **Tanins, C-hétérosides de génines, O-hétérosides** كانت موجودة بكميات صغيرة ومتوسطة وكبيرة على عينات لدينا، باستثناء الغياب **Tanins** في استخراج **O-hétérosides** بواسطة الغلي في اشنة *Anaptychia ciliaris*، كانت سلبية على عينات لدينا **Tanins catéchiques** و **O-hétérosides** موجودة بكميات صغيرة في استخلاص بواسطة النقع تم دراسة نشاط مضادات الأكسدة باستخدام طريقة الاختبار الجذري المضاد DPPH أفضل تثبيط للجذور الحرة DPPH هو أن مستخلص *Anaptychia ciliaris* أعطى IC50 من 15.24%، وفي مستخلص *Xanthoria parietina* تثبيط أفضل 38.23%. النشاط المضاد للجذور لحمض الاسكوربيك بطريقة DPPH إنه الأفضل مع معدل 84.75%.

كلمات البحث: الأشنات، *Xanthoria parietina*، *Anaptychia ciliaris*، نشاط DPPH