

Résumé

Ce travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation des extraits hydro-éthanolique de la partie aérienne de *Ammi visnaga* et d'un biodéchet issu de *Zea mays* comme antioxydants et inhibiteurs de la corrosion d'un acier doux dans un milieu HCl 1M. Dans ce travail, nous avons étudié l'effet du solvant sur l'extraction des polyphénols par soxhlet et par ultrasons. De même, la composition chimique des différents extraits a été réalisée par un screening phytochimique ainsi que par l'analyse quantitative des phénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés. Le fractionnement et l'identification de quelques familles de molécules polyphénoliques pour les deux plantes ont été réalisés. L'évaluation de l'activité antioxydante des différents extraits et fractions d'extraits a été testée par méthodes DPPH^{*}, FRAP, β -carotène et par l'activité antioxydante totale. L'examen de l'action inhibitrice de ces extraits contre la corrosion de l'acier doux en milieu HCl 1M, par des méthodes électrochimiques (transitoires et stationnaires) a été réalisé et ceci dans le but de déterminer la famille de molécules responsables de l'inhibition de la corrosion et aussi pour étudier l'effet synergétique des extraits de plantes riches en polyphénols. Les résultats montrent que la méthode d'extraction ainsi que le solvant étudié ont un effet sur la composition chimique des extraits et sur les teneurs en polyphénols et par conséquent sur l'activité antioxydante des extraits. Cependant, l'extrait hydro-éthanolique obtenu par la méthode des ultrasons, pour les deux plantes, donne un meilleur résultat en termes de phénols totaux et en termes d'activité antioxydante par rapport à l'extrait obtenu par la méthode de soxhlet. Le fractionnement des polyphénols obtenus à partir des deux plantes, montre que les fractions n-butanolique et acétate d'éthyle sont respectivement riches en flavonoïdes et en tanins condensés. Les études électrochimiques montrent que l'effet inhibiteur des extraits hydro-éthanoliques est dû aux tanins condensés et aux flavonoïdes particulièrement la catéchine et le flavone. L'étude de l'effet synergétique révèle que le mélange des deux extraits hydro-éthanoliques est en faveur d'une nette amélioration de la résistance de transfert de charges. L'étude de l'effet de l'élévation de la température pour la fraction n-butanolique de *Zea mays*, avec et sans inhibiteur, révèle un léger impact sur l'efficacité inhibitrice étudiée. Dans ce travail, les paramètres cinétiques et thermodynamiques ont été estimés. Les résultats montrent l'existence d'une forte corrélation entre l'activité antioxydante et anticorrosion.

Mots clés : *Ammi visnaga*, *Zea mays*, extraits, activité antioxydante, fractions, corrosion, acier doux, corrélation, effet de synergie, optimisation.

Abstract

This work is part of the valorization of hydro-ethanolic extracts from the aerial part of the *Ammi visnaga* and a bio-waste from *Zea mays* as antioxidants and corrosion inhibitors for a mild steel in 1 M HCl medium. In this work, we studied the effect of solvent on the extraction of polyphenols by two techniques; Soxhlet and ultrasound. In addition, the chemical composition of the different extracts was carried out by phytochemical screening as well as the quantitative analysis of total phenols, flavonoids and condensed tannins. In addition, the fractionation, as well as the identification of the families of polyphenolic molecules for both plants were carried out. In addition, the evaluation of the antioxidant activity of the different extracts and fractions was tested by DPPH^{*}, FRAP, β -carotene and total antioxidant activity. The examination of the inhibiting effect of the latter extracts was conducted by electrochemical methods (transient and stationary) in order to determine the family of molecules responsible for corrosion inhibition. In addition, the study of the synergetic effect between the extracts rich in total phenol content for the two plants studied was also considered. The results show that the extraction method as well as the solvent studied have an effect on the chemical composition of the extracts as well as on the polyphenol contents and consequently on the antioxidant activity of the extracts. However, the hydro-ethanolic extract obtained by the ultrasound method, for both plants, gives a better result in terms of total phenols and antioxidant activity compared to the extract obtained by the Soxhlet method. The fractionation of polyphenols from both plants shows that the n-butanolic and ethyl acetate fraction is rich in flavonoids and condensed tannins, respectively. Electrochemical studies show that the inhibiting effect of the hydro-ethanolic extract of *Ammi visnaga* and *Zea mays* is due to the family of condensed tannins and flavonoids, especially catechin and flavone. The study of the synergistic effect shows that the mixture of the two hydro-ethanolic extracts favors a clear improvement in the resistance of load transfer. The study of the effect of temperature increase for the n-butanolic fraction of *Zea mays* on the behavior of mild steel in 1 M HCl with and without inhibitor reveals a slight impact on the inhibiting efficiency, which decreases slightly with increasing temperature for the n-butanolic fraction of *Zea mays* studied. All results show that there is a strong correlation between antioxidant and anticorrosion activity.

Keywords: *Ammi visnaga*, *Zea mays*, extracts, TF, TC, TP, antioxidant activity, fractions, corrosion, mild steel, correlation and synergistic effect, optimization.

| | |
|---|-----------|
| INTRODUCTION GENERALE | 1 |
| Chapitre I :Généralités sur les substances naturelles et leurs activité antioxydantes et anticorrosion | 1 |
| A. Substances naturelles végétales | 4 |
| I. Généralités sur les métabolites secondaires | 4 |
| I.1. Classification des métabolites secondaires | 5 |
| II. Méthodes d'extractions des polyphénols | 9 |
| II.1. Méthodes conventionnelles | 9 |
| II.2. Méthodes nouvelles d'extraction | 10 |
| III. Méthodes d'analyse | 13 |
| IV. Quantification des polyphénols par spectrophotométrie (UV-visible) | 12 |
| V. Propriétés antioxydantes des composés phénoliques | 13 |
| VI. Critères de sélection des plantes objets d'études | 14 |
| VII. Monographie des espèces sélectionnées | 14 |
| VIII.Optimisation des méthode d'extraction par ultrasons (plans d'expériences) | 17 |
| VIII.1. Définition d'un plan d'expérience | 17 |
| VIII.3. Méthodologie des surfaces de réponse | 18 |
| VIII.5.1. Analyse de variance | 19 |
| VIII.5.2. Coefficient de <i>p</i>-value | 19 |
| VIII.5.3. Coefficient de détermination | 20 |
| VIII.5.4. Validation du modèle | 20 |
| VIII.5.5. Courbe d'iso-réponses et surface de réponse | 21 |
| B. Antioxydants et activité antioxydante | 22 |
| I. Généralité sur les antioxydants | 22 |
| I.1. Définition | 22 |
| I.2. Radicaux libres | 22 |
| I.3. Espèces réactives de l'oxygène | 22 |
| I.4. Efficacité des antioxydants | 23 |
| II. Classification des antioxydants | 23 |
| II.1. Antioxydants non enzymatique | 25 |
| II.2. Antioxydants de synthèse | 25 |
| III. Méthodes de déterminations de l'activité antioxydante | 25 |
| III.1. Test DPPH' (<i>1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl</i>) | 25 |
| III.2. Pouvoir réducteur (<i>FRAP, ferric reducing antioxydant power</i>) | 25 |
| III.3. Méthode de blanchissement de β-carotène | 26 |
| III.4. Méthode de l'activité antioxydante totale (AAT) | 26 |
| C. Généralités et revue bibliographique sur l'inhibition de la corrosion | 27 |
| I. Définition et généralités sur la corrosion | 27 |
| I.1.Définition | 27 |
| I.2. Facteurs de corrosion | 28 |
| I.3. Généralités sur les aciers | 28 |
| II. Protection de la corrosion par les inhibiteurs | 29 |

Table des Matières

| | |
|--|-----------|
| II. 1. Inhibiteurs et inhibition | 29 |
| II.2. Classification des inhibiteurs | 30 |
| II.2.1. Nature chimique des inhibiteurs | 30 |
| II.2.2. Mécanismes d'action électrochimique | 31 |
| II.3. Facteurs influençant le taux d'inhibition en milieu acide | 33 |
| II.4. Analyse de surface | 35 |
| III. Substances naturelles d'origine végétale comme inhibiteurs de corrosion | 36 |
| III.1. Mécanisme d'action des inhibiteurs végétaux | 36 |
| IV. Conclusion | 39 |
| Chapitre II: Matériels et Méthodes | 50 |
| I. Matériels | 51 |
| I.1. Présentation de la zone d'étude | 51 |
| I.2. Préparation des échantillons | 52 |
| I.2.1. <i>Ammi visnaga</i> et <i>Zea mays</i> | 52 |
| II. Méthodes d'extraction | 52 |
| II.1. Extractions des substances naturelles à partir du matériel végétal | 52 |
| II.1.1. Extraction par soxhlet | 52 |
| II.1.2. Extraction par ultrasons | 52 |
| II.2. Solvants d'extraction | 52 |
| II.3. Protocoles d'extractions des flavonoïdes et tanins | 52 |
| II.3.1. Fractionnement des flavonoïdes à partir <i>l'Ammi visnaga</i> et les stigmates de <i>Zea mays</i> | 53 |
| II.3.3. Fractionnement des tanins à partir <i>l'Ammi visnaga</i> | 54 |
| II.5. Tests phytochimiques | 55 |
| II.6. Dosage des composés polyphénoliques | 57 |
| II.6.1. Dosage des phénols totaux | 57 |
| II.6.1.1. Dosage des flavonoïdes | 58 |
| II.6.1.2. Dosage des tanins condensés | 58 |
| II.7. Analyse par Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC) | 58 |
| II.8. Etude de l'activité antioxydante par les méthodes colorimétriques | 58 |
| II.8.1. Méthode de DPPH[•] | 59 |
| II.8.2. Test du pouvoir réducteur de fer (FRAP) | 60 |
| II.8.3. Méthode de l'activité antioxydante totale (AAT) | 60 |
| II.8.4. Test de blanchissement du β-carotène | 61 |
| II.9. Démarches d'un plan d'expérience | 61 |
| II.9.1. Etapes de la réalisation d'un plan d'expérience | 61 |
| III. Méthodes d'études de la corrosion | 61 |
| III.1. Méthode gravimétrique | 62 |
| III.2. Méthodes électrochimiques | 62 |
| III.2.1. Méthode stationnaire | 62 |
| III.2.2.1. Principe | 67 |
| III.2.2.2. Re-présentation des spectres d'impédances | 68 |

Table des Matières

| | |
|---|----|
| III.2.2.3. Modélisation par un circuit équivalent | 68 |
| IV. Tests électrochimiques | 69 |
| IV.1. Le matériau utilisé | 70 |
| IV.2. Préparation du matériau et du milieu corrosif | 70 |
| IV.3. Protocole expérimentale des essais électrochimiques | 70 |
| V. Analyse de surface | 70 |
| Chapitre III : Effet du solvant et du procédé d'extraction, sur les activités antioxydante et inhibitrice de la corrosion d'un acier doux dans HCl 1M, des extraits de <i>Ammi visnaga</i> et de ses fractions phénoliques | 56 |
| <u>Article 1:</u> Evaluation of anticorrosion and antioxidant activities of extract of <i>Ammi visnaga</i> | 75 |
| I. Introduction | 77 |
| II. Materials and methods | 78 |
| II.1. Vegetal material and extraction | 78 |
| II.2. Materials | 78 |
| III. Methods | 78 |
| III.1. Qualitative phytochemical analysis | 78 |
| III.2. Determination of total phenolic content | 78 |
| III.3. Determination of total flavonoïds contents | 79 |
| III.4. Determination of condensed tannins | 79 |
| IV. Antioxidant activity evaluation | 79 |
| IV.1. DPPH' methods | 79 |
| IV.3. The total antioxidant capacity | 80 |
| V. Anti-corrosion activity evaluation | 80 |
| V.1. Mass-loss measurements (mL) by gravimetric methods | 80 |
| V.2. Potentiodynamic polarization (PP) measurements | 81 |
| V.3. Electrochemical impedance spectroscopy (EIS) measurements | 81 |
| VI. Results and discussion | 81 |
| VI.1. The antioxidant potential of ethanolic extract of <i>Ammi visnaga</i> | 81 |
| VI.1.1. Phytochemical screening | 81 |
| VI.1.2. Determination of total phenols, flavonoïds and condensed tannins | 82 |
| VI.1.3. Evaluation of the antioxidant character of ethanolic extract of <i>Ammi visnaga</i> by DPPH | 84 |
| VI.1.4. Evaluation of the total antioxidant capacity by phosphomolybdenum method | 85 |
| VI.2. The anticorrosion potential of ethanolic extract of <i>Ammi visnaga</i> | 86 |
| VI.2.1. Mass-loss measurements by gravimetric methods | 86 |
| VI.2.2. Potentiodynamic polarization (pp) measurements | 86 |
| VI.2.3. Electrochemical impedance spectroscopy (EIS) measurements | 88 |
| II.4. Adsorption isotherm | 91 |
| VII. Conclusions | 91 |
| <u>Article 2:</u> Influence of phenolic compounds on antioxidant and anticorrosion activities of <i>Ammi visnaga</i> extracts obtained ultrasonically in three solvent systems | 95 |
| I. Introduction | 97 |
| II. Experimental part | 98 |

Table des Matières

| | |
|---|-----|
| II.1. Vegetal material and extraction | 98 |
| II.2. Screening phytochemical analysis | 98 |
| II.3. Determination of total phenol content (TPC) | 98 |
| II.4. Determination of total flavonoids content (TFC) | 99 |
| II.5. Determination of condensed tannins (CT) | 99 |
| II.6. Antioxidant activity determined by DPPH' | 99 |
| II.7. Electrochemical test | 100 |
| III. Results and discussion | 101 |
| III.1. Extraction yield of various extracts of <i>Ammi visnaga</i> | 101 |
| III.2. Screening phytochemical analysis | 102 |
| III.3. Determination of TPC | 102 |
| III.4. Determination of TFC | 103 |
| III.5. Determination of CT | 103 |
| III.6. Determination of antioxidant activity by the DPPH' method | 104 |
| III.7. Correlation between antioxidant activity and phenolic compounds | 105 |
| III.8. Anticorrosion activity | 106 |
| III.8.1. PP measurements | 106 |
| III.8.2. EIS measurements | 108 |
| III.8.4. Relation between antioxidant and inhibition efficiency of <i>Ammi visnaga</i> extracts | 114 |
| IV. Conclusion | 115 |
| Article 3: Phenolic fraction of <i>Ammi visnaga</i> extract as environmentally friendly antioxidant and corrosion inhibitor for mild steel in acidic medium | 119 |
| I. Introduction | 121 |
| II. Material | 122 |
| II.1. Vegetal material | 122 |
| III. Methods | 123 |
| III.1. Fractionation of polyphenols | 123 |
| III.1.1. Flavonoids extraction | 123 |
| III.1.2. Tannins extraction | 123 |
| III.1.3. Phytochemical screening | 123 |
| III.1.4. Quantitative analyses (TPC, FC, CT) | 123 |
| III.2. Antioxidant activity | 124 |
| III.2.1. DPPH' method | 124 |
| III.2.2. β -carotene method | 124 |
| III.2.3. Ferric-reducing antioxidant power (FRAP) method | 124 |
| III.2.4. Determination of total antioxidant capacity (TAC) | 125 |
| III.2.5. HPLC method for identification of flavonoids and tannins | 125 |
| III.3. Anticorrosion activity | 126 |
| IV. Results and discussion | 126 |
| IV.1. Extraction yield | 126 |
| IV.2. Phytochemicals screening of F3 obtained from fractionation of tannins | 126 |
| IV.3. Contents of FC and TPC in different phenolic fractions issued from fractionation of flavonoids | 127 |

Table des Matières

| | |
|--|-----|
| IV.4. Contents of TPC and CT in different fractions issued from fractionation of tannins | 127 |
| IV.4.1. Evaluation of antioxidant activity | 128 |
| IV.4.1.1. DPPH' method | 128 |
| IV.4.1.2. Ferric-reducing antioxidant power (FRAP) method | 129 |
| IV.4.1.3. β -carotene and total antioxidant capacity method (TAC) | 129 |
| IV.5. HPLC analysis | 130 |
| IV.5.1. Fractionation of flavonoids | 130 |
| IV.5.2. Fractionation of tannins | 131 |
| V. Anticorrosion activity | 133 |
| V.1. Potentiodynamic polarization study (PP) | 133 |
| V.2. EIS measurements | 138 |
| V.3. Adsorption isotherms | 142 |
| V.4. Overview on antioxidant and anticorrosion activities of <i>Ammi visnaga</i> | 145 |
| VI. Conclusions | 155 |
| Chapitre IV: Valorisation des extraits des bio-déchets de <i>Zea mays</i> comme antioxydants et inhibiteurs de corrosion d'un acier doux dans HCl 1 M | |
| Article : Valorization of <i>Zea mays</i> hairs waste extracts for antioxidant and anticorrosive activities of mild steel in 1M HCl environment | 166 |
| I. Introduction | 168 |
| II. Materials and methods | 169 |
| II.1. Materials | 169 |
| II.1.1. Vegetal material | 169 |
| II.1.2. Metallic matrix and corrosive solution | 169 |
| II.2. Methods | 169 |
| II.2.1. Methods of extraction | 169 |
| II.2.2. Quantitative and qualitative analyses of extracts | 170 |
| II.2.3. Electrochemical methods of analysis | 170 |
| II.2.4. Antioxidant activity | 170 |
| III. Resultants and discussion | 171 |
| III.1. Phytochemical screening | 171 |
| III.2. Extraction yields of TPC and FC issued from soxhlet and ultrasound techniques | 171 |
| III.3. Extraction yields of TPC and FC issued from fractionation of flavonoids | 173 |
| III.4. Antioxidant activity | 173 |
| III.5. Electrochemical tests | 175 |
| III.5.4. EIS study for ascorbic acid | 185 |
| III.6. Effect of temperature | 187 |
| III.7. Adsorption isotherms | 190 |
| III.8. Overview on antioxidant and anticorrosion activities of <i>Zea mays</i> | 192 |
| IV. Conclusion | 197 |
| Chapitre V: Optimisation de l'extraction assistée par ultrasons des polyphénols de l'<i>Ammi visnaga</i> et des stigmates de <i>Zea mays</i> par plan d'expérience | 197 |

Table des Matières

| | |
|---|-------------|
| Article 1: Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from <i>Ammi visnaga</i> using response surface methodology | 202 |
| I. Introduction | 202 |
| II. Materials and methods | .204 |
| II.1. Vegetal material | 204 |
| II.2. Ultrasounds assisted extraction | 204 |
| II.3. Experiment design | 204 |
| II.4. Determination of the total phenolic content | 205 |
| II.5. Statistical analysis | 205 |
| III. Resultants and discussion | 206 |
| III.1. Fitting the model | 206 |
| III.2. Analysis of response surface | 207 |
| III.2.1. Effect of extraction parameters on yield extraction | 207 |
| III.2.2. Effect of extraction parameters on total phenol content | 209 |
| III.2.3. Verification of predictive model | 210 |
| IV. Conclusion | 211 |
| Article 2: Optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenols content from <i>Zea mays</i> hairs (waste) | 215 |
| I. Introduction | 216 |
| II. Experimental | 217 |
| II.1. Vegetal material | 217 |
| II.2. Method of extraction | 217 |
| II.3. Effect of operating parameters on extraction yield | 217 |
| II.4. Experiment design for optimization of extraction method | 217 |
| II.4. Determination of the total phenolic content | 219 |
| II.5. Statistical analysis | 219 |
| III. Results and discussion | 219 |
| III.1. Effect of single factor on the extraction yield of <i>Z.mays</i> hairs | 219 |
| III.1.1. Effect of extraction time | 219 |
| III.1.2. Effect of ethanol concentration | 220 |
| IV. Statistical analysis and model fitting of yield extraction | 221 |
| V. Statistical analysis and model fitting of polyphenols content | 222 |
| IV.1. Effect of extraction parameters on polyphenols content | 223 |
| IV.2. Effect of extraction parameters on yield extraction | 226 |
| IV.3. Verification of predictive models | 228 |
| V. Conclusion | 228 |
| Chapitre VI :Synergetic effect between phenolic extracts of <i>Ammi visnaga</i> and <i>Zea mays</i> formulation on the corrosion of mild steel in 1 m HCl solution (article soumi) | 235 |
| I. Introduction | 236 |
| II. Materials and methods | 237 |
| II.1. Vegetal material | 237 |
| II.2. Material | 237 |
| III. Methods | 237 |
| III.1. Preparation of phenolic extracts | 237 |

Table des Matières

| | |
|---|------------|
| III.2. Electrochemical measurements | 237 |
| III.3. Analyze the surface by scanning electron microscope | 238 |
| IV. Resultats and Discussion | 238 |
| IV.1. Electrochemical behavior of mild steel in the presence of mixture HE (AV) + HE (ZM) extracts | 238 |
| IV.1.2. Potentiodynamic polarization measurements (PP) | 238 |
| IV.1.2. EIS measurements | 241 |
| IV.1.3. Comparison between R_{ct} of HE (AV) + HE (ZM) and a commercial inhibitor | 244 |
| IV.1.4. Effect of temperature | 245 |
| IV.1.5. Immersion time | 247 |
| IV.1.6. SEM and EDX analyses | 248 |
| V. Conclusion | 249 |
| Conclusion générale et perspectives | 253 |

Ce mémoire de thèse est dédié à :

Mes parents,

Mon Mari Mohammed Bouchareb,

Ma fille Hafsa,

Mon frère et Mes sœurs.

*Je tiens à leur exprimer l'assurance de
mes sentiments respectueux et dévoués pour
leurs soutiens moral et matériel qu'ils n'ont
cessé de m'apporter durant les années de
préparation de ma thèse de doctorat.*

Remerciements

Ce travail a été effectué au sein du Laboratoire d'Ingénierie, Modélisation et Analyse des Systèmes (LIMAS), de l'Université Sidi Mohamed Ben Abdellah (USMBA), Faculté des Sciences Dhar El Mahraz, Fès–Maroc, sous la direction du Professeur **Fatima MAHJOUBI** et la codirection du Professeur **Mouhcine SFAIRA**.

Cette page est certainement celle que j'aurais eu le plus grand plaisir à rédiger en couronnant ce travail parce que c'est sur cette page que je vais pouvoir exprimer ma gratitude envers toutes les personnes qui m'ont soutenues pendant ces années de thèse.

J'implore, de prime abord, Dieu tout puissant de m'avoir accordé la capacité et la volonté pour achever ce travail.

Ma pensée va tout naturellement à ma directrice de thèse Madame le Professeur **Fatima MAHJOUBI** pour la confiance qu'elle m'a accordée tout au long de mon parcours et pour m'avoir accueilli au sein de son équipe de recherche et m'avoir fait l'honneur de diriger ces travaux de recherche durant lesquels elle m'a offert sa confiance, ses conseils qui m'ont été d'une aide précieuse et le soutien moral qu'elle a su m'apporter tout au long de ce parcours. Merci de m'avoir transmis de nouveaux principes scientifiques, de m'avoir été ici patiente avec moi et de m'avoir aidé dans les moments les plus difficiles. J'ai beaucoup apprécié son esprit ouvert aux nouvelles initiatives, ce qui traduit ainsi sa vision sur la formation d'un chercheur et sa capacité à devenir autonome. J'espère pouvoir poursuivre ce qu'elle m'a enseigné dans ma carrière professionnelle.

Mes remerciements vont également à Monsieur le Professeur **Mouhcine SFAIRA**. Je le remercie de la confiance qu'il m'a témoigné et de l'effort considérable déployé pour que ma soutenance puisse avoir lieu, sa disponibilité, m'avoir encouragé et conseillé tout en me laissant une grande liberté. Pour son soutien et sa grande générosité, qu'il soit assuré de ma profonde gratitude, l'aide précieuse lors de la rédaction de ce mémoire.

Je tiens à remercier Monsieur **Abdellah CHAQROUNE**, Professeur à la Faculté des Sciences Dhar el Mehrez de Fès, pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence du jury. Qu'il trouve ici mes sincères impressions de gratitude et de respect.

Je tiens à remercier Monsieur **Abdelkader ZARROUK**, Professeur à la Faculté des Sciences de Rabat, pour le temps qu'il a consacré en tant que rapporteur à l'examen de ce travail.

Remerciements

Je tiens à remercier Monsieur **Mohamed EBN TOUHAMI**, Professeur à la Faculté des Sciences de Kénitra, pour le temps qu'il a consacré en tant que rapporteur à l'examen de ce travail.

J'exprime aussi ma gratitude et ma reconnaissance à Monsieur **Mohammed LACHKAR**, Professeur à la Faculté des Sciences Dhar el Mehrez de Fès, qui a accepté d'être rapporteur de ma thèse, et pour les orientations et les suggestions constructives pour améliorer la qualité de mon manuscrit.

Je tiens à remercier Madame le professeur **Amina BARI**, Professeur à la Faculté des Sciences Dhar el Mehrez de Fès, trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance et mes sincères remerciements, de m'avoir fait l'honneur d'être examinatrice et de participer au jury de ma thèse.

Je tiens à remercier également le Professeur **Adil Touimi BENJELLOUN** de l'intérêt qu'il a bien voulu porter à mon travail en acceptant de participer au jury de ma thèse comme examinateur.

Je voudrais également adresser mes sincères remerciements à Monsieur le professeur **Mustapha TALEB** de l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de juger ce travail.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à Monsieur M. DRIOUCH, doctorant de notre laboratoire LIMAS, de son appui lors de la réalisation du traitement des résultats concernant les mesures électrochimiques et de sa gentillesse sans précédent, qui resteront naturellement gravés dans ma mémoire.

Je remercie également Dr. **Kenza AMMOR** pour son aide dans la réalisation des tests phytochimiques.

Mes remerciements les plus chaleureux sont dédiés au Dr. **Sanae JENNAN**, pour son aide dans la réalisation d'une partie de ce travail.

Je tiens à remercier également Mlles **M. KADIRI** et **N. ACHNINE**, doctorantes de notre laboratoire LIMAS, de leurs appuis à la réalisation, dans de très bonnes conditions, des manipulations électrochimiques.

Liste des abréviations et symboles

A.visnaga: *Ammi visnaga*

Z.mays: *Zea mays*

HE: Hydro-éthanolique

BHT: 3,5-di-tert-butyl-4-hydroxytoluène

DPPH : 2, 2-Diphényl-1-Picrylhydrazyl

FRAP: Pouvoir Antioxydant par Réduction Ferrique

AAT : Activité antioxydante totale

CAT : Capacité antioxydante totale

HPLC : Chromatographie Liquide Haute Performance

EAG : Equivalent acide gallique

EQ : Equivalent quercetine

UV- vis : Ultra-Violet visible

ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène

MS : Spectrométrie de masse

RMN : Résonance magnétique nucléaire

RSM : Response Surface Methodology

EDX : Energie Dispersive X-ray

DMSO : Diméthylsulfoxyde

CPE : Élément à phase constante

C_{ac}: Capacité de la double couche

ECS : Electrode au calomel saturé

CEE : Circuit électrique équivalent

SIE : Spectroscopie d'impédance électrochimique

E_{corr} : Potentiel de corrosion

i_{corr} : Densité de courant de corrosion

R_{tc}: Résistance de transfert de charges

R_p : Résistance de polarisation

C_{inh} : Concentration de l'inhibiteur

η : Surtension d'électrode

β_a : Pente de Tafel anodique

β_c : Pente de Tafel cathodique

Z : Impédance

Liste des abréviations et Symboles

$R_e(Z)$: Partie réelle de l'impédance

$I_m(Z)$: Partie imaginaire de l'impédance

COMACAC : Confédération marocaine pour la certification en anticorrosion

INTRODUCTION GENERALE

La corrosion représente la dégradation d'un matériau sous l'action d'un milieu environnant par des réactions chimiques et électrochimiques. Plusieurs études témoignent que la corrosion a un coût considérable et un impact majeur sur les économies des pays industrialisés. Au Maroc, une étude menée par la COMACAC estime la charge de la lutte contre la corrosion à 5 % du PIB national. Aux États-Unis, une étude de référence par Battelle a estimé que le coût de la corrosion était d'environ 70 milliards de dollars, soit 4.2% du produit national brut [1-2]. Nombreuses sont les études focalisées sur les moyens de protection des matériaux contre la corrosion, généralement en milieux aqueux. Des méthodes de protection électrochimiques par polarisation externe afin de réduire la vitesse de corrosion des métaux ont été utilisées. De même, l'introduction de substances, appelées inhibiteurs de corrosion, a permis de retarder le processus de la corrosion. En milieu acide, largement répandu en industrie, notamment dans les bains de décapage des métaux, le nettoyage des installations industrielles, la stimulation des puits de pétrole et l'élimination des dépôts localisés, les molécules organiques sont les plus fréquemment utilisées par comparaison à leurs homologues inorganiques. Actuellement, la majorité écrasante de ces molécules ne sont plus recommandées pour des raisons de restrictions d'ordre environnemental et de santé humaine. Cependant, le remplacement de ces molécules par des substances naturelles végétales et par des biodéchets est beaucoup plus préconisé en raison de leur abondance, de leur biodégradabilité et de leur non toxicité.

Les extraits de plantes ainsi que les huiles essentielles ont été utilisés comme une alternative aux composés synthétiques pour inhiber la corrosion [3]. L'utilisation de ces extraits comme inhibiteurs de la corrosion des métaux et des alliages [4,5], montre que l'effet anticorrosion est lié à plusieurs familles de molécules actives; à savoir, les polyphénols, particulièrement les flavonoïdes et les tanins. L'extraction des composés phénoliques, comme antioxydants naturels [6] et aussi comme inhibiteurs de corrosion a considérablement suscité l'intérêt des scientifiques. A cet effet différentes techniques d'extraction ont été étudiées dans le but de valoriser et d'améliorer le rendement d'extraction des molécules actives. L'extraction des polyphénols représente une étape importante en raison de certains composés phénoliques thermolabiles. De ce fait, les procédés d'extraction doivent être réalisés dans des conditions appropriées empêchant leur dégradation.

L'objectif de mon travail de thèse réside dans la valorisation des substances naturelles extraites de *l'Ammi visnaga* et des biodéchets de *Zea mays* comme antioxydants et

Introduction générale

inhibiteurs de la corrosion métallique. Pour atteindre ces objectifs, la procédure suivante a été mise en place.

- ✓ Sélection du matériel végétal riche en composés phénoliques pouvant avoir une activité à la fois antioxydante et anticorrosive intéressante,

Les indicateurs permettant cette sélection sont de plusieurs types :

- ✓ Présence des molécules actives dans les extraits non volatils
- ✓ La disponibilité de plantes sélectionnées
- ✓ Richesse de la partie utilisée du matériel végétale en principes actifs,
- ✓ Procédés d'extraction simples et innovants dont le but d'aboutir à des produits stables et suffisamment concentrés en molécules actives.

Ce travail de thèse sera présenté dans ce manuscrit et sera divisé en six chapitres dont

Le chapitre premier est une revue bibliographique dans laquelle nous présentons les métabolites secondaires, les différentes méthodes d'extraction, les méthodes d'analyse des composés actifs ainsi que leur activité antioxydante. Dans ce chapitre, nous présentons également les principales notions relatives à la méthode des plans d'expériences. Quelques généralités sur la corrosion y seront abordées ainsi que l'inhibition de la corrosion par des inhibiteurs d'origine végétale.

Le deuxième chapitre de ce travail sera consacré à la présentation du milieu écologique des plantes objets de cette étude, aux différentes techniques d'extraction utilisées ainsi qu'aux protocoles expérimentaux concernant la détermination des différentes activités relatives aux extraits étudiés. Les techniques de fractionnement des polyphénols ainsi que les démarches suivies pour la réalisation d'une étude d'optimisation par plan d'expériences seront aussi envisagés. Les méthodes d'étude de la corrosion de l'acier doux ainsi que les techniques d'analyse de la surface métallique seront abordées dans ce chapitre.

Le troisième chapitre sera dédié aux résultats et discussion et sera focalisé sur l'effet du solvant et de la méthode d'extraction sur l'activité antioxydante et inhibitrice de corrosion de *l'Ammi visnaga* sur l'acier doux dans un milieu chlorhydrique 1M.

Le quatrième chapitre sera consacré à la valorisation des biodéchets de *Zea mays* comme antioxydant et inhibiteur de corrosion d'un l'acier doux en milieu HCl 1M.

Dans le cinquième chapitre, on se focalisera sur l'optimisation de l'extraction par ultrasons de *l'Ammi visnaga* et des stigmates de *Zea mays* par les plans d'expériences.

Introduction générale

Le sixième chapitre décrira une mise au point de l'effet synergétique des extraits hydro-éthanoliques de *l'Ammi visnaga* et de *Zea mays* pour l'inhibition de la corrosion de l'acier doux dans la solution HCl 1M.

Une conclusion générale couronne l'ensemble des résultats obtenus et propose des perspectives générales.

Références bibliographiques

1. N. Hanifi, Actes éditions ; (1991) 47.
2. M.A. Nabli Actes Editions, Institut agronomique et vétérinaire Hassan II, Rabat, (1991) 19.
3. Z. Bensouda, M. Driouch, R. Belakhmima, M. Sfaira, M. Ebn Touhami, A. Farah, *Port. Electrochim.Acta*, 36 (2018) 339.
4. R.M. Saleh, A.A. Ismail, A.A. El Hosary, *British Corro. J.* 17 (1982) 130.
5. Da Rocha, Da Cunha Ponciano Gomes, J.C., D'Elia, E., *Corro. Sci.* 52 (2010) 2341.
6. D. Ramful, T. Bahorunb, E. Bourdonc, E. Tarnusc, O.I. Aruoma, *Toxicology.* 278 (2010) 75.

Chapitre I :

GENERALITES SUR LES SUBSTANCES NATURELLES ET LEURS ACTIVITES ANTIOXYDANTE ET ANTICORROSION

Ce chapitre est subdivisé en trois axes : **A.** Substances naturelles végétales, **B.** antioxydants et activité antioxydante et **C.** généralités et revue bibliographique sur l'inhibition de la corrosion par des substances naturelles végétales.

A. Substances naturelles végétales :

Le Maroc possède un patrimoine végétal riche en substances naturelles. Parmi, ces ressources, on trouve les plantes aromatiques et médicinales (PAM) occupant une place importante dans l'économie nationale [1].

La flore marocaine est composée de près de 4200 espèces et sous espèces appartenant à de grandes familles botaniques (130 familles et 940 genres représentés) [2], ce qui traduit la diversité et la richesse de la flore marocaine. Cependant, malgré le développement des technologies et l'invention de nouvelles méthodes d'extraction et d'analyse chimique, le domaine des substances naturelles demeure loin d'être entièrement exploré et ceci à cause de la complexité de séparation et d'identification des différents composants chimiques constituant les extraits des plantes médicinales et aromatiques.

Les substances naturelles végétales sont utilisées dans différents domaines et principalement la médecine [3,4], l'alimentaire [5,6], le secteur cosmétique [5] et en inhibition de la corrosion [7].

L'objectif principal de cette partie du chapitre est la présentation des métabolites secondaires, des méthodes d'extraction et d'analyses des substances actives issues de la matière végétale. Les propriétés antioxydantes de ces composés ainsi que la technique d'optimisation de l'extraction des composés phénoliques seront examinées dans ce chapitre

I. Généralités sur les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires ont été définis pour la première fois par Albrecht Kossel, en 1910 [8]. Ce sont des composés organiques produits en petites quantités par les plantes [9] et les microorganismes tels que les bactéries et les champignons [10]. Les métabolites secondaires sont des espèces spécifiques qui ne sont pas directement impliqués dans le cycle de vie normal des plantes [11]. Mais, les plantes ont la capacité de les synthétiser pour diverses fonctions adaptatives [12] surtout lorsque des contraintes biotiques (attaques phytopathogènes) ou abiotiques (changements climatiques, environnementaux) apparaissent. Cependant, le rôle écologique le plus important des métabolites secondaires des plantes est lié à la fonction reproductive [13]. Ces composés sont importants non seulement en raison de leur rôle dans les plantes, mais aussi pour leurs propriétés biologiques en tant qu'antioxydants, antimicrobiens, anti-inflammatoires... [14].

I.1. Classification des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires peuvent être classés en fonction de leurs structures chimiques, leur solubilité dans divers solvants ou par la voie de leur biosynthèse [15]. Parmi les grandes familles des composés issues de métabolisme secondaire, on trouve principalement : les alcaloïdes, les terpènes, les saponines et les composés phénoliques.

I.1.1. Alcaloïdes

Le nom des alcaloïdes dérive de "alcalin", ce qui signifie des composés organiques qui contiennent au moins un atome d'azote dans un hétérocycle, qui forment des sels avec les acides et lorsqu'ils sont solubles, donnent des solutions alcalines. Ils comptent des substances végétales les plus diverses, les plus efficaces et les plus importantes sur le plan thérapeutique. Ils sont produits par une grande variété d'organismes qui comprend les bactéries, les champignons, les plantes et les animaux [16]. Il y a environ 5500 alcaloïdes connus à l'instant. En général, les alcaloïdes sont extrêmement toxiques bien qu'ils aient un effet thérapeutique marqué bien qu'en petites quantités (faible dose) [17].

I.1.2. Les terpènes

Les terpènes sont des métabolites secondaires importants, volatiles et diversifiés et représentant une catégorie qui constitue les composants des huiles essentielles. L'enchaînement de molécules isopréniques à 5 atomes de carbone conduit à la formation de plus de 20000 molécules terpéniques différentes, celles-ci sont classées en fonction du nombre de motifs isoprènes dans la molécule en monoterpènes (deux unités d'isoprène), triterpènes (six unités d'isoprène), etc. Les terpènes sont fréquents dans les plantes aromatiques, les insectes, les champignons et certains invertébrés marins. Ce type de métabolites peut jouer un rôle important dans la signalisation écologique et la défense chimique et sont responsables de la plupart des odeurs et des saveurs des plantes [18].

I.1.3. Les saponines

Les saponines sont des composés qui possèdent un groupement aglycone polycyclique avec soit un stéroïde, ou un tri-terpénoïdes fixé à une unité glucidique. Ces composés possèdent une symétrie hydrophobe-hydrophile, ce qui signifie qu'ils ont la capacité d'abaisser la tension superficielle et sont semblables au savon. Ils forment de la mousse dans des solutions aqueuses. La partie aglycone de la molécule de saponine est appelée génine ou sapogénine. Les saponines sont largement répandues sur plus de 500 plantes d'au moins 90 familles différentes. Ces substances ont été isolées de toutes les parties des plantes : feuilles, tiges,

bulbes de racines, fleurs et fruits, bien qu'elles soient généralement concentrées dans les racines de nombreuses espèces [19].

I. 1.4. Les composés phénoliques et leur classification

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires non azotés connus par une grande variété structurale dont environ 8000 composés qui sont synthétisés par des végétaux pour se défendre contre les agressions environnementales [20]. La structure de base des composés phénoliques est un cycle aromatique portant un ou plusieurs groupes hydroxyle. Ces composés peuvent être classés en fonction du nombre des unités phénoliques dans la molécule, le nombre et l'enchaînement des noyaux aromatiques, le nombre et la position des groupes hydroxyles ainsi que la présence de divers substituants [21,22].

In vitro, les polyphénols présentent des activités antioxydantes, antivirales, anticancéreuses et anti-inflammatoires *in vivo*. Ces activités sont attribuées principalement à la propriété acido-basique en tant que des donneurs des protons H^+ [23,24].

Les composés phénoliques peuvent être classés selon leur structure en acides phénoliques, en coumarines, en stilbènes, en lignines et les lignanes, en flavonoïdes et en tanins.

I.1.4.1. Acides phénoliques

Les acides phénoliques se trouvent dans la famille des composés phénoliques sous forme d'esters, de glycosides ou d'amides, mais rarement sous forme libre. La variation des acides phénoliques se situe dans le nombre et l'emplacement des groupes hydroxyles sur le cycle aromatique [22]. Les acides phénoliques ont deux parents structures : acide hydroxycinnamique et acide hydroxybenzoïque. Les dérivés de l'acide hydroxycinnamique comprennent les acides férulique, caféique, p-coumarique et acide sinapique [25], tandis que les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque sont des acides galliques, les acides vanillique, syringique et protocatéchoïque [26].

I.1.4.2. Coumarines

Les coumarines tirent leur nom de « coumarou », nom vernaculaire de la fève tonka (*Dipteryx odora*) d'où fut isolée, en 1820, la coumarine [27]. Les coumarines sont des composés obtenus par lactonisation de l'acide orthocoumarique possédant une structure de base pyrone. A présent, plus de 1000 composés coumariques sont isolés dont plus de 800 isolés à partir des plantes et des microorganismes [28]. Les coumarines sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes [29]. Les activités anti-inflammatoires, anticoagulantes,

anticancéreuses et anti-Alzheimer représentant les activités biologiques les plus importantes rapportées pour les coumarines [30].

I.1.4.3. Stilbènes

Les stilbènes sont des composés formés de deux noyaux aromatiques liés par un groupe éthylénique [31], relativement petit, mais largement distribué dans des plantes que l'on trouve principalement sous forme de constituants du bois de cœur dans un ensemble hétérogène d'espèces végétales.

I.1.4.4. Lignines et les lignanes

Les lignanes constituent une classe importante de substances naturelles du règne végétale. Il s'agit des dimères ramifiés de phénylpropènes. Ces derniers sont formés par dimérisation de trois types d'alcools : alcool *p*-coumarique, alcool coniférique et alcool sinapique [32].

La polymérisation de ces trois alcools conduit à la formation de la lignine. Il est à noter que la composition de la lignine diffère d'une espèce à une autre mais la structure précise pour la lignine n'est pas encore connue [33].

I.1.4.5. Flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent la plus grande partie des polyphénols (jusqu'à 50 %) [32] répandus dans le règne végétal. Ce sont les composés phénoliques de faible poids moléculaire responsables de la coloration des fruits et des parois des feuilles et des fleurs. Ils sont constitués d'un squelette à 15 atomes de carbone (Fig I.1) formant 2 noyaux aromatiques benzéniques (A, B) et un hétérocycle à oxygène pyranique (C).

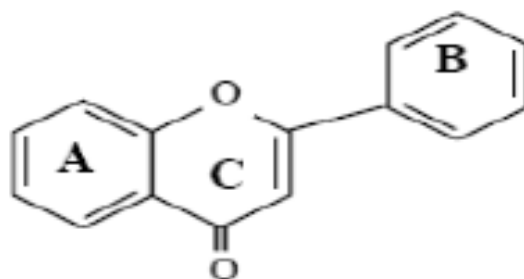


Figure I.1 : Structure de base des flavonoïdes

Il existe plusieurs classes de flavonoïdes qui résultent de réactions d'hydroxylation, d'alcalinisation, de glycosylation et d'oxydation du noyau pyranique et qui modifient la molécule de base [26,31]. Les flavonoïdes sont subdivisés en plusieurs sous-groupes tels que : les flavones, les flavonols (exemple quercétine, kaempférol, la rutine), les flavanes, les flavanones (Fig I.2), les anthocyanes et les isoflavonoïdes [34-38].

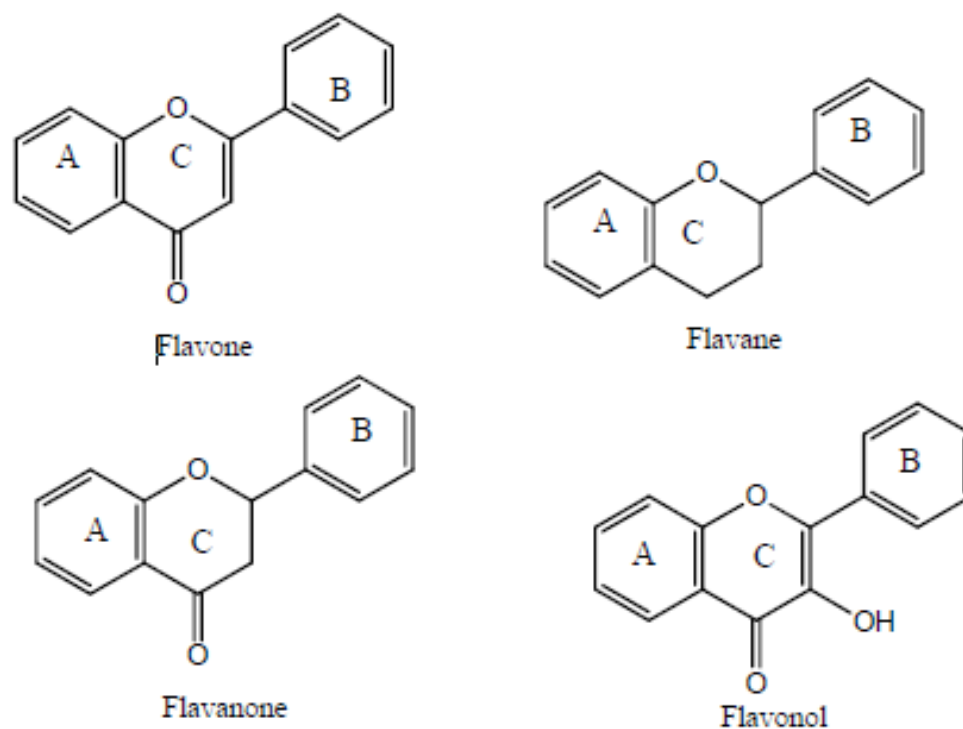


Figure I.2 : Structure de sous-classe des flavonoïdes

I.1.4.5. Tanins

Le nom tanins se réfère au processus de tannage de la peau animale pour former le cuir. Les tanins sont des biomolécules polyphénoliques de poids moléculaire très élevé [39]; hautement hydroxylées et peuvent donc interagir et former des complexes insolubles et instables avec les protéines [40,41] et sont largement répandus dans plusieurs espèces de plantes et se trouvent dans le bois, l'écorce, les fruits, etc [42]. Les tanins, comme beaucoup d'autres polyphénols, exercent plusieurs effets biologiques, y compris l'activité antioxydante, antimicrobienne, anti-inflammatoire, etc [43]. Leur forte action antioxydante se reflète dans l'activité de piégeage des radicaux libres, chélation de la transition des métaux [39].

Les tanins peuvent être classés en deux groupes: tanins hydrolysables ou galliques et tanins condensés [44].

❖ Tanins hydrolysables ou tanins galliques

Les tanins hydrolysables sont des composés contenant un noyau central de glucose estérifié par l'acide gallique. Ces tanins peuvent être facilement hydrolysés par l'acide, l'eau chaude ou par l'action enzymatique, qui donnent de l'alcool polyhydrique et de l'acide phénylcarboxylique [45].

❖ Tanins condensés

Ces composés sont aussi appelés proanthocyanidines, possédant comme structure de base le flavan-3-ol (catéchine) ou le flavan-3,4-diol (Fig I.3) [38]. Ces tanins ne renferment pas de sucres dans leurs molécules. Ils ne sont pas hydrolysés par les acides contrairement aux tanins galliques.

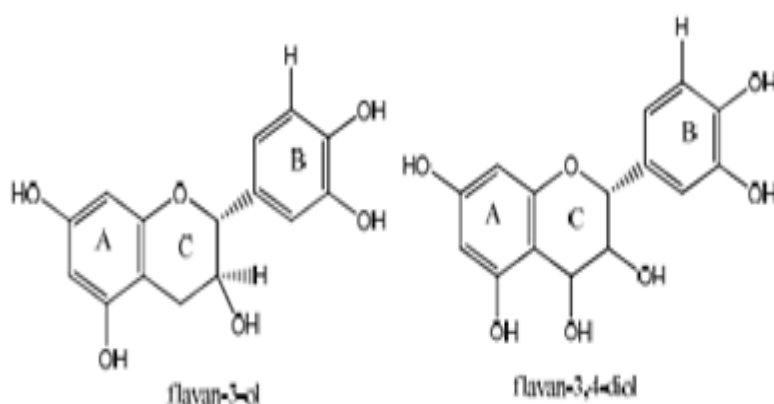


Figure I.3: Structure de quelque tanin condensé

II. Méthodes d'extractions des polyphénols

L'extraction peut être définie comme la séparation sélective d'un ou de plusieurs composés entre deux phases qui n'interfèrent pas entre elles. Différentes méthodes ont été signalées pour l'extraction des polyphénols, à savoir l'extraction par micro-ondes, l'extraction par ultrasons, l'extraction par soxhlet, l'extraction accélérée par solvant, etc. [46]. Plusieurs facteurs pouvant influencer l'extraction des polyphénols à savoir, la nature chimique des substances, les taille des particules de l'échantillon, le temps d'extraction, la nature du solvant, la température, etc [47]. Les techniques d'extraction peuvent être divisées en deux classes: les méthodes conventionnelles et les méthodes nouvelles [48].

II.1. Méthodes conventionnelles

Les techniques conventionnelles ont été largement acceptées, principalement en raison de leur facilité d'utilisation et de leur applicabilité à grande échelle [49,50]. Les techniques impliquent l'utilisation de solvants comme les alcools (méthanol, éthanol), l'acétone, l'éther

diéthylique et l'acétate d'éthyle, souvent mélangés à différentes proportions avec de l'eau. Parmi les techniques conventionnelles, on cite l'extraction par soxhlet [51], hydro-distillation [52], l'entraînement à la vapeur d'eau (ex-situ) [53], la macération [47]...etc.

II.1.1. Macération

La macération consiste à mettre en contact direct le matériel végétal et le solvant d'extraction sous agitation à température ambiante, ceci permet la conservation des composés thermolabiles. Cette opération conduit est accompagnée de l'utilisation d'une grande quantité de solvant organique. Cette technique conduit à des rendements faibles en composés phénoliques [54].

II.1.2. Extraction par soxhlet

L'extraction par soxhlet est une méthode classique pour l'extraction solide-liquide. Les avantages de cette méthode sont les suivants : l'échantillon entre rapidement en contact avec une portion fraîche de solvant, ce qui facilite le déplacement de l'équilibre de transfert de la masse vers le solvant. Cette méthode ne nécessite pas de filtration après extraction et est indépendante de la matrice végétale. Les inconvénients les plus significatifs de cette méthode, par comparaison aux autres techniques conventionnelles sont: la durée importante de l'extraction et la grande quantité de solvant consommée, ce qui conduit non seulement à des pertes économiques mais pose aussi des problèmes environnementaux [55,56]. Les échantillons étant portés à haute température pendant une période relativement longue, le risque de thermodestruction de certains composés n'est pas à négliger.

II.2. Méthodes nouvelles d'extraction

En raison des problèmes associés aux températures plus élevées et aux temps d'extraction plus longs ainsi qu'à une consommation très élevée en solvant, il devient nécessaire de développer les techniques alternatives pour extraire les molécules bioactives. Parmi les techniques nouvelles on cite: extraction assistée par ultrasons [57], l'extraction assistée par microondes [58], l'extraction accélérée par solvants [59] et l'extraction avec des fluides supercritiques [60].

II.2.1. Extraction assistée par ultrasons

L'extraction assistée par ultrasons est une technique basée sur les effets ultrasonores pour l'extraction de composés phénoliques [61-63]. Le mécanisme d'extraction par ultra-sons implique deux types de phénomènes physiques : la diffusion de la matière à travers les parois cellulaires et la libération du contenu de la cellule une fois les parois cassés. Les ondes ultrasonores interagissent avec l'échantillon pour modifier ses propriétés physico-

chimiques. Les effets cavitationnels de ces ondes facilitent la libération de composés extractibles et améliorent le transport de masse en perturbant les parois cellulaires des plantes. Un meilleur gonflement améliore le taux de transfert de la masse et augmente l'efficacité de l'extraction et réduit le temps d'extraction [64]. Cette méthode permet l'amélioration de l'efficacité d'extraction en réduisant le temps d'extraction et est utilisée pour l'extraction de composés thermolabiles contrairement à une extraction classique. Malgré, une large utilisation des ultrasons, la méthode souffre de problèmes, à savoir filtration après d'extraction et aussi ne permet pas de renouveler le solvant pendant le processus d'extraction [64].

II.2.2. Extraction assistée par microondes

Cette méthode a été mise au point pour l'extraction des composés bioactifs provenant de diverses matrices végétales et de leurs sous-produits. Cette méthode permet l'extraction rapide et efficace des polyphénols, la consommation de solvants est plus faible par rapport aux techniques conventionnelles [65,66]. Les inconvénients majeurs de cette technique sont d'une part, le rendement faible lorsque les solutés ou les solvants sont apolaires et, d'autre part, le besoin de filtration pour éliminer le résidu solide de l'extrait [57]. Aussi la température hautement élevée peut être utilisée, ce qui provoque la dégradation des composés thermosensibles [67].

II.2.3. Extraction accélérée par solvants

L'extraction accélérée par solvants est une technique brevetée par la société DIONEX qui utilise les solvants conventionnels à des températures (50–200 °C) et des pressions élevées (100–150 bar). Ceci pourrait mener à une dégradation des molécules thermolabiles. Les avantages de cette technique sont la consommation de plus petites quantités de solvant, le temps d'extraction réduit en comparaison avec les techniques conventionnelles. Les inconvénients de cette méthode sont liés au caractère non sélectif [68].

II.2.4. Extraction avec des fluides supercritiques

L'extraction avec des fluides supercritiques est une méthode très importante qui mérite une attention particulière. Parmi les avantages de cette méthode on peut citer la durée d'extraction plus courte, une sélectivité élevée ainsi que la facilité d'éliminer le solvant après l'extraction par simple décompression [69] par rapport aux techniques conventionnelles.

III. Méthodes d'analyse

La complexité des extraits de plantes nécessite des techniques de séparation efficaces pour identifier les diverses molécules. Différentes techniques d'analyse s'offrent à l'expérimentateur pour la séparation et l'identification des produits naturels tels que la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) et la HPLC couplée à la spectrométrie de masse MS (HPLC/MS) [70, 71].

❖ La chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

La chromatographie liquide à haute performance consiste à exploiter les interactions des solutés avec la phase mobile liquide et la phase stationnaire solide sous haute pression. Les solutés sont séparés en fonction de plusieurs paramètres tels que l'affinité du soluté dans l'éluant, la polarité ou la charge électrique. Après leurs séparations, les solutés sont identifiés en fonction de leurs vitesses d'adsorption et de désorption ainsi que par leur temps de rétention à la sortie de la colonne à l'aide d'un détecteur couplé à la colonne chromatographique [72]. HPLC demeure la technique la plus utilisée car elle présente de nombreux avantages tels que ; sa simplicité de mise en œuvre, sa reproductibilité, la disponibilité de phases stationnaires ainsi que les possibilités diverses de couplage avec d'autres techniques chromatographiques et/ou des systèmes de détection. Par exemple, couplage de HPLC avec l'ultraviolet visible (UV-vis), fluorescence, spectrométrie de masse (MS) et résonance magnétique nucléaire (RMN). La technique de HPLC peut être utilisée selon plusieurs modes de séparation en fonction des propriétés physico-chimiques des analytes à séparer dont le mode dit phase normale (*NP*, *Normal Phase*) dans lequel la phase mobile est peu polaire et la phase stationnaire est polaire. Dans le mode dit phase inverse (*RP*, *Reversed Phase*) la phase mobile est polaire et la phase stationnaire est apolaire.

IV. Quantification des polyphénols par spectrophotométrie (UV-visible)

La spectroscopie d'absorption dans l'UV-visible est une méthode d'analyse couramment utilisée aux laboratoires. Elle est basée sur la capacité des molécules à absorber les radiations lumineuses de longueur d'onde déterminée. La spectroscopie UV-visible présente un large domaine d'application. Elle est utilisée en chimie minérale, chimie organique, biochimie, analyses médicales et analyses quantitatives. Cette large utilisation est surtout due à sa grande sensibilité, sa rapidité et sa simplicité d'utilisation [73].

La spectrophotométrie consiste surtout à mesurer l'absorbance dans le domaine UV/visible. Cette absorption est due au passage d'électrons d'un niveau énergétique à un autre supérieur avec une modification des états de vibration et de rotation. Ainsi, l'électron

passer d'une orbitale moléculaire à une autre [74]. D'une manière générale, la solution qu'on désire étudier l'absorption est placée dans une cuve en quartz à faces transparentes et parallèles, et traversée par un faisceau optique perpendiculairement à ces faces. Après avoir fixé une longueur d'onde, la lumière monochromatique incidente d'intensité I_0 traverse la cuve contenant la solution et l'appareil mesure l'intensité I de la lumière transmise. La valeur affichée par l'appareil est l'absorbance à cette longueur d'onde [75].

V. Propriétés antioxydante des composés phénoliques

Les composés phénoliques, par leur structure, sont des agents réducteurs capables de réagir avec les radicaux libres produits par notre organisme et ainsi renforcer les défenses antioxydantes en captant les radicaux libres. Les polyphénols possèdent de multiples propriétés biologiques et pharmacologiques telles que l'effet antioxydant, anti-algique et anti-inflammatoire [76,77]. Cependant, les composés phénoliques peuvent agir en tant qu'antioxydants de différentes manières soit par le piégeage direct des radicaux libres ou par la chélation des ions métalliques. Comme exemple de composés phénoliques, les flavonoïdes (flavonols) sont capables de piéger les radicaux libres oxygénés par transfert d'un électron ou d'un hydrogène, ainsi qu'ils sont capables d'exercer la complexation des métaux de transition ce qui améliore le pouvoir antioxydant. La structure des flavonoïdes tels que les flavonols sont caractérisés par la présence d'une fonction catéchol sur le cycle **B** (Fig I.4). Grâce à la configuration des hydroxyles sur le noyau **B**, les radicaux phénoxy sont stabilisés par la présence d'un hydroxyle en ortho de celui qui va céder son atome d'hydrogène. En effet, cette stabilité résulte de la délocalisation de l'électron non apparié et de la formation d'une liaison. Aussi la présence de la double liaison entre C2 et C3 et la fonction carbonyle en C4 dans le cycle **C** (Fig I.4) permet une délocalisation électronique stabilisante du radical phénoxy et par conséquent un pouvoir antioxydant important.

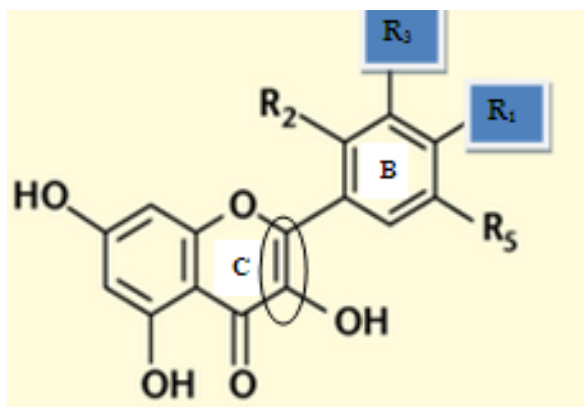


Figure I.4: La structure de la molécule de flavonols

Les composés phénoliques sont utilisés dans plusieurs domaines de par leur pouvoir antioxydant, tel que: les préparations pharmaceutiques, l'industrie agroalimentaire, etc. Par ailleurs, des études récentes ont montré que les polyphénols présentent une activité anticorrosive importante [78].

VI. Critères de sélection des plantes objets de l'étude :

Les plantes utilisées au cours de cette étude ont été sélectionnées selon les critères suivants :

- ✓ Leurs compositions en substances bioactives (flavonoïdes et tanins)
- ✓ Leurs abondances dans la nature et en culture
- ✓ Leurs disponibilités sous forme de biodéchets
- ✓ Leurs rendements en substances actives
- ✓ Leur efficacité inhibitrice contre la corrosion de l'acier doux en milieu corrosif HCl 1 M prouvée par des tests électrochimiques préliminaires.

VII. Monographie des espèces sélectionnées

VII.1. Présentation de *l'Ammi visnaga*

L'Ammi visnaga est connue sous son nom vernaculaire «Bechnikha», c'est une plante herbacée vivace de la famille des *Apiaceae* ou *Umbelliferae* de 20 à 80 cm de hauteur, glabre, à racine pivotante, la tige est robuste, rameuse, entièrement couverte de feuilles [79]. Les feuilles sont composées de plusieurs variantes, à segments linéaires, la floraison a lieu de juillet à septembre [80]. L'inflorescence est une ombelle très dense composée de très nombreux rayons épaissis et connivents après la floraison qui s'insèrent sur un réceptacle dilaté en disque à maturité [81]. Les fruits sont de petites graines ovales de 2-2.5 mm [81].

VII.1.1. Classification systématique

La classification systématique de *l'Ammi visnaga* selon Gaertn en 1788 est donnée ci-dessous :

| | |
|--------------|---------------------|
| Règne | Plantae |
| Ordre | Apiales |
| Sous-ordre | Apiineae |
| Famille | Apiaceae |
| Sous-famille | Apioideae |
| Genre | <i>Ammi</i> |
| Espèce | <i>Ammi visnaga</i> |

VII.1.2. Différents usages d'*Ammi visnaga*

L'Ammi visnaga a été utilisée traditionnellement pour le traitement de diverses pathologies dont on cite: les calculs rénaux; des coliques néphrétiques; les douleurs au niveau du tractus, le traitement de l'angine de poitrine et les maladies cardiovasculaire [82]. Ainsi, plusieurs études confirment l'activité antioxydante, antalgique, anti-inflammatoire et antimicrobienne des extraits de *l'Ammi visnaga* grâce à sa composition riche en polyphénols [83,84]. L'extrait aqueux de *l'Ammi visnaga* présente également des effets anticorrosifs sur l'acier SX 316 dans une solution acide [85].

VII.1.3. Composition chimique de *l'Ammi visnaga*

Les fruits contiennent des furanochromones, surtout de la khelline (1 à 2 %), la visnagine, des composés à fonction alcool (l'ammiole, le visammiole et le khellol [86-90]. Ce dernier existant aussi sous la forme de 2 glucosides : khellol-glucoside et khellinine. On y trouve également des pyranocoumarines, des flavonoïdes et des tanins [91-93].

La teneur de ces composés varie largement selon les facteurs génétiques, les conditions environnementales, la période de récolte, le mode d'extraction, la partie de la plante étudiée, le solvant d'extraction et le mode de séchage de la plante [94,95].

VII. 2. Présentation de *Zea mays*

Le *Zea mays* est une plante herbacée tropicale annuelle érigée, robuste, généralement non ramifiée de la famille des *Poacées*. Elle peut atteindre jusqu'à 6 mètres de hauteur. Les fleurs du maïs sont monoïques dans lesquelles les fleurs mâles et femelles sont situées dans des inflorescences différentes sur une même tige. Les fleurs mâles (gland) au sommet de la plante produisent du pollen jaune. Pendant ce temps, les fleurs femelles produisent du maïs

et sont situées dans les aisselles des feuilles. Les soies sont des stigmates allongés qui ressemblent à une touffe de poils (sont des fils de la fleur femelle de maïs). Il s'agit d'un déchet provenant de la culture du maïs disponible en abondance [96]. Il est connu sous son nom vernaculaire «Doura». Le maïs est le taxon le plus connu du genre *Zea*, qui comporte d'autres espèces et sous-espèces dénommées téosintes. Le maïs est l'une des cultures les plus couramment répandues de par le monde comme céréale mais aussi comme plante fourragère.

VII.2.1. Classification systématique

La classification de maïs a été faite selon Cronquist en 1981 est comme suit :

| | |
|--------------|-----------------|
| Règne | Plantae |
| Classe | Liliopsida |
| Sous-classe | Commelinidae |
| Ordre | Cyperales |
| Famille | Poaceae |
| Sous-famille | Panicoideae |
| Genre | <i>Zea</i> |
| Espèce | <i>Zea mays</i> |

VII.2.2. Composition chimique des stigmates de *zea mays*

Les stigmates de *Zea mays* contiennent plusieurs composés tels que : les protéines, les vitamines, les glucides, les sels Ca^{2+} , K^+ , Mg^{2+} et Na^+ , des stéroïdes comme le sitostérol et le stigmastérol, des alcaloïdes, des saponines et des flavonoïdes [97-102]. D'autres composés phénoliques sont présents dans *Zea mays* tels que les anthocyanines, l'acide *p*-coumarique, l'acide vanillique, l'acide protocatéchoïque, les dérivés de l'héspéridine, quercétine, les formes hydroxycinnamiques liées d'acide *p*-coumarique et férulique [103], flavones glycosidiques [104].

VII.2.3. Différents usages de *Zea mays*

Il a été utilisé de manière traditionnelle dans de nombreuses régions du monde comme la Chine, la Turquie, les États-Unis, la France et le Maroc pour le traitement de l'œdème, des calculs rénaux, des troubles de la prostate et des infections urinaires et antidiabétiques [105, 106-111]. D'autres activités bénéfiques de *Zea mays* incluent l'activité antifongique, antidépresseur [105, 112, 113], antioxydants [114, 115] et antibactérienne [116]. D'autres études ont révélé l'efficacité de *Zea mays* pour inhiber la corrosion des métaux [117, 118].

VIII. Optimisation de méthode d'extraction par ultrasons (plans d'expériences)

VIII.1. Définition d'un plan d'expérience

Le plan d'expérience est une technique qui permet de minimiser le nombre d'essais ainsi que de quantifier les effets de divers facteurs sur une réponse dans des domaines expérimentaux bien déterminés [119]. Avec les plans d'expériences on obtient le maximum de renseignements avec le minimum d'expériences. Pour cela, il faut suivre des règles mathématiques et adopter une démarche rigoureuse [120]. Il existe de nombreux plans d'expériences qui peuvent être regroupés en deux grandes classes [121] adaptés à tous les cas rencontrés par un expérimentateur.

Plan de criblage : plan factoriel fractionnaire, plan sursaturé, plan factoriel complet.

Plan de modélisation : plan non conventionnel, plan composite centré, plan de Doehlert, plan de Box-Behnken, plan D-optimaux.

Dans cette étude, nous avons adopté le plan de Box-Behnken.

VIII.2. Les plans de Box-Behnken

Les plans de Box-Behnken s'adressent exclusivement aux modèles à trois niveaux par facteur (étude des surfaces de réponse d'ordre 2) dont lesquels les points expérimentaux sont représentés au milieu des arêtes de chacun des côtés d'un cube. Les plans de Box-Behnken sont disponibles pour les modèles avec 3 à 16 facteurs [122]. Un plan avec trois facteurs est illustré dans la Figure I.5 :

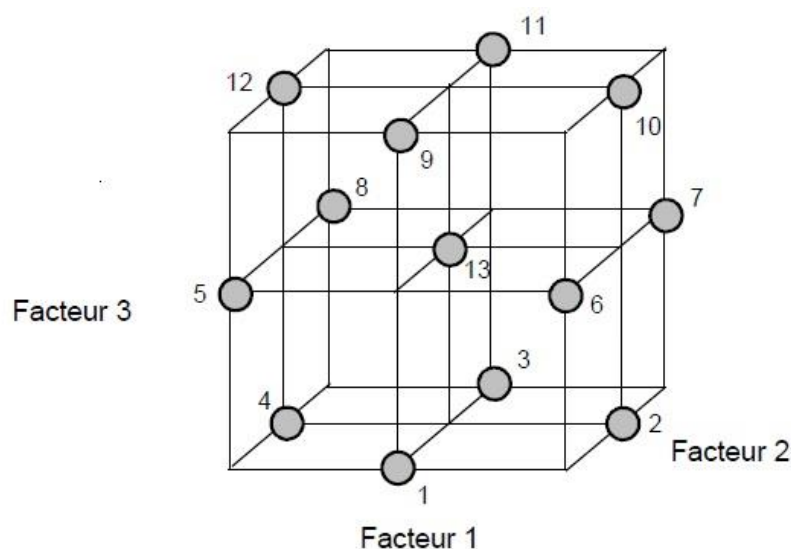


Figure I.5 : Plan de Box- Behnken avec trois facteurs [27,123]

La compréhension de la méthode des plans d'expériences s'appuie sur des notions essentielles à savoir : l'interaction, les facteurs, domaine d'un facteur, la réponse, domaine d'étude, domaine expérimental, matrice d'expérience.

➤ **L'interaction**

L'effet pour lequel l'influence apparente d'un facteur sur une variable de réponse dépend d'un ou de plusieurs facteurs. L'interaction indique une incohérence de l'effet principal d'un facteur sur la réponse selon le niveau d'un autre facteur [123].

➤ **Les facteurs**

Les paramètres que l'on fait varier au cours des essais et sensés influencer la variation de la réponse (les variables que l'on désire étudier qui est notée par X) [124]. Un facteur peut être qualitatif ou quantitatif, continu ou discontinu, contrôlable ou non contrôlable.

➤ **Domaine d'un facteur**

Un facteur varie généralement entre deux bornes à savoir : la borne inférieure et la borne supérieure. Dans les plans d'expériences, un facteur varie entre le niveau bas (borne inférieure notée le plus souvent par -1) et le niveau haut (borne supérieure notée le plus souvent par +1) [125].

➤ **La réponse**

Une réponse consiste à une quantification des performances du système étudié (elle est notée Y) [123].

➤ **Domaine d'étude**

Un seul facteur est représenté par un axe orienté, et s'il y a deux facteurs, le second est représenté, lui aussi, par un axe gradué et orienté. Ce domaine est défini par les niveaux hauts et les niveaux bas de tous les facteurs et éventuellement par des contraintes entre les facteurs [126].

➤ **Domaine expérimental**

C'est l'espace défini par la variation des facteurs quantitatifs et/ ou par les combinaisons des modalités des facteurs qualitatifs.

➤ **Matrice d'expérience**

Une matrice d'expérience définit les essais à réaliser.

VIII.3. Méthodologie des surfaces de réponse

La méthodologie des surfaces de réponse (MSR) constitue le second volet de la méthode des plans d'expériences après celui du screening et qui consiste à déterminer parmi un très grand nombre de facteurs potentiellement influents ceux qui le sont vraiment. On notera l'utilisation courante du sigle anglo-saxon RSM, pour désigner «*Response Surface*

Methodology». Cette technique permet de déterminer d'une manière quantitative les variations de la fonction réponse par rapport aux influences des facteurs [123]. Cette méthode permet, grâce à des modèles mathématiques empiriques, de déterminer une relation d'approximation entre les réponses de sortie et les variables d'entrée pour optimiser les paramètres du procédé afin d'atteindre des réponses souhaitables.

Nous avons utilisé cette méthode pour optimiser les conditions d'extraction (la concentration du solvant, le temps d'extraction ainsi que solvant/la quantité de matière) des deux plantes étudiées par l'ultrason. Nous avons choisi un plan d'expériences basé sur la méthode de Box-Behnken permettant de faire varier les principaux facteurs qui influent le rendement d'extraction ainsi que le taux des polyphénols afin de choisir un optimum grâce à un modèle quadratique.

VIII.4. Modèle mathématique postulé

On choisit a priori une fonction mathématique qui relie la réponse aux facteurs. On considère un développement limité de la série de Taylor-Mac Laurin; les dérivées sont supposées constantes et le développement prend la forme d'un polynôme de second ordre :

$$Y = \sum a_i X_i + \sum a_{ij} X_i X_j + \dots + \sum a_{ii} X_i^2 + a_{ij} \dots z X_i X_j \dots X_z$$

Où:

Y_j : est la réponse mesurée au cours de l'expérimentation.

X_i : représente le niveau attribué au facteur i par l'expérimentateur pour réaliser un essai.

a_0, a_i, a_{ij}, a_{ii} : sont les coefficients du modèle mathématique calculés à partir des résultats des expériences

L'intérêt de modéliser la réponse par un modèle mathématique est de pouvoir calculer toutes les réponses du domaine d'étude sans être obligé de faire les expériences.

Dans ce travail, le logiciel Nemrodw a été utilisé pour déterminer, les coefficients des polynômes pour chaque réponse, calculer les écarts-types, déterminer p -value, analyse des variances et enfin construire les surfaces de réponse.

VIII.5. Techniques d'analyse

VIII.5.1. Analyse de variance

L'analyse de la variance (ANOVA) est un outil important dans la détermination de la signification d'un modèle mathématique. Elle est basée sur le calcul de l'écart total entre les différentes mesures du plan d'expérience et la moyenne de ces mesures. L'écart total se décompose en différentes composantes selon certains auteurs [126]. On trouve l'écart de régression qui présente la partie de l'écart total modélisable par le modèle mathématique et l'écart résiduel qui présente la partie de l'écart total non modélisable, celui-ci correspond à

la différence entre la réponse mesurée expérimentalement et la même réponse modélisée. L'écart résiduel se décompose en écart d'ajustement et écart expérimental pur. L'écart expérimental pur correspond à l'erreur aléatoire de l'expérimentation. Cet écart est dû au fait que lorsqu'on répète un certain nombre d'expériences dans les mêmes conditions, on obtient à chaque fois une mesure de valeur différente. L'écart d'ajustement est dû au choix inadapté du type de modèle postulé.

VIII.5.2. Coefficient de p -value

Dans le tableau de l'analyse de la variance, la valeur statistique la plus importante est la valeur de p . Cette valeur peut prendre des valeurs comprises entre 0 et 1. Si $p < 0.05$, on conclut que l'effet d'un facteur est significatif et si $p < 0.01$, on conclut que le facteur est hautement significatif.

VIII.5.3. Coefficient de détermination

Le coefficient de détermination R^2 traduit la fraction des variations de la réponse expliquée par le modèle seul, il appartient à l'intervalle $[0, 1]$. Si R^2 est proche de 1, le modèle permet de retrouver les valeurs des réponses mesurées. S'il est égal à 0, le modèle n'explique rien. En présence de plusieurs variables explicatives, il faut impérativement éviter d'utiliser le coefficient de détermination R^2 pour estimer la qualité du modèle. Il faut utiliser un autre coefficient qui est le coefficient de détermination ajusté $R^2_{ajusté}$.

$R^2_{ajusté}$ est défini comme la différence entre le carré moyen des écarts des résidus et le carré moyen des écarts expérimentaux. En effet, plus les valeurs de R^2 et $R^2_{ajusté}$ sont proches de 1, plus la qualité descriptive du modèle est satisfaisante.

Un autre coefficient permet de décrire la capacité prédictive du modèle, appelé R^2_{pred} . La valeur de R^2_{pred} est toujours comprise entre 0 et 1, plus cette valeur est proche de 1, plus la capacité prédictive du modèle est bonne.

VIII.5.4. Validation du modèle

Dans la pratique, trois méthodes de validation sont utilisées à savoir : (1) test de signification globale de la régression; (2) test de l'analyse du manque d'ajustement et (3) test de validation par les points.

Dans cette thèse, nous avons appliqué le test de validation par les points. Il consiste à réaliser des expériences en des points situés à l'intérieur du domaine d'étude, et à comparer les valeurs mesurées à celles calculées à partir du modèle. Ce dernier est validé si les différences entre les valeurs mesurées et calculées ne sont pas statistiquement significatives [126].

VIII.5.5. Courbe d'iso-réponses et surface de réponse

L'exploitation du modèle validé est aussi réalisée graphiquement en traçant en 2 D les courbes d'iso-réponses (Fig I.6 A). Pour ce faire, on choisit, à chaque fois, deux variables à étudier et en fixant l'autre variable (par exemple, à leur valeur moyenne). En appliquant 2D+3D pour indiquer les valeurs de la réponse, on obtient une surface de réponses (Fig I.6 B) illustrant l'évolution de la réponse en fonction des niveaux des deux facteurs choisis [126].

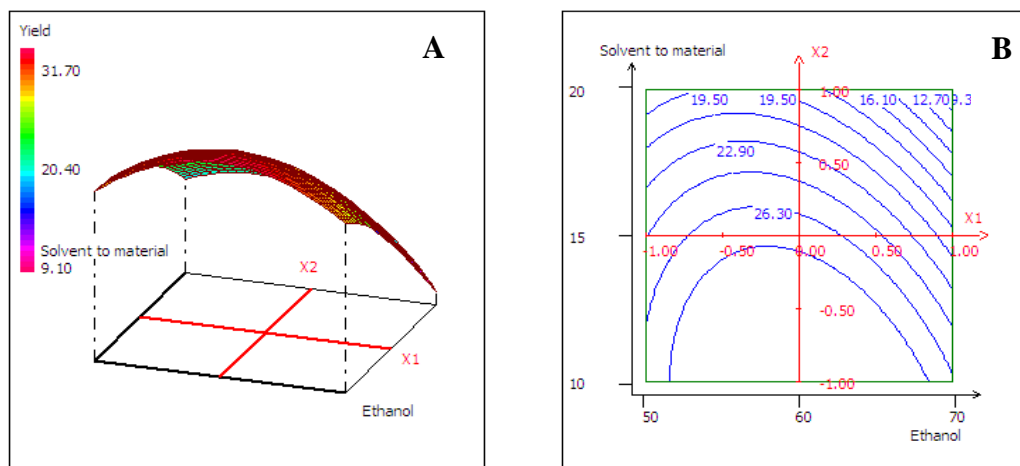


Figure I.6 : Courbes d'iso- réponse et surfaces de réponses

B. Antioxydants et activité antioxydante :

Le terme antioxydant a été utilisé pour désigner un produit chimique qui empêcherait la consommation de l'oxygène. Les antioxydants ont la capacité de neutraliser les radicaux libres et de prévenir les espèces réactives de l'oxygène. À la fin du XIXe siècle et au début du XXe siècle, des études ont été consacrées à l'utilisation des antioxydants synthétiques dans des procédés industriels importants, telle la prévention de la corrosion des métaux, en cosmétique, en pharmaceutiques...

A nos jours, le remplacement des antioxydants synthétiques par des antioxydants naturels est devenu essentiel pour éviter les effets nocifs sur la santé humaine et sur l'environnement.

I. Généralité sur les antioxydants

I.1. Définition

Les antioxydants sont des molécules suffisamment stables pour donner un électron ou un hydrogène à un radical libre pour le neutraliser, retardent ou inhibent les dommages cellulaires principalement par leur propriété de piégeage des radicaux libres, à des concentrations relativement faibles [127]. Ces antioxydants de faible poids moléculaire peuvent interagir en toute sécurité avec les radicaux libres et mettre fin à la réaction en chaîne avant que les molécules vitales soient endommagées.

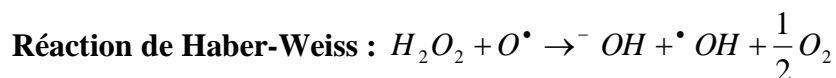
I.2. Radicaux libres

Un radical libre peut être défini comme espèces moléculaires contenant un électron non apparié dans une orbitale atomique ce qui les rend très instables, très réactifs et endommagent d'autres molécules en extrayant des électrons afin d'atteindre la stabilité [128-130].

I.3. Espèces réactives de l'oxygène

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont des radicaux libres qui dérivent de la molécule d'oxygène, par addition d'un électron. Parmi les espèces réactives de l'oxygène les plus importants on trouve : le radical superoxyde (O_2^-), le radical hydroxyle (OH^-), le monoxyde d'azote (NO), et aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante tels que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le peroxyde d'azote ($ONOO^-$) [131]. Le radical OH le plus toxique des radicaux libres est principalement le responsable de la réactivité des ERO et est formée par la réaction de Fenton et d'Haber-Weiss [132,133].

Réaction de Fenton : $H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+} + OH^- + OH$



I.4. Efficacité des antioxydants

Les antioxydants sont d'autant plus efficaces que les énergies de liaison au niveau du groupe donneur d'hydrogène sont faibles. L'efficacité des antioxydants phénoliques est due en particulier à la stabilisation des radicaux phénoliques par la délocalisation des électrons autour du cycle aromatique et aussi au nombre de fonctions OH à hydrogène labile [134,135].

II. Classification des antioxydants

Les antioxydants peuvent être classés en plusieurs catégories. Selon leur activité et leur nature chimique. Ils peuvent être classés comme antioxydants enzymatiques, non enzymatiques et antioxydants de synthèse.

II.1. Antioxydants non enzymatiques

Ce sont des antioxydants naturels capables de prévenir les dommages oxydatifs par le piégeage des radicaux libres, en intervenant directement sur les molécules pro-oxydantes ou indirectement, par chélation des métaux de transition. Quelques exemples d'antioxydants non enzymatiques sont la vitamine C, la vitamine E, les polyphénols végétaux et les caroténoïdes [136]. Une autre façon de classer les antioxydants est basée sur leur solubilité dans l'eau ou les lipides. Les antioxydants peuvent être classés comme des antioxydants hydrosolubles et liposolubles. Les antioxydants solubles dans l'eau (par exemple la vitamine C) et les antioxydants liposolubles (par exemple, la vitamine E, les caroténoïdes).

Les antioxydants peuvent également être classés selon leur taille. Les antioxydants de petites molécules et les antioxydants de grandes molécules. Les antioxydants de grandes molécules sont des enzymes (Superoxyde dismutase (SOD), Catalase (CAT) et glutathione peroxydase (GSHPx)) et des protéines sacrificielles (albumine) qui absorbent les ERO et les empêchent d'attaquer d'autres protéines essentielles. Les antioxydants de petites molécules, neutralisent les ERO dans un processus appelé piégeage radicalaire. Les principaux antioxydants de cette catégorie sont la vitamine C, la vitamine E, les caroténoïdes et des composés phénoliques [137].

➤ Vitamine C

La vitamine C ou acide ascorbique (Fig I.7) : est un antioxydant puissant capable de piéger/neutraliser les ERO à des concentrations très faibles, aussi c'est un réducteur susceptible de limiter la peroxydation lipidique et intervient dans la régénération des autres

antioxydants tels que l' α -tocophérol [138,139]. Elle est sensible à la chaleur, aux ultraviolets et à l'oxygène, présente dans la plupart des fruits et légumes (non synthétisée par l'homme à cause de l'absence de l'enzyme gulonolactone oxydase) [140, 141].

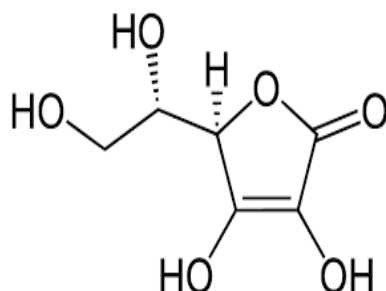


Figure I.7 : Structure de l'acide ascorbique (vitamine C)

➤ **Vitamine E**

La vitamine E ou les tocophérols, des vitamines liposolubles les plus actives biologiquement avec des caractères antioxydants, jouent un rôle important dans la suppression de la peroxydation des lipides et s'accumulent sur des sites où la production des radicaux d'oxygène est la plus élevée [142]. La vitamine E neutralise les radicaux peroxyde [143].

➤ **Caroténoïdes et composés phénoliques**

Parmi les caroténoïdes les plus importants, on trouve le bêta-carotène qui est un piègeur efficace des espèces radicalaires [144]. Les composés phénoliques sont caractérisés par leur capacité antioxydante dans l'élimination des chaînes radicalaires par des mécanismes de transfert des protons ou d'électrons (Fig. I.8) [145-147]. L'interaction des groupes hydroxyles de composés phénoliques avec le (R^{\bullet}) donne aux molécules formées avec des propriétés particulières, notamment la capacité à générer les radicaux libres, où le radical est stabilisé par délocalisation.

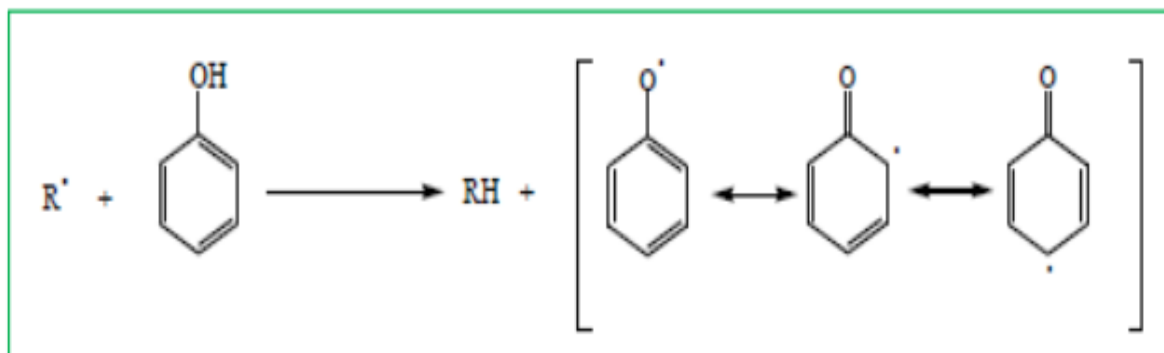


Figure I.8: Mécanisme d'action des antioxydants phénoliques (piégeage des radicaux libres)

II.2. Antioxydants de synthèse :

Les antioxydants de synthèse tels que le butyle hydroxy anisole (BHA), le butyle hydroxy toluène (BHT) et l'acide ascorbique sont très efficaces mais susceptibles de manifester des effets secondaires voire toxiques [148,149]. Les antioxydants naturels sont capables de prévenir les dommages oxydatifs. Il devient de plus en plus recommandé de remplacer les antioxydants synthétisés. Plusieurs molécules bioactives ayant des propriétés antioxydantes sont isolées des plantes [150-152].

III. Méthodes de déterminations de l'activité antioxydante :

Il existe une très grande diversité de méthodes pour évaluer l'activité antioxydante des extraits d'origine végétale et des huiles essentielles. Plusieurs méthodes ont été dédiées à l'analyse des étapes distinctes du processus d'oxydation comme par exemple la mesure de la consommation de l'oxygène au cours de l'oxydation; la formation des produits d'oxydation et la capacité à piéger les radicaux libres à différentes phases.

Dans cette thèse, nous nous sommes intéressés à quatre techniques à savoir: DPPH[•], FRAP, β-carotène et l'activité antioxydante totale.

III.1. Test DPPH[•] (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrozyl)

La méthode de DPPH[•] (1, 1-Diphenyl-2-picrylhydrozyl) a été utilisée pour la première fois par Blois [153]. Elle est basée sur la réduction des radicaux libres par la réaction entre le radical DPPH[•] et l'antioxydant (AH) ce qui conduit à la formation de (DPPH-H) et d'un radical plus stable A[•]. Au cours de cette réaction, la colorimétrie de la solution change sous l'effet d'un agent antioxydant qui entraîne la décoloration de la solution.

Le pourcentage du DPPH restant est proportionnel à la concentration de l'antioxydant. La concentration du composé phénolique nécessaire pour atteindre une disparition de 50 % du

DPPH à l'équilibre est connue sous l'acronyme IC50. La méthode du DPPH^{*} a été utilisée par de nombreux auteurs, du fait de sa rapidité et de sa reproductibilité.

III.2. Pouvoir réducteur (*FRAP*, *ferric reducing antioxidant power*)

La méthode de FRAP correspond à la réduction d'un complexe tripyridyltriazine ferrique [(Fe(III)-TPTZ)³] en un complexe tripyridyltriazine ferreux [(Fe(II)-TPTZ)²] par un antioxydant (AH), à un pH légèrement acide de 6.6 [154]. Pendant la réaction, une coloration bleue apparaît ce qui montre la réduction du complexe ferrique en complexe ferreux. Plus la couleur bleue est intense, plus l'échantillon peut être considéré comme un bon réducteur.

III.3. Méthode de blanchissement du β -carotène

Cette méthode consiste à mesurer l'inhibition de décoloration du β -carotène par les produits d'oxydation de l'acide linoléique en présence d'un antioxydant. Cependant, l'oxydation de l'acide linoléique génère des radicaux peroxydes qui vont par la suite oxyder le β -carotène entraînant ainsi la disparition de sa couleur rouge. La présence d'un antioxydant pourrait neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et donc prévenir l'oxydation et le blanchissement du β -carotène. Donc, on peut conclure que l'efficacité d'un antioxydant est plus grande lorsque la décoloration du β -carotène est lente [155].

III.4. Méthode de l'activité antioxydante totale (AAT)

L'activité antioxydante totale (AAT) des extraits est basée sur la réduction du molybdène Mo (VI) présent sous la forme MoO₄²⁻ en complexe vert de phosphate/ Mo(V) à pH acide [156].

C. Généralités et revue bibliographique sur l'inhibition de la corrosion :

Dans cette partie du chapitre, la synthèse bibliographique est présentée en deux parties. Dans la première partie, l'accent est mis sur la corrosion des métaux en milieux acides, l'utilisation des inhibiteurs, les mécanismes d'action des inhibiteurs ainsi que la méthode d'analyse de la corrosion. Dans la seconde partie, nous présentons les différents travaux de recherche portant sur l'utilisation des inhibiteurs naturels comme inhibiteurs de la corrosion de l'acier doux dans un milieu acide et sur leurs mécanismes d'action.

I. Définition et généralités sur la corrosion

I.1. Définition

Les matériaux métalliques utilisés dans la pratique sont naturellement exposés à la corrosion lorsqu'ils sont en contact avec les milieux atmosphériques et aqueux. Donc, la corrosion des métaux est l'un des problèmes que nous rencontrons dans les sociétés industrialisées ; c'est pourquoi elle a été étudiée de manière globale depuis la révolution industrielle de la fin du XVIII^e siècle.

Le terme "corrosion" tient son origine en Latin. Le mot latin signifie "ronger" et "corroder". Selon la norme ISO 8044 la corrosion est définie comme une interaction physico-chimique entre un métal et son milieu environnant, entraînant des modifications dans les propriétés du métal et souvent une dégradation fonctionnelle du métal lui-même [157].

Selon le recueil des définitions des termes chimiques de l'Union Internationale de la Chimie Fondamentale et Appliquée (seconde édition – 1997 du compendium de l'IUPAC) [158], la corrosion est une réaction inter-faciale irréversible d'un matériau (métal, céramique, polymère) avec son environnement qui entraîne la détérioration et la dissolution des matériaux.

Autrement, la corrosion est un processus d'oxydation chimique ou électrochimique dans lequel le métal transfère des électrons dans l'environnement et subit un changement de valence de zéro à une valeur plus positive en raison d'un écoulement de courant. L'environnement peut être liquide, gazeux, hybride ou sol-liquide. Ces environnements sont appelés électrolytes car ils ont leur propre conductivité pour le transfert de charges ioniques. Par exemple dans une solution aqueuse, le processus de corrosion des métaux et d'alliages est dû principalement aux réactions électrochimiques [159,160] sous l'action de deux réactions élémentaires réaction anodique (oxydation) et réaction cathodique

(réduction). Ces réactions sont définies ci-dessous pour le métal du fer immergé dans une solution acide chlorhydrique.



Comme les ions chlorure ne participent pas directement à la réaction, on peut simplifier la réaction (I.3) :



Dans le cas d'un milieu neutre ou alcalin, la réaction de réduction est :



Les espèces oxydantes intervenant le plus souvent dans la corrosion électrochimique sont : la molécule d'eau (en milieu désaéré), les protons hydrogènes en milieu acide et l'oxygène dissous en milieu alcalin [161].

I.2. Facteurs de la corrosion

Les processus de la corrosion des métaux dépendent d'un grand nombre de facteurs et peuvent être classés en quatre groupes principaux [162] :

- **Facteurs métallurgiques:** Par exemple, la composition de l'alliage, Procédés d'élaboration, traitement thermique, traitement mécanique...
- **Facteurs dépendant du temps:** Par exemple, vieillissement des matériaux, tension mécanique, modification des revêtements protecteurs....
- **Facteurs définissant les conditions d'emploi:** Par exemple, l'état de surface, les formes des pièces, le mode d'emploi d'inhibiteur ...
- **Facteurs dépendant du milieu corrosif:** concentration du réactif, teneur en oxygène, pH du milieu, température et pression...

I.3. Généralités sur les aciers

Selon la norme NF EN 10020, « on appelle acier un matériau dont le fer est l'élément prédominant, sa teneur en carbone est généralement inférieure à 2 % et il contient d'autres éléments [163]». On peut classer les divers types d'alliages à base de fer selon leur composition chimique ou selon leur domaine d'utilisation en quatre familles d'aciers :

- Les aciers au carbone (l'acier doux) d'usage général

- Les aciers non alliés (pour traitement thermique, soudables, forgeables...)
- Les aciers fortement alliés (très haute résistance, utilisés dans l'aéronautique et pour la fabrication de coque de sous-marins.
- Les aciers inoxydables (les applications sont multiples : chimie, nucléaire, alimentaire...)

L'acier doux est faiblement résistant à la corrosion, il est moins cher et plus utilisé par les industriels, dans les constructions routières, les industries chimiques, dans le domaine automobile, la construction navale...

Néanmoins, il faut tenir compte des conséquences de la corrosion lorsqu'on utilise l'acier comme matériau principal. La corrosion des aciers coûterait plus de milliards de dollars pour son entretien. On n'estime que le coût moyen pour la plupart des pays industrialisés de 1 à 5 % de leur produit national brut (PNB) [164,165]. La plupart des pertes sont d'ordre économique (arrêt des équipements) et d'aspects sociaux (santé) [164] ce qui nécessite la mise en place d'une politique de prévention et de lutte [166]. Il existe de nombreuses méthodes pour lutter contre la corrosion du métal par exemple: la galvanisation, la protection cathodique et anodique, l'utilisation de solution antirouille (revêtements métalliques) et l'ajout d'inhibiteurs de corrosion, etc. Cependant, l'utilisation des inhibiteurs de corrosion est souvent recommandée dans les milieux acides [167].

II. Protection de la corrosion par les inhibiteurs

II. 1. Inhibiteurs et inhibition

Étymologiquement, le terme "inhibition" vient du mot Latin, qui signifie "mettre opposition à l'activité". Il a été observé, depuis de nombreuses années, que les canalisations de certaines eaux naturelles étaient protégées de la corrosion par des dépôts de calcaire se formant sur leur paroi interne, et que le passage d'une eau pure dans ces canalisations provoquait des fuites dans le réseau. Il est devenu nécessaire d'ajuster la composition minérale de l'eau par adjonction du calcium afin de protéger les canalisations, donnant ainsi naissance à la technique de l'inhibition [168].

Selon la norme ISO 8044 [169] l'inhibiteur est une : «Substance chimique ajoutée au système de corrosion à une faible quantité, à une concentration choisie pour son efficacité, entraîne une diminution de la vitesse de corrosion sans modifier de manière significative la concentration d'aucun agent corrosif contenu dans le milieu agressif».

Un inhibiteur de corrosion doit vérifier un certain nombre de propriétés fondamentales: abaisser la vitesse de corrosion du métal tout en conservant les caractéristiques physico-chimiques, être soluble, être stable en présence d'autres constituants, être stable dans le

domaine de températures utilisé, être efficace à faible concentration, être efficace dans les conditions d'utilisation, être facile à mettre en œuvre. Il ne doit pas favoriser la croissance des bactéries, être compatible avec les normes de sécurité en vigueur de non-toxicité et de protection de l'environnement. Il faut noter que la non-toxicité est le point faible des molécules inhibitrices actuellement utilisées. En effet, un certain nombre d'entre elles sont sur le point d'être interdites et c'est pour cela que les recherches s'orientent vers des molécules moins agressives pour l'environnement.

La protection par un inhibiteur de corrosion peut être: une protection irréversible (permanente) [170] ou une protection réversible (temporaire) (stockage, nettoyage ...) ou encore lorsque la pièce est soumise à des usinages très sévères comme le perçage.

Le choix d'un inhibiteur pour prévenir ou minimiser la corrosion d'un métal dépend principalement de la nature du métal et de l'environnement corrosif.

L'inhibiteur peut fonctionner comme indiqué ci-dessous :

- être adsorbé sous forme de film sur la surface d'un métal;
- modifier les caractéristiques de l'environnement soit en produisant des précipités ou l'inactivation d'un constituant agressif pour qu'il ne corrode pas le métal.

Dans une solution corrosive, on peut utiliser un ou plusieurs inhibiteurs. Dans ce cas, l'effet anti-corrosif total ne correspond généralement pas à la somme de chacune des actions intrinsèques respectives, mais grâce à une synergie qui peut se manifester [171].

II.2. Classification des inhibiteurs:

Plusieurs possibilités ont été adaptées pour classer les inhibiteurs les un par rapports aux autres [172]:

- ✓ La nature chimique des inhibiteurs;
- ✓ Le mécanisme d'action électrochimique des inhibiteurs (inhibiteurs cathodiques, anodiques ou mixtes) ;
- ✓ Le domaine d'applications ;
- ✓ Les mécanismes d'interface et principes d'action (adsorption à la surface du métal et/ou formation d'un film protecteur).

II.2.1. Nature chimique des inhibiteurs :

Selon la nature chimique on peut distinguer deux types d'inhibiteurs : organiques et minéraux.

Les inhibiteurs minéraux sont le plus souvent utilisés dans un milieu proche de la neutralité, ou alcalin et plus rarement en milieu acide. Les phénomènes d'inhibitions sont souvent assurés par les cations essentiellement Ca^{2+} et Zn^{2+} qui forment des sels insolubles

avec certains anions tels que l'hydroxyle (OH^-). Le nombre de molécules minérales en usage comme inhibiteur de corrosion à l'heure actuelle est en restriction car la plupart des produits efficaces sont néfastes pour l'environnement.

Les inhibiteurs organiques sont souvent utilisés en milieu acide. Cependant, en raison de leur écotoxicité, ils sont de plus en plus utilisés en milieu neutre/alcalin. Les inhibiteurs organiques possèdent au moins un centre actif susceptible d'échanger des électrons avec le métal, tels l'azote, l'oxygène, le phosphore ou le soufre. En outre, les groupes fonctionnels permettant leur fixation sur le métal sont : les fonctions NH_2^- , SH^- , OH^- et COOH^- . L'action inhibitrice de ces composés organiques est liée à la formation par adsorption d'une barrière qui empêche l'infiltration de la solution à l'interface métallique.

II.2.2. Mécanismes d'action électrochimique

On peut distinguer les inhibiteurs anodique, cathodique ou mixte. L'inhibiteur de corrosion forme un film barrière à la surface métallique, en bloquant soient les sites anodiques, les sites cathodiques (inhibiteur cathodiques), ou les deux sites en même temps (inhibiteurs mixtes).

II.2.3. Domaines d'application

Les inhibiteurs de corrosion sont souvent classés selon leur domaine d'application. En milieux aqueux, les inhibiteurs pour milieux acides sont employés, entre autres, pour éviter une attaque électrochimique de l'acier lors du décapage et détartrage [173]. Les inhibiteurs pour milieux neutres servent surtout à protéger des circuits de refroidissement [174]. En milieu organique, de grandes quantités d'inhibiteurs de corrosion sont utilisées dans les lubrifiants pour moteurs et dans l'essence puisque ces liquides contiennent souvent des traces d'eau et des espèces ioniques qui peuvent provoquer une corrosion notamment par piqûres [175]. Dans les peintures, des inhibiteurs sont également utilisés [176, 177]. En phase gazeuse les inhibiteurs sont souvent employés pour une protection temporaire. Il s'agit le plus souvent de composés organiques ayant une tension de vapeur élevée [178]. D'autres inhibiteurs sont également utilisés en milieux basiques [179].

II.2.4. Mécanismes d'interface et principes d'action

Ce type d'inhibiteurs est classé selon leur mode de fixation à la surface métallique. On peut distinguer des inhibiteurs d'adsorption ou "d'interface" et les inhibiteurs dits "d'interphase".

✓ **Les inhibiteurs d'interface:** sont observés en milieu acide et agissent par La formation des films mono ou bidimensionnels de molécules par adsorption à la surface du métal. Dans ce cas, l'adsorption de l'inhibiteur peut s'effectuer selon différents

processus à savoir : le blocage des sites actifs, le blocage géométrique de la surface du métal ou bien par la modification de la cinétique réactionnelle.

✓ **Les inhibiteurs d'interphase:** sont spécifiques aux milieux neutres ou alcalins et forment des films tridimensionnels entre le substrat corrodé et les molécules d'inhibiteurs [180]. Dans ce cas, le taux d'inhibition dépend fortement des propriétés mécanique, structurale et chimique du film.

Notons qu'il existe deux types de liaisons entre l'espèce adsorbée et la surface métallique ; qu'ils s'agissent de la liaison électrostatique et de la liaison chimique. Donc deux types d'adsorption: la **physisorption** et la **chimisorption**. Ces deux types d'adsorption sont influencés par la nature et la charge du métal, la structure chimique de l'inhibiteur et le type d'électrolyte. Par ailleurs, dans certains cas, des liaisons hydrogène peuvent également être formées.

✓ **Adsorption chimique (chimisorption)**

Le processus d'adsorption chimique met en jeu un transfert ou un partage d'électrons entre les molécules de l'inhibiteur et les orbitales « d » vacantes de la surface du métal. Ceci permet de former des liaisons de coordination ou des liaisons covalentes irréversibles et spécifiques pour chaque métal. C'est un processus lent, dépendant de la température et est caractérisé par une grande énergie d'activation et conduit à une efficacité plus importante de l'inhibiteur [181] par rapport au mécanisme de physisorption.

➤ **Adsorption physique (physisorption)**

L'adsorption physique résulte d'une interaction électrostatique entre les ions ou les dipôles de l'inhibiteur et la surface du métal électriquement chargée. Dans ce cas, on peut distinguer trois types de liaisons : les liaisons de Van der Waals (toujours présentes), les liaisons polaires dépendant des charges de surface et de l'inhibiteur et les liaisons hydrogène s'établissant entre un donneur de liaison de doublet libre tels N, O, P, S et un accepteur d'électrons [182]. Les espèces inhibitrices adsorbées à la surface métallique en raison des forces électrostatiques sont généralement faibles et peuvent également être désorbées facilement. Aussi, les ions adsorbés ne sont pas en contact direct avec le métal mais il existe une couche de molécules d'eau qui sépare le métal des ions. C'est un mécanisme indépendant de la température et est caractérisé par une énergie d'activation faible [182]. Dans le cas où la molécule inhibitrice peut établir des liaisons multiples avec la surface métallique, des complexes de surface peuvent se former. Il s'agit de composés organiques qui possèdent plusieurs groupes fonctionnels s'adsorbant simultanément sur un ou plusieurs atomes métalliques de la surface avec cyclisation de la molécule. On appelle

ces mécanismes particuliers chélation. La plupart des inhibiteurs synthétiques inorganiques ou organiques sont des substances toxiques pour l'environnement et les êtres humains [183,184]. A cause des effets néfastes des inhibiteurs synthétiques sur l'environnement, nous étions conduits à l'utilisation de produits naturels d'origine végétale comme agents anticorrosifs respectueux de l'environnement et de la santé humaine. Les substances naturelles représentent aussi une source riche en composés actifs qui peut être renouvelable [185,186]. Les inhibiteurs extraits de matière végétale sont riches en molécules hétérocycliques et aromatiques, contenant des hétéroatomes, tels que les tanins, les flavonoids, les saponines, les stéroïdes et les alcaloïdes [187-189].

II.3. Facteurs influençant le taux d'inhibition en milieux acides

L'efficacité inhibitrice d'un inhibiteur dépend de la structure moléculaire, de la concentration ainsi que de la température.

- **Structure moléculaire**

La molécule inhibitrice s'adsorbe à la surface du métal par son groupement fonctionnel qui tend à former des liaisons avec le métal en donnant des électrons.

- **Concentration de l'inhibiteur**

L'influence de la concentration de l'inhibiteur sur le taux d'inhibition peut être mise en évidence par l'étude des isothermes d'adsorption. Ces isothermes permettent de déterminer le mécanisme d'adsorption des différentes molécules. Quatre isothermes classiques sont souvent utilisées à savoir : l'isotherme de Langmuir, de Temkin, de Frumkin et Freundlich. Dans notre travail, nous allons tester ces quatre modèles pour identifier le mode d'adsorption des différentes familles des molécules extraites de la matière végétale.

➤ **Isotherme de Langmuir**

Ce modèle suppose qu'il existe à la surface un nombre limite de sites, dont chacun ne peut accueillir qu'une seule particule. L'adsorption des molécules se produit sur des sites énergétiquement homogène, sans interactions entre les particules adsorbées et par conséquent l'énergie d'adsorption est constante [190]. La théorie de Langmuir considère que la vitesse d'adsorption est égale à la vitesse de désorption à l'équilibre pour lequel la quantité de soluté adsorbée est constante. L'isotherme de Langmuir est donné selon l'équation linéaire suivante (I.6) :

$$\frac{C}{\theta} = \frac{1}{K_{\text{ads}}} + C \quad (\text{I.6})$$

Où :

Θ : le taux de recouvrement de la surface

K_{ads} : le coefficient d'adsorption

➤ **Isotherme de Temkin**

Ce modèle suppose que l'énergie libre d'adsorption de l'adsorbat varie d'une manière linéaire avec le taux de recouvrement θ et que l'adsorption des molécules se produit sur des sites énergétiquement hétérogènes ce qui suppose des interactions entre les espèces adsorbées. L'isotherme de Temkin est donnée selon l'équation linéaire suivante (I.7) :

$$\theta = \frac{-1}{2a} (\ln K_{\text{ads}} + \ln C) \quad (\text{I.7})$$

Où:

a: constante d'interaction entre particules adsorbées

K_{ads} : désigne le coefficient d'adsorption

C_{inh} : la concentration de l'inhibiteur dans l'électrolyte

θ : est le taux de recouvrement de la surface

➤ **Isotherme de Frumkin**

L'isotherme de Frumkin permet de tenir compte des interactions entre les molécules adsorbées sur des surfaces énergétiquement hétérogènes. L'isotherme de Frumkin peut être considérée comme le cas général de Langmuir (quand $\alpha = 0$) et de Temkin (quand $\alpha \gg 0$).

L'équation de l'isotherme de Frumkin est donnée par la relation suivante (I.8):

$$\ln\left(\frac{\theta}{C(1-\theta)}\right) = \ln K_{\text{ads}} + 2\alpha\theta \quad (\text{I.8})$$

Où:

K_{ads} : constante d'équilibre de la réaction d'adsorption ;

C_{inh} : concentration de l'inhibiteur;

α : paramètre d'interaction ;

θ : est le taux de recouvrement de la surface ;

➤ **Isotherme de Freundlich**

Le modèle d'adsorption de Freundlich est établi dans le cas de formation possible de plus d'une monocouche d'adsorption à la surface où les sites sont hétérogènes avec des

énergies de fixation différentes. L'isotherme d'adsorption de Freundlich est donnée par la relation suivante (I.9):

$$\ln \theta = \ln K_{ads} + n \ln C \quad (I.9)$$

Où :

K_{ads} : constante d'équilibre de la réaction d'adsorption ;

C_{inh} : concentration de l'inhibiteur ;

n : est positif généralement ;

θ : est le taux de recouvrement de la surface ;

• **Effet de la température**

La température est un facteur cinétique qu'un effet important sur le processus de la corrosion. Il peut modifier le comportement d'un matériau ainsi que l'interaction métal – inhibiteur dans un milieu corrosif. Donc la température peut affecter la vitesse de la corrosion d'un métal. Très souvent la variation de la vitesse de corrosion est donnée par la loi d'Arrhenius [191] selon l'équation (I.10) :

$$w_{corr} = A \exp\left(\frac{-E_a}{RT}\right) \quad (I.10)$$

Où :

w_{corr} : vitesse de corrosion ;

E_a : l'énergie d'activation ;

A : facteur pré-exponentiel ;

Généralement, la vitesse d'une réaction chimique augmente avec la température, mais dans certains cas, on peut avoir l'effet inverse car la température affecte d'autres facteurs de corrosion. Par exemple, la littérature [191], considère que l'augmentation de l'efficacité inhibitrice avec la température est due au changement de nature de l'adsorption. Lebrini, montre que l'augmentation de la température provoque un abaissement du courant de corrosion i_{corr} et une augmentation de l'efficacité inhibitrice dans tout le domaine de température étudié [192].

En effet, Radovici [193] a classé les inhibiteurs en trois groupes en se référant à la comparaison de leurs énergies d'activation obtenues en présence E_a et en absence d'inhibiteur E_a° :

- ✓ Lorsque $E_a > E_a^\circ$: Dans ce cas, l'inhibiteur est adsorbé à la surface du métal par des liaisons électrostatiques sensibles à la température, et donc ne permet pas de lutter efficacement contre la corrosion lorsque la température augmente.

- ✓ Lorsque $E_a < E_a^\circ$: Les molécules s'adsorbent à la surface métallique par liaisons chimiques fortes.
- ✓ Lorsque $E_a = E_a^\circ$: Dans ce cas le taux d'inhibition est indépendant de la température.

II.4. Méthode d'analyse de surface

Les méthodes d'analyse chimiques et de topographiques des surfaces utilisées permettent d'apporter des informations complémentaires aux résultats issus des techniques électrochimiques.

➤ Microscopie électronique à balayage (MEB-EDX)

La microscopie électronique à balayage MEB couplée à la microanalyse X est une technique robuste la plus utilisée en matière de topographie à l'échelle microscopique. Elle permet la détermination de la composition chimique de l'acier doux étudié. Elle est basée sur le principe des interactions électrons-matière avec une tension d'accélération de 20 kV ce qui donne des spectres EDX (*Energie Dispersive X-ray*) et par conséquent une analyse qualitative et quantitative de l'échantillon.

Le principe du MEB consiste à balayer un faisceau d'électrons à la surface de l'échantillon à analyser qui, en réponse, réémet certaines particules. Ces particules sont analysées par différents détecteurs qui permettent de reconstruire une image en trois dimensions de la surface.

III. Substances naturelles végétales comme inhibiteurs de corrosion

Le nombre d'articles et de *revues* bibliographiques porté sur l'utilisation des huiles essentielles et des extraits de matière végétale comme inhibiteurs de la corrosion a amplement augmenté durant les années 2000 à 2010 de 4813 à 9873 [194]. Ceci justifie l'intérêt porté à l'utilisation des inhibiteurs verts afin de contrôler la corrosion de différents métaux.

Parmi les extraits et les huiles essentielles de plantes étudiés sur l'inhibition de la corrosion d'un acier doux en milieu acide, on cite : l'extrait de *Chamomilla recutita* [195], l'extrait de *Marrubium vulgare* [196], l'extrait de *Henna Lawsonia* [197], l'extrait de *Thymus vulgaris* [198], l'extrait de feuille de *Rosemarinus officinalis* [199,200], l'extrait de *Rhizophora Mucronata* [201], l'extrait de *Salvia officinalis* [202], l'extrait de *Silybum Marianum* [203], l'huile essentielle de *Lavandula angustifolia* [204]. L'effet d'inhibition par l'huile végétale d'*Argan Spinosa* sur la corrosion de l'acier doux dans HCl dilué a été étudié par Bouyanzer [205,206]. Le mécanisme d'inhibition de la corrosion de l'acier à faible teneur en carbone par les tanins d'*Acacia dealbata* dans un milieu H_2SO_4 a été étudié par Martinez et Stern [207]. Oguzie a étudié l'efficacité de l'extrait de *Telforia occidentalis* comme

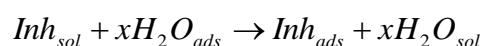
inhibiteur de corrosion de l'acier doux dans les milieux HCl et H₂SO₄ [208]. Oguzie a étudié l'effet inhibiteur de l'extrait d'*Occium viridis* [209] sur la corrosion de l'acier doux en milieu acide. Edyy et al. ont étudié l'extrait d'*Ocimum gratissimum* [210] pour lutter contre la corrosion de l'acier doux en milieu acide. Yan et al. ont étudié l'effet anticorrosif d'un alcaloïde contre la corrosion d'un acier doux dans le milieu H₂SO₄ [211].

De même, des travaux se sont intéressés aux extraits aqueux et méthanolique de *l'Ammi visnaga* contre la corrosion de l'acier SX 316 et l'acier doux dans une solution d'acide chlorhydrique HCl 2M et HCl 1M [212, 213]. L'extrait aqueux de *Zea mays* a été étudié contre la corrosion de l'acier doux dans une solution d'acide chlorhydrique 0.5 M HCl [214]. Aussi, l'effet synergétique de l'extrait des feuilles de *Ficus elastica Roxbet* de *Zea mays* a été testé pour étudier la corrosion de l'acier doux en milieu acide H₂SO₄ 1M [215]. L'action inhibitrice de tous ces extraits pouvant être liée à la présence des constituants réactive tels O⁻, N⁻, S⁻, P⁻ qui contribuent à la formation d'un film compact sur la surface métallique, réduisant la corrosion. L'analyse de la structure chimique de certains constituants des extraits de plantes révèle que toutes les molécules sont des hydrocarbures à longue chaîne portant un groupe polaire à l'une ou l'autre extrémité. En effet, les extraits de plantes sont riches en familles de composés tels que : les terpènes, les tanins, les polyphénols, les acides carboxyliques et les flavonoides peuvent présenter une activité anticorrosive des métaux [216], ce qui est tout à fait en accord avec les travaux de Riggs [217]. Cependant, il est relativement difficile de comprendre le mécanisme d'action d'un extrait à cause de la présence de plusieurs composés. En effet, des tests réalisés sur des composés de synthèse analogues au composé majoritaire de l'extrait peuvent faciliter la compréhension du mécanisme. Par exemple : le 3-hydroxy flavone [218], catéchine [219], flavonoïdes (quercetine) [220] et l'étude de l'acide ascorbique [221].

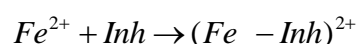
III.1. Mécanisme d'action des inhibiteurs végétaux :

Le mécanisme d'inhibition de la corrosion de l'acier doux par les extraits pourrait être attribué à l'adsorption des composés présents dans les extraits à la surface du métal produisant une barrière ou un film protecteur qui sépare la surface métallique du milieu corrosif [222].

Le mécanisme d'adsorption des substances naturelles à l'interface métal/solution peut consister en une ou plusieurs étapes; dont la première concerne le remplacement des molécules d'eaux initialement adsorbées à la surface du métal par des molécules inhibitrices, la seconde étape réside dans la combinaison de l'inhibiteur avec des ions métalliques en solution.



Etape 1



Etape 2

Ainsi le complexe (métal-organique) est adsorbé à la surface du métal et par conséquent, il bloque les sites actifs. Dans le but de discuter le mécanisme d'adsorption des polyphénols à la surface métallique, on va citer quelques études qui traitent le mécanisme d'action des polyphénols.

Les polyphénols sont considérés comme des composés organiques d'origine naturelle. Leur action inhibitrice de corrosion est principalement attribuée à la présence de groupes hydroxyles, des cycles aromatiques et des hétéroatomes et des groupes fonctionnels (C=O, C=C). El-Etre [199] a étudié l'inhibition de la corrosion de l'acier au carbone par des extraits de feuilles d'olivier. Dans ce cas, l'effet de l'inhibition a été attribué à l'adsorption des atomes d'oxygène formant ainsi un film de recouvrement et agissant comme une barrière entre la surface de l'acier et la solution agressive. De plus, la disposition des atomes d'oxygène entourant les noyaux aromatiques des phénols suggère que les composés phénoliques sont adsorbés horizontalement à la surface de l'acier. El-Etre [212] a étudié l'effet de l'inhibition de l'extrait aqueux de *l'Ammi visnaga* en comparant la capacité de complexation des composés majeurs Khellin et visnagin avec le fer généralement attribuée à des liaisons chimiques (chimisorption). Tan [223] a étudié l'effet inhibiteur de la catéchine contre la corrosion de l'acier dans un milieu acide. L'action inhibitrice de ce dernier a été imputée à leur structure constituée d'un cycle benzénique à π électrons délocalisés favorisant probablement l'interaction entre la catéchine et le métal.

Plusieurs études ont montré que les tanins sont des inhibiteurs de corrosion [224-227] et que leur mécanisme d'action est dû à la présence des groupes hydroxyle adjacents qui interagissent avec les ions métalliques [228-230] en formant des chélates métalliques insolubles [231]. D'après Gust [232], l'adsorption des molécules de flavonoïdes pourrait avoir lieu sur un cycle aromatique **A** ou **B** (Fig. I.9) en fonction de l'orientation du monomère de flavonoïdes et du nombre de groupes hydroxyle fixés sur la molécule. L'adsorption pourrait donc se faire par le partage des électrons du groupe donneur (OH) ou des π -électrons aromatiques, entre la molécule flavonoïdes et les d-orbitales de fer.

D'après Gust [232], les flavonoïdes peuvent agir comme agents chélatants. Plusieurs auteurs ont suggéré que l'activité chélatante est due à la liaison entre l'ion métal (M^{n+}) et les deux sites sur la molécule, principalement le groupe ortho- hydroxyle du cycle **B** et du cycle **C**. Dans ce cas, les molécules inhibitrices pourraient affecter la réaction de dissolution du métal.

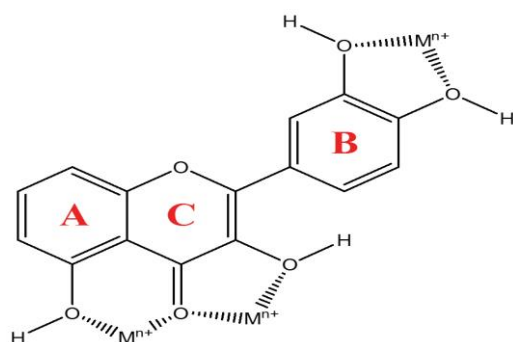


Figure I.9 : Sites de liaison des flavonoïdes avec le métal

D'autres travaux indiqués dans [233-235] ont souligné l'existence d'une relation entre l'effet de piégeage des radicaux libres par les polyphénols et leurs propriétés anticorrosives. Ainsi, ils ont montré que la capacité de piégeage des radicaux libres et l'activité anticorrosion augmentent lorsque la masse moléculaire de polyphénols et le nombre de groupes OH en ortho sont élevés.

Conclusion

D'après l'analyse de cette revue bibliographique, on peut conclure que les produits chimiques qui peuvent inhiber la corrosion du fer et de ses alliages peuvent être inorganiques ou organiques. Les composés inorganiques tels que les chromates inhibent le processus de corrosion par la formation d'un film d'oxyde passif à la surface du métal et empêchent ainsi le milieu corrosif d'attaquer la matrice métallique. Les composés organiques s'adsorbent à la surface métallique formant une barrière entre le métal et l'environnement corrosif à cause de la présence d'atomes d'oxygène, d'azote ou de soufre ainsi que de la présence de doubles liaisons. Le choix de l'inhibiteur est basé sur deux critères dont le premier est le coût du processus qui doit être raisonnable. Le deuxième critère très important, réside dans son impact sur l'environnement. En effet, la plupart des inhibiteurs de corrosion, efficaces, sont des produits chimiques synthétiques de coût élevé dont l'utilisation peut causer des dommages aux vies humaines et à l'environnement. La littérature récente regorge de travaux qui examinent différents extraits de plantes pour des applications d'inhibition de la corrosion. Bon nombre de ces substances naturelles ont prouvé leur capacité à agir comme inhibiteurs contre la corrosion de différents métaux et alliages dans différents milieux agressifs.

Références bibliographiques

1. J. Bellakhdar, La pharmacopée traditionnelle Marocaine, Ibis Press, Paris, 1997.
2. S.Boukhira, Thèse de doctorat, *Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Faculté des Sciences Dhar El Mahraz - Fès*, (2017) 8.
3. M. H. Amjad, *Bangladesh Council j. sci. ind. Res.*, 10 (2005) 56.
4. K.W. Lee, *J Agric. Food chem.* 51 (2003) 7292.
5. N. Porter, *Corps and Food Research*. Number 32 (2001).
6. B. Smallfield, *Corps and Food Research*. Number 45 (2001) 4.
7. D. Ben Hmamou, R. Salghi, A. Zarrouk et al, *Der Pharma Chem.* 4 (2012) 1496.
8. M.E.Jones, A. A. Kossel, *Yale J. Biol. Med.* 26 (1953) 80.
9. M. Ali, B.H. Abbasi, I. Ul-haq, *Ind Crops Prod.* 49 (2013) 400.
10. D. M. Troppens, M.Chu, L. J. Holcombe, O. Gleeson, F. O’Gara, N. D. Read, J. P. Morrissey, *Fungal Genet Biol.* 56 (2013) 35.
11. D.Lee, M. H.Yoon, Y. P. Kang, J.Yu , J. H. Park , J. Lee, S. W. Kwon. *Food Chem.* 141 (2013) 3931.
12. A. Wojakowska, A. Piasecka, P. M. García-López, F. Zamora-Natera, P. Krajewski, Ł. Marczak, P. Kachlicki, M. Stobiecki, *Phytochem.* 92 (2013) 71.
13. M. Iriti, *Int. J. Mol. Sci.* 14 (2013) 10819.
14. A. Aires, E. Marques, R. Carvalho, E. A. S. Rosa, M. J. Saavedra, *Mol.* 18 (2013) 4651.
15. J. B. Harborne , N. J. Walton, D. E. Imperial, *college press*, (1996) 1,
16. A. Lobstein, *Substances naturelles et pharmacognosie, les alcaloïdes*, (2010) 3.
17. D.S Seigler. *Plant Secondary Metabolism*. New York: Springer Science: Business Media; 1995.
18. K. A.Gallagher, W. Fenical, P. R, *Curr Opin Biotech*, 21 (2010) 794
19. A. R. Hussein, A. A. El-Anssary, *Open access peer-reviewed chapter*, (2018), DOI: 10.5772/intechopen.76139
20. B.Buchanan, W. Gruissem, R. Jones, *ASPB*, 24 (2000) 1250.
21. P. Hollman, A.Cassidy, B.Comte, T. Hatzold, M. Heinonen, E. Richling, *J.Nut*, 29 (2010) 989.
22. J.J. Macheix, A. Fleuriet, P. Sarni-Manchado, Eds. Paris: Lavoisier. (2006) 1.
23. Y. Moulay, Thèse doctorat, *Universite Kasdi Merbah Ouargla*, (2012) 39.
24. C.A Rice-Evans, N.J Miller, G. Paganga, *Free Radic Biol Med.* 20 (1996) 933.
25. E. Haslam, *Nat. Prod.*, 11 (1994) 41.

26. A. Khoddami, M. A. Wilkes, T. H. Roberts, *Mol.*, 18 (2013) 2328.
27. S. Jenna, Thèse de doctorat, Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, *Faculté des Sciences Dhar El Mahraz - Fès*, (2015) 31.
28. H. Sakagami, K. Hashimoto, F. Suzuki, T. Ogiwara, K. Satoh, H. Ito, T. Hatano, Y. Takashi, S. Fujisawa, *Phytochem.*, 66 (2005) 108.
29. C.M. Anderson, A. Halleberg, T. Hogberg, *Adv. drug Res.*, 28 (1996) 65.
30. L. Xu, Y. Wu, X. Zhao, W. Zhang, *In: Asia-Pacific Energy Equip. Eng. Res. Conference*, (2015) 135.
31. R. Arpita, *Int. J. Plant Biol*, 3 (2017) 1.
32. W. Ghnimi, Thèse de doctorat, Université de Lorraine (France) et université de Carthage (Tunisie), (2015) 29.
33. C. Bruhlmann, A. Marston, K. Hostettmann, P.A. Carrupt, B. Testa, *Chem. Biodivers.*, 1 (2004) 819.
34. B. W. N Balasuriya, H. P. V. Rupasinghe, *Funct. Food health dis*, 5 (2011) 172.
35. S. K Jash, G. Brahmachari, *Signpost Open Access J Org Biomol Chem.* 1 (2013) 65.
36. J. Heller, Physic Nut, *International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.* (1996).
37. H. Schwarz, P. Liebhard, K. Ehrendorfer, P. Ruckenbauer, *Biomass Bioenerg.*, 31 (2007) 145.
38. T. Iwashina, *J. Plant Res.*, 113 (2000) 287.
39. J. Bruneton, *Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales*, 3ème édition, (1999) 497.
40. M.N. Mcleod, *Nutr Abst Rev*, 44 (1974) 803.
41. R. Kumar, M. Singh, *J Agr Food Chem*, 32 (1984) 447.
42. T. H. Terril, A.M. Rowan, G.B. Douglas, T. N. Barry, *J. Sci. Food. Agric.*, 58 (1992) 321.
43. K.T. Chung, C.I. Wei, M.G. Johnson, *Trends Food Sci. Techn.*, 9 (1998) 168.
44. K. Khanbabae, T. Van Ree, *Nat. Prod. Rep.* 18 (2001) 641.
45. J. Doat, *Revue bois et forêts des tropiques*, 182 (1978) 37.
46. S. Kumar, N. Singh, Shweta, Archana, *Int. J. Adv. Res. Pharm. Biol.*, 2 (2012) 348.
47. E. B. Mojzer, M. K. Hrn, M. Škerget, Z. Knez, U. Bren, R, *Mol.*, 21 (2016) 4; doi:10.3390/molecules21070901
48. M.D. Luque Castro, L.E. Garcia-Ayuso, *Anal. Chim. Acta*, 369 (1998) 1.
49. C.D. Stalikas, *J. Sep. Sci.* 30 (2007) 3268.

50. Y. Qiu, Q. Liu, T. Beta, *Food Chem.* 121 (2010) 140.
51. J. Toth, M. Mrlinova, D. Tekelova, M. Korenova, *Acta Facult. Pharm. Univ. Comeniana*, 50 (2003) 139.
52. P. Carnat, A. Carnat, D. Fraisse, L. Ricoux, J. L. Lamaison, *Pharm. Acta Helv*, 72 (1998) 301.
53. B. Benjilali, Corporation LASEVE. (2005) 17.
54. K. Kalpana, S. Kapil, P.S. Harsh, S. Bikram, *J. Agric. Food Chem.* 56 (2008) 10129.
55. D. Grigonis, P.R. Venskutonis, B. Sivik, M. Sandahl, C.S. Eskilsson, *J.Supercrit.Fluids*, 33 (2005) 223.
56. L. Wang, C.L. Weller, *Trends Food Sci. Technol*, 17 (2006) 300.
57. C.M. Ajila, S.K. Brar, M. Verma, R.D. Tyagi, S. Godbout, J.R. Valero, *Crit Rev Biotechnol*, 31 (2011) 227.
58. D. Sterbova, D. Matejcek, J. Vlcek, V. Kubán, *Anal.Chim.Acta*, 513 (2004) 435.
59. A. Ziakova, E. Brandsteterova, E. Blahova, *J.Chrom. A*, 983 (2003) 271.
60. E.S. Choi, M.J. Noh, K.P. Yoo, *J Chem Eng Data*, 43 (1998) 6.
61. F. Chemat, V. Tomao, M. Viro ,S. Otlés (Ed.), *Handbook of Food Analysis Instruments, Taylor & Francis, CRC Press*, (2008) 85.
62. R. Murga, M.T. Sanz, S. Beltran, J. L. Cabezas, *J Supercriti Fluids*, 27 (2003) 239.
63. J.L. Luque-Garcia, M.D Luque-Castro, *Trends Anal Chem*, 22 (2003) 41.
64. K. Rajbhar, H. Dawda,U. Mukundan, *Sci. Revs. Chem. Commun*, 5 (2015) 1.
65. K. K. Chee, M. K. Wong, H.K. Lee, *J Chromatogr A*, 723 (1996) 59.
66. E.S. M Abdel-Aal, H. Akhtar, I. Rabalski, M. Bryan, *J Food Sci*, 79 (2014) 138.
67. C. V. Priscilla, J. Martinez, M. Angela, A. Meireles, Chapter 2, *Fundamentals of Microwave Extraction, Microwave-assisted Extraction for Bioactive Compounds Theory and Practice*, (2013).
68. T. S. Reighard, S. V. Olesik, *Crit Rev Anal Chem*, 26 (2006) 1.
69. L. Danielski, L. M.A.S. Campos, L. F.V. Bresciani, H. Hense, R. A. Yunes, S. R.S. Ferreira, *Chem Eng Process*, 46 (2006) 99.
70. Y. Ma, J. Chen, D. Liu, X. Ye, *J.Food Sci.*, 73 (2008) 115.
71. L. Panaiva, *Conférence Eurocopter*, (2006) 2.
72. T. Michel, Thèse de Doctorat, l'université d'Orléans, (2011) 52.
73. F. Guedira., Support de cours de Spectroscopie Ultraviolette, Master de sciences analytiques à l'université Mohammed V-Agdal, Maroc, (2009) 1.

74. P. Galez, Mesures Physiques Annecy: Techniques spectroscopiques d'analyse /Spectrophotométrie UV/visible, (2011) 1.
75. J. Ludovic, De la substance à la structure : Exemples en chimie organique, (2006) 16.
76. B. Halliwell, *Nutr. Rev.*, 52 (1994) 253.
77. G.F. Ferrazzano, I. Amato, A. Ingenito, A. Zarrelli, G. Pinto, A. Pollio, *Mol.*, 16 (2011) 1486.
78. J. Gust, I. Wawer, *Corros*, 51 (1995) 37.
79. "Ammi visnaga". Natural Resources Conservation Service PLANTS Database. USDA, (2016), <https://en.wikipedia.org/wiki/Ammi-visnaga> 17/12/2020.
80. J. Gattefossé, In: Revue internationale de botanique appliquée et d'agriculture tropicale, 32^eannée, (1952) 116-123, doi : <https://doi.org/10.3406/jatba.1952.6485>.
81. L. B. Robert, L.T. Wilson, *Biol. Agr. Hort*, 24 (1989) 1-268.
82. J. Bellakhdar, La paharmacopée traditionnelle marocaine, Ibis press(ed) , 1997.
83. R. Bencheraiet, H. Kherrab, A. Kabouche, Z. Kabouche, M. Jay, *Rec. Nat. Prod.* 5(2011) 52.
84. K. Ammor, D. Bousta, S. Jennan, A. Chaqroune, F. Mahjoubi, *Der Pharma Chemica*, 9 (2017) 73.
85. A.Y. El-Etre, *Appl. Surf. Sci.*, 252 (2006) 8521.
86. E. A Abou-Mustaf, *Planta Medica*, 56 (1990) 134.
87. P. Martelli, *J. Chrom.*, 301 (1984) 297.
88. M.M. El-Domiaty, *J. Pharm. Sci.*, 81 (1992) 475.
89. K.N. Soro, L. Sabri, S. Amalich, Y. Khabbal, T. Zair, *Phytothérapie*, (2015),DOI 10.1007/s10298-015-0936-4.
90. Y. Ez zoubi, F. El-Akhal, A. Farah, *Int. J.Pharmacogn.Phytochem. Res.*, 8 (2016) 1684.
91. W. Cisowski, *Pol J Chem*; 60 (1986)77.
92. Z. Kabouche, M. Jay, *Rec Nat Prod*, 5 (2011) 52.
93. K. Gynayd, B. Erim, *J.Chrom. A*, 954 (2002) 291.
94. M. Chehab, Les huiles essentielles d'*Ammi visnaga* du Maroc. Mémoire ATS, institut agronomique et veterinaire Hassan II (Maroc), (1993).123 .
95. Z. Maksimović, Đ. Malenčić, N. Kovačević, *Bioresour. Technol.*, 96 (2005) 873.
96. C.A Newal, L.A. Anderson, J.D. Phillipson, Herbal Medicine: a Guide for Health-care Professionals. Pharmaceutical Press. London, (1996).

97. M. Pedretti, L'Erborista Moderno Manuale teóricoprático di fitoterapia com spiegazione dell'effeto farmacologico dele piante medicinali. Studio Editorial, Milan, (1980).
98. D.V.O. Velazquez, H.S. Xavier, J.E.M. Batista, C.Casro- Chaves, *Phytomedicine*, 12 (2005) 363.
99. P.G. Pietta, *J. Nat. Prod.*, 63 (2000)1035.
100. M.E. Snook, N.W. Widstrom, B.R. Wiseman, P.F. Byrne, J.S. Harwood, C.E. Costello, *J. Agric. Food Chem.*, 43 (1995) 2740.
101. S.C. Ren, Z.L. Liu, X.L. Ding, *J. Med. Plants Res.*, 32 (2009) 1009.
102. G. Kaur, M.S. Alam, Z. Jabbar K. Javed, M. Athar, *J. Ethnopharmacol.*, 108 (2006) 340.
103. L. Jun , W. Cuina, W. Zuozhao, Z. Cheng, L. Shuang, L. Jingbo, *Food Chem.*,126 (2011) 261.
104. Q.L. Hu, L.J. Zhang, Y.N. Li, Y.J. Ding, F.L. Li, *Int. J. Phys. Sci.*, 5 (2010) 321.
105. J.W. Bastien, *J. Ethnopharmacol.*, 8(1982) 97.
106. A.Caceres, L.M. Giron, A.M. Martinez, *J. Ethnopharmacol.*, 19 (1987) 233.
107. D.D. Dat, N.N. Ham, D.H. Khac, N.T. Lam, P.T. Son, N.V. Dau, M. Grabe, R.Johansson, G. Lindgren, N.E. Stjernstrom, *J. Ethnopharmacol.*, 36 (1992) 225.
108. K. Ammor, F. Mahjoubi, D. Bousta, R. Elhabbani, A. Chaqroune, *Mediterr. J. Chem.*, 9 (2020) 468.
109. E. Yesilada, G. Honda, E. Sevik, M. Tabata, T. Fujita, T. Tanaka, Y. Takeda, Y. Takaishi, *J. Ethnopharmacol.*, 46 (1995) 133.
110. V. Steenkamp, *Fitoterapia.*, 74 (2003) 545.
111. M.A. Ebrahimzadeh, M. Mahmoudi, N. Ahangar, S. Ehteshami, F. Ansaroudi, S.F. Nabavi, S.M. Nabavi, *Pharmacologyonline*, 3 (2009) 647.
112. D.V.O. Velazquez, H.S. Xavier, J.E.M. Batista, C.D. Castro-Chaves, *Phytomedicine*, 12 (2005) 363.
113. Z.A. Maksimovic, N. Kovačević, *Fitoterapia*, 74 (2003) 144.
114. M.A. Ebrahimzadeh, F. Pourmorad, S. Hafe, *Turk. J. Biol.*, 32 (2008) 43.
115. K. Ammor, F. Ez-zahra Amarti, R. Lagzizir, F. Mahjoubi, D. Bousta, A. Chaqroune, *Phytothérapie*, DOI 10.3166/phyto-2019-0209K
116. O. Orubite, N. C Ngobiri, *IOSR J. Appl.Chem.*,10 (2018) 51.
117. G.E. Ogbonda, J.I. Tubonimi, B.L. Gift, N. Josephine; *IOSR J. Appl. Chem.*, 11 (2018)

118. M. Fadil, A. Farah, B. Ihssane, T. Haloui, S. Rachiq, *J. Mater. Environ. Sci*, 6 (2015) 2346.
119. E. P. Box George, W.G. Hunter, J. Hunter, *Statistics for Experimenters*, deuxième édition, John Wiley and Sons. New-York. (2005) 633.
120. J. Goupy. *Plans d'expériences pour surfaces de réponse*. Edition: DUNOD. Paris: (1999) 13.
121. K. Kimouche, *Univeristé Mentouri Constantine*, (2008) 49.
122. J. Goupy. *Les Plans d'expériences*. Edition: Revue MODULAD. (2006).
123. S. Karam, *Thèse de Doctorat, Faculté de des Sciences et Techniques*, (2004) 14.
124. D. Benoist, Y. Tourbier, S. Germain-Tourbier, *Plans d'expériences : construction et analyse*. Edition: Technique & Documentation-Lavoisier. Paris, (1994) 32.
125. H. Angellier, *Thèse doctorat. Université Grenoble 1*, (2005).
126. A. Kamoun, M. M. Chaabouni, H.F. Ayedi, *Techniques de l'ingénieur, Doc. M 1429*, 1.
127. B. Halliwell, *Biochem Soc Symp*, 61 (1995) 73.
128. B. Arousseau, *INRA. Prod. Anim*, 15 (2002) 67.
129. K. Bagchi, S. Puri, *East Mediterranean Health Jr.* 4 (1998) 350.
130. T. Liu, A. Stern, L.J. Roberts, *J Biomed Sci.* 6 (1999) 226.
131. H. Sies, *Oxidative stress: Introductory remarks*. In: Sies H, editor. *Oxidative Stress*. San Diego: Academic Press; (1985) 1.
132. M. Valko, D. Leibfritz, J. Moncol, M. T. Cronin, M. Mazur, J. Telser, *Int. J. Biochem. Cell Biol*, 39 (2007) 44.
133. M. Gardès-Albert, D. Bonnefont-Rousselot, Z. Abedinzadeh, D. Jore, *Espèces réactives de l'oxygène. L'actualité chimique*, (2003) 91.
134. McCall, M. R. B. Frei, *Free Radic. Biol. Med.*, 26 (1999) 1034.
135. B.A. Lindau-Shepard, J.B. Shaffer, *Free Radic. Biol. Med.*, 15 (1993) 581.
136. F. Shahidi, Y. Zhong, *Eur. J. Lipid Sci. Technol*, 112 (2010) 930.
137. A. Carr, B. Frei, *FASEB J.* 13(1999) 1007.
138. J.P. Césarini, *John Libbey Eurotext, Edition*, (2004) 14.
139. M. Greff, *Springer, Edition*, (2011) 39.
140. B. Halliwell, J. M. C. Gutteridge, *Arch. Biochem. Biophys.* 246 (1986) 501.
141. O. Fain, *La revue de médecine interne*, 25 (2004) 872.
142. K. A. Naidu, *Nut. J.*, 2 (2003) 1.
143. A. K. Dutta-Roy, *Food Chem. Toxicol.*, 37 (1999) 967.

144. J. M. Lecerf, G. Luc, J. C. Fruchart, *Rev. Mid. Interne*, 15 (1994) 641.
145. M. J. Laughton, B. Halliwell, P. J. Evans, J. Robin, S. Hoult, *Biochem.Pharmacol.*, 38 (1989) 2859.
146. N. R. Perron, C. R. García, J. R. Pinzón, M. N. Chaur, J. L. Brumaghim, *J.Inorg. Biochem.*, 105 (2011) 745.
147. A.I. Hussain, Doctorale thesis, Pakistan, (2009) 257.
148. A. K. Lundebye, H. Hove, A. Mage, V. J. B. Bohne, K. Hamre, *Food Addit Contam A: Part A*. 27 (2010) 1652.
149. R. Kahl. *Toxicol.*, 33 (1984) 185.
150. H. Eddari, Thèse de doctorat, Université de Lyon; (1994).
151. C.A. Rice-Evans, N.J. Miller, G. Paganga, *Free Rad. Biol. Med*, 20 (1996) 933.
152. M.P. Kolesnikov, V.K. Gins, *Appl. Biochem. Micro*, 37 (2001) 392.
153. M.S. Blois, *Nat.*, 181 (1958) 1199.
154. A.B. Djahra, Thèse doctorat. Université Badji Mokhtar – Annaba; (2014) 114.
155. A. Moure, D. Franco, J. Sineiroet, *J.Agr.Food Chem.*, 48 (2000) 3890.
156. J.M. Prieto, P. Iacopini, P. Cioni, S. Chericoni, *Food Chem.*, 104 (2007) 889.
157. G. Béranger, H. Mazille, Corrosion des métaux et alliages: mécanismes et phénomènes. Lavoisier ed., Paris: *Hermès Science Publications*. (2002) 412.
158. P. Marcus, *Electrochim .Acta.*, 43 (1998) 109.
159. J.L. Crolet, G. Beranger, *Tech. Ing. Matér.*, (1998).
160. C.D. Fernández-Solis, A. Vimalanandan, A. Altin, J.S. Mondragón-Ochoa, K. Kreth, P. Keil, A. Erbe, Lang, Y. Liu (Eds.), *Springer International Publishing, Cham*, (2016) 29.
161. N.D. Tomashov, Theory of corrosion and protection of metals, (1966) 672.
162. J. Benard, A. Michel, "Métallurgie Générale", Ed. Masson, Paris, (1991) 169.
163. P.R. Roberge, Corrosion Inspection and Monitoring, John Wiley & Sons, Inc., New York. (2007).
164. B.A. Shaw, R.G. Kelly, *Electrochem. Soc. Interf.*, 2 (2006) 4.
165. B. Normand, PPUR presses polytechniques, (2004).
166. P. Bommersbach, INSA Lyon, (2005).
167. A. Popova, E. Sokolova, S. Raicheva, et M. Christov, *Corros. Sci.*, 45 (2003) 33.
168. M. Lakhdar, Thèse de Doctorat, (1991), Paris 7.
169. E. Heitz, Proc. 4th European Symposium on Corrosion Inhibitors, Ann, Univ. Ferrara, Italy, N.S., Sez. 6 (1975) 432.

170. J. TALBOT "Corrosion et protection des métaux", Edition du C.N.R.S, (1982) 266.
171. D. Landolt , Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, (1993) 165-205, ISBN 2-88074-245-5.
172. E. Schaschl, NACE Corrosion Inhibitors, USA, National Association of Corrosion Engineers, (1973) 28.
173. G. Moretti, G. Quartarone, A. Tassan, A. Zingales, *Electrochim. Acta.*, 41 (1996) 1971.
174. J. Marin-Cruz, R. Cabrera-Sierra, M.A.Pech-Canul, I.Gonzalez, *Electrochim.Acta.*, 51 (2006) 1847.
175. A.Y. El-Etre, M. Abdallah, Z.E. El-Tantawy, *Corros. Sci.*, 47 (2005) 385.
176. M.F. Hurley, B.M. Marx, K.N. Allahar, C.P. Smith, H.A. Chin, W.P. Ogden, D.P. Butt, *Corros.*, 68 (2012) 645.
177. T.T.X. Hang, T.A. Truc, T.H. Nam, V.K. Oanh, J.-B. Jorcin, N. Pébère, *Surf. Coat. Technol.*, 201 (2007) 7408.
178. T. A. Truc, N. Pébère, T.T.X. Hang, Y. Hervaud, B. Boutevin, *Prog. Org. Coat.*, 49 (2004) 130.
179. D. Zhang, Z. An, Q. Pan, L. Gao, G. Zhou, *Appl. Surf. Sci.*, 253 (2006) 1343.
180. F.H. Karman, I. I. Felhosi, E. Kalman, I. Cserny, L. Kover, *Electrochim. Acta.*, 43 (1998) 75.
181. N. Hackerman, A.C. Makrides, *J. Ind. Eng. Chem.*, 46 (1954) 523.
182. K. Khaled, M.M. Al-Qahtani, *Mater. Chem. Phys.*, 113 (2009) 150.
183. F. Mansfeld, M.W. Kendig, W.J. Lorenz, *J. Electrochem. Soc.*, 132 (1985) 290.
184. G. Moretti, F. Guidi, G. Grion, *Corros. Sci.*, 46 (2004) 387.
185. A.Ostovari, S.M. Hoseinieh, M. Peikari, S.R. Shadizadeh, S.J. Hashemi, *Corros. Sci.*, 51 (2009) 1935.
186. M.A. Dar, *Ind. Lub. Tribol.*, 63 (2011) 227.
187. O.K. Abiola, A.O. James, *Corros. Sci.*, 52 (2010) 661.
188. A.A. Rahim, J. Kassim, *Recent Pat. Mater. Sci.*, 1 (2008) 223.
189. G. Ji, S.K. Shukla, P. Dwivedi, S. Sundaram, R. Prakash, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 50 (2011) 11954.
190. P. Raja, A. Rahim, H. Osman, K. Awang, *Int. J. Min. Met. Mater.*, 18 (2011) 413.
191. D. Landolt, Edition Alden Press., (1993) 495.
192. M. Lebrini; Thèse de doctorat, Lille 1, (2005).

193. O. Radovici; Proceedings of the 2nd European Symposium; *Corros., Inhibitors*, 2 (1965) 178.
194. D. Kesavan, M. Gopiraman, N. Sulochana, *Chem. Sci. Rev. Lett.*, ISSN 2278-6783.
195. D. Ben Hmamou, R. Salghi, A. Zarrouk, M. Messali, H. Zarrok, M. Errami, B. Hammouti, Lh. Bazzi, A. Chakir, *Der Pharma Chem.*, 4 (2012b) 1496.
196. D. Ben Hmamou, R. Salghi, A. Zarrouk, S.S. Al-Deyab, H. Zarrok, B. Hammouti, E. Errami, *Int. J. Electrochem. Sci.*, 7 (2012 a) 6234.
197. T. Ibrahim, H. Alayan, Y. Al Mowaqet, *Prog. Org. Coat.*, 75 (2012) 456.
198. M. ur Rahman, S. Gul, M. Umair, A. Anwar, A. Achakzai, *Int. J. Innov. Res. Adv. Eng.*, 3 (2016) 385.
199. A.Y. El-Etre, *J. Colloid Interf. Sci.*, 314 (2007) 578.
200. A.M. Shah, A. A. Rahim, S. A. Hamid, S. Yahya, *Int. J. Electrochem. Sci.*, 8 (2013) 2140.
201. N. Soltani, N. Tavakkoli, M. Khayatkashani, M. R. Jalali, A. Mosavizade, *Corros. Sci.*, 62 (2012) 122.
202. N. soltani, N.Tavakkoli, M.K. Kashani, A.Mosavizadeh, E.E. Oguzie, M.R. Jalali, *J. Ind. Eng. Chem.* 20 (2014) 3217.
203. L. Bammou, M. Mihit , R. Salghi, L. Bazzi, A. Bouyanzer, B. Hammouti, *Int. J. Electrochem. Sci.*, 6 (2011) 1454.
204. B. Zerga, M. Sfaira, Z. Rais, M. Ebn Touhami, M. Taleb, B. Hammouti, B.Imelouane, A. Elbachiri, *Mater.Tech.*, 97 (2009) 297.
205. A. Bouyanzer, B. Hammouti, *Pigm. Resin Technol.*, 33 (2004) 287.
206. A. Bouyanzer, B. Hammouti, L. Majidi, *Mater. Lett.*, 60 (2006) 2840.
207. S. Martinez, I. Stern, *J. Appl. Electrochem.*, 31 (2001) 973.
208. E.E. Oguzie, *Pigm.Resin Technol.*, 34 (2005) 321.
209. E. E. Oguzie, *Mater. Chem.Phys.*, 99 (2006) 441.
210. N.O. Eddy, S.A. Odoemelam, I.N. Ama, *Green Chem. Lett. Rev.*, 3 (2010)165.
211. L.Yan, Z. Peng, L. Qiang, H. Baorong, *Appl. Surf. Sci.*, 252 (2005)1245.
212. A. Zaher, A. Chaouiki, R. Salghi, A. Boukhraz, B. Bourkhiss, M.Ouhssine, *Int. J. Corros*, 2020, Article ID 9764206, <https://doi.org/10.1155/2020/9764206>
213. A.Y. El-Etre, *Appl.Surf. Sci.*, 252 (2006) 8521.
214. K.O. Orubite, N. C Ngobiri, *IOSR J. Appl. Chem.*, 10 (2017) 51.
215. G.E. Ogbonda, J. I. Tubonimi, B. L. Gift, N. Josephine, *IOSR J.Appl. Chem.*, 11 (2018) 37.

216. M. Faustin, Thèse de Doctorat en chimie, Université des Antilles et de la Guyane, (2013) chapitre I, 52.
217. O.L. Riggs, Theoretical Aspects of Corrosion Inhibitors and Inhibition in Corrosion Inhibitors by C.C. Nathan (ed.) NACE (1973).
218. M.N. Lavanya, D. Kesavan, N. Prabhavathi, N. Sulochana, *Surf Rev Letts*, 16 (2009) 845.
219. N.Ch. Michael, J.A. Olubunmi, *Sci. J. Chem.*, 2 (2014) 27.
220. A. Mahmoud Al-Qudah, *E-J.Chem.*, 8 (2011) 326.
221. L.Valek, S. Martinez, M. Serdar, I. Stipanoviæ, *Chem. Biochem. Eng. Q.* 21 (2007) 65.
222. A.Ostovari, S.M. Hoseinie, M. Peikari, S.R. Shadizadeh, S.J. Hashemi, *Corros. Sci.*, 51 (2009) 1935.
223. K. W. Tan, M. Jain Kassim, *Corros. Sci.*, 53 (2011) 569.
224. P. E. Hazlewood, P. M. Singh, J. S. Hsieh, *Corros.*, 62 (2006) 911.
225. H. MacLean, J. A. Gardner, *Pulp Paper Mag. Can.*, 54 (1953) 125.
226. S. Kannan, R. G. Kelly, *Corros. Sci.*, 38(1996) 1051.
227. P. M. Singh, A. Anaya, *Corros. Sci.*, 49 (2007) 497.
228. P. M. Singh, A. Anaya, K. Frey, J. Mahmood, presented at the 10th International Symposium on Corrosion in the Pulp and Paper Industry (10th ISCPPI), VTT, Helsinki, Finland, 2 (2001) 409.
229. P. M. Singh, A. Anaya, presented at CORROSION 2001, Houston, Texas, 2001.
230. H. MacLean, J. A. Gardner, *Pulp Paper Mag. Can.*, 54 (1953) 125.
231. S. Kannan, R. G. Kelly, *Corros. Sci.*, 38 (1996) 1051.
232. J. Gust, J. Suwalski, *Corros.*, 50 (1994) 355.
233. S. L. Zelinka D. S. Stone, *Mater.corros.*, 62 (2011) 739.
234. A. Afidah, E. Rahima, J. Rocab, M.J. Steinmetzb, R. Kassima, M. Adnana, S. Ibrahim, *Corros.Sci.*, 49 (2007) 402.
235. J. Cardozo da Rocha, J. A.C. P. Gomesa, E. D'Eliab, *Mater. Res.*, 17(2014) 1581.

Chapitre II :

MATERIELS ET METHODES

Dans ce chapitre nous allons exposer le domaine d'étude, les méthodes d'extraction et d'évaluation des activités antioxydante et anticorrosion des extraits élaborés dans cette étude.

I. Matériels:

I.1. Présentation de la zone d'étude

La récolte des plantes a été réalisée dans la Province de Taounate (région Fès-Meknès), située au Nord-Est du Maroc. La diversité bioclimatique des milieux écologiques et le caractère montagnard de la région se traduisent par une grande diversité des essences et des espèces forestières naturelles. La province se caractérise par un climat allant du méditerranéen au continental en hiver et chaud en été.

Notre étude s'est focalisée sur les communes rurales proches du village d'Ourtzagh située au bord du barrage El wahda à 90 Km de Fès et à 40 Km de Taounate et à 2 Km du site de la collecte et ceci à cause de la richesse importante en plantes aromatiques et médicinales largement utilisées dans les domaines pharmaceutiques, industriels, cosmétiques etc.

Notre objectif consiste à identifier de nouvelles substances naturelles ayant des propriétés antioxydantes et inhibitrices de la corrosion.



Figure II.1: Situation géographique de la zone d'étude

I.2. Préparation des échantillons

I.2.1. *Ammi visnaga* et *Zea mays*

La partie aérienne de *l'Ammi visnaga* ainsi que les stigmates de *Zea mays* (biodéchets) ont été récoltées au stade de fructification en juillet durant les années 2016, 2017 et 2018 dans la région d'Ourtzagh de la province de Taounate. Les deux plantes ont été identifiées et déposées à l'herbier du Laboratoire de Biotechnologie, Environnement, Agroalimentaire et Santé (LBEAS) de la Faculté des Sciences Dhar El Mahraz (RAB 76986 pour *Ammi visnaga*, RAB 1108434 pour *Z.mays*).

Après récolte, la matière végétale récoltée a été séchée à l'ombre dans un endroit sec, puis broyée.

II. Méthodes

II.1. Extraction des substances naturelles à partir du matériel végétal

Les échantillons sont extraits selon deux protocoles opératoires :

- Extraction par soxhlet
- Extraction aux ultrasons

II.1.1. Extraction par soxhlet

L'extraction a été réalisée selon un procédé classique utilisant un appareil de type soxhlet. La technique consiste à introduire une masse donnée du matériel végétal séché et broyé (25 g) dans une cartouche filtrante et 250 mL de l'hexane dans un ballon de distillation. L'ensemble est porté à ébullition pendant 2 h dans le but d'éliminer les lipides de la matière végétale.

Après 2 h d'extraction par l'hexane, le contenu de la cartouche a été ré-extrait par une solution hydro-éthanolique à 70 % et éthanolique et ceci pour une durée de 12 h jusqu'à récupération totale des composés extractibles. L'extrait final a été obtenu suite à l'évaporation par rotavapeur sous vide.

II.1.2 Extraction aux ultrasons

Dans un bécher de 250 mL, 20 grammes de la poudre du matériel végétal et 200 mL d'hexane sont introduits dans un bain à ultrasons – Wise Clean (45 Hz, 50 W), pendant 45 min à 25°C. Après filtration, le résidu obtenu a été ré-extrait par une solution hydro-éthanolique à 70 %, éthanolique et aqueuse pendant 45 min. L'extrait final a été récupéré après filtration ; le filtrat est évaporé sous vide jusqu'à obtention d'un extrait sec.

II.2. Solvants d'extraction

Les solvants d'extractions sont sélectionnés en considérant la nature des molécules à extraire et la non toxicité du solvant utilisé [1]. Dans ce travail, notre choix s'est focalisé

sur l'éthanol absolu 96°, l'éthanol à 70 % et l'eau dans le but d'étudier leurs effets sur l'extraction des molécules les plus actives.

Dans la plupart des cas, l'éthanol à 70 % donne de meilleurs rendements d'extraction ainsi que des meilleurs taux en composés phénoliques [2, 3-6], ce qui explique notre choix de l'éthanol à 70 % comme solvant d'extraction.

II.3. Protocoles d'extractions des flavonoïdes et des tanins

Les extraits obtenus par soxhlet et par sonication des deux plantes étudiées ont fait l'objet d'une étude incluant le fractionnement des familles de molécules majoritaires, tanins et flavonoïdes. Cette étude est effectuée par différents protocoles opératoires et est détaillée dans ce travail.

II.3.1. Fractionnement des flavonoïdes à partir de *l'Ammi visnaga* et des stigmates de *Zea mays*

L'extraction des polyphénols a été effectuée selon la méthode décrite par Bruneton [7]. Elle est basée sur la solubilité des polyphénols dans différents solvants organiques. La drogue végétale subit une extraction dans le solvant éthanol à 70 %. L'extrait ainsi obtenu a été filtré et évaporé sous vide. Cet extrait a été ensuite dissout dans de l'eau chaude, puis séparé séquentiellement avec l'éther de pétrole, le chloroforme, de l'acétate d'éthyle et le n-butanol. Les différentes fractions ainsi que la fraction aqueuse ont été recueillies séparément et concentrées au moyen d'un rotavapeur sous vide. Les cinq fractions ont été stockées à 4 °C. La Figure II.2, résume les étapes de fractionnements des flavonoïdes.

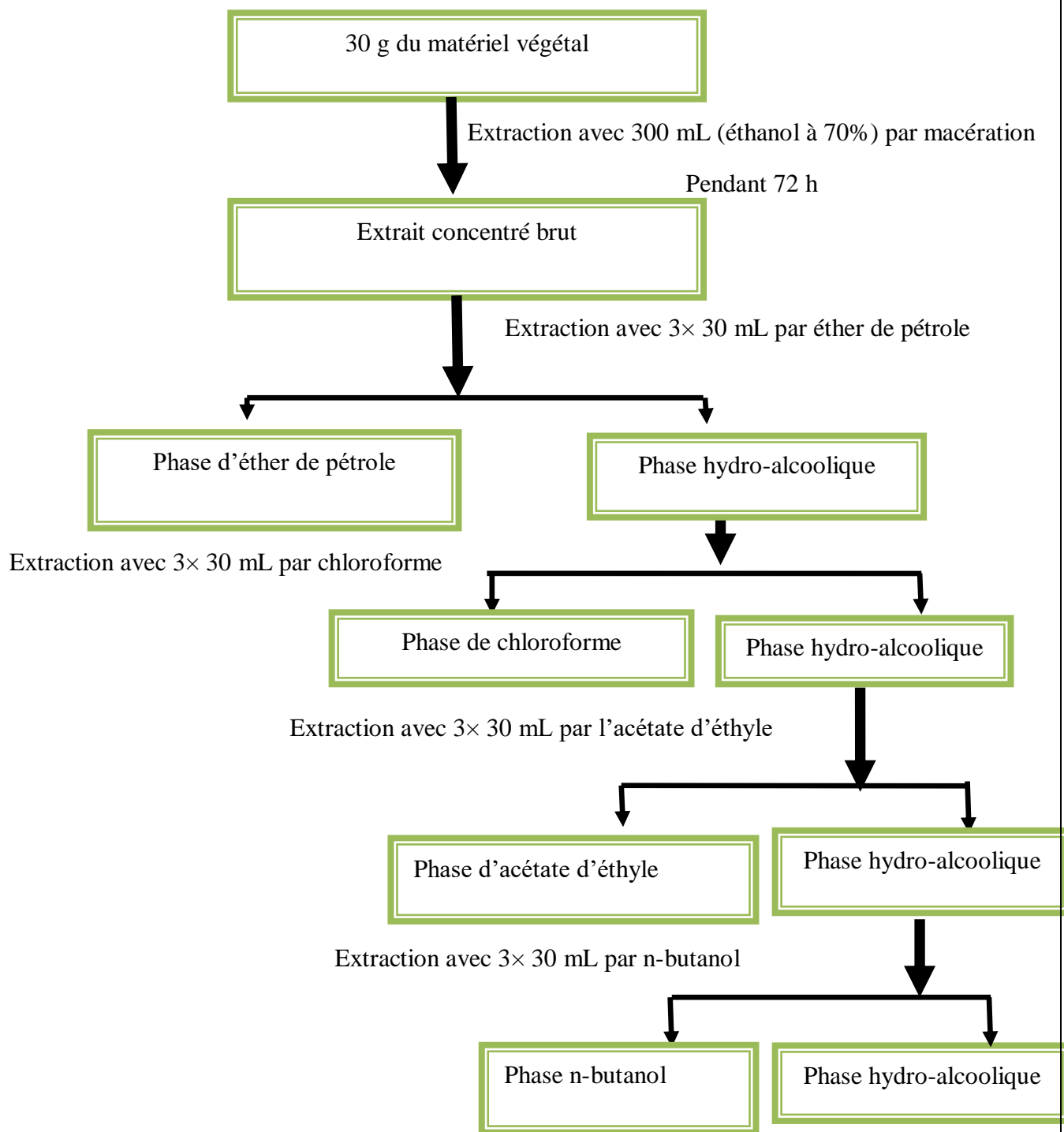


Figure II.2 : Protocole d'extraction des flavonoïdes

II.3.3. Fractionnement des tanins à partir de *l'Ammi visnaga*

L'extraction des tanins a été réalisée selon le protocole de Zhang [8]. La partie aérienne de *l'Ammi visnaga* a subi l'extraction par macération dans l'acétone à 70 % puis filtrée et condensée pour obtenir un extrait brut. Cet extrait a été dissout dans le dichlorométhane puis séparé séquentiellement avec de l'acétate d'éthyle. Les fractions aqueuses et d'acétate

d'éthyle ont été recueillies séparément et concentrées. La Figure II.3, résume les étapes de fractionnement des tanins.

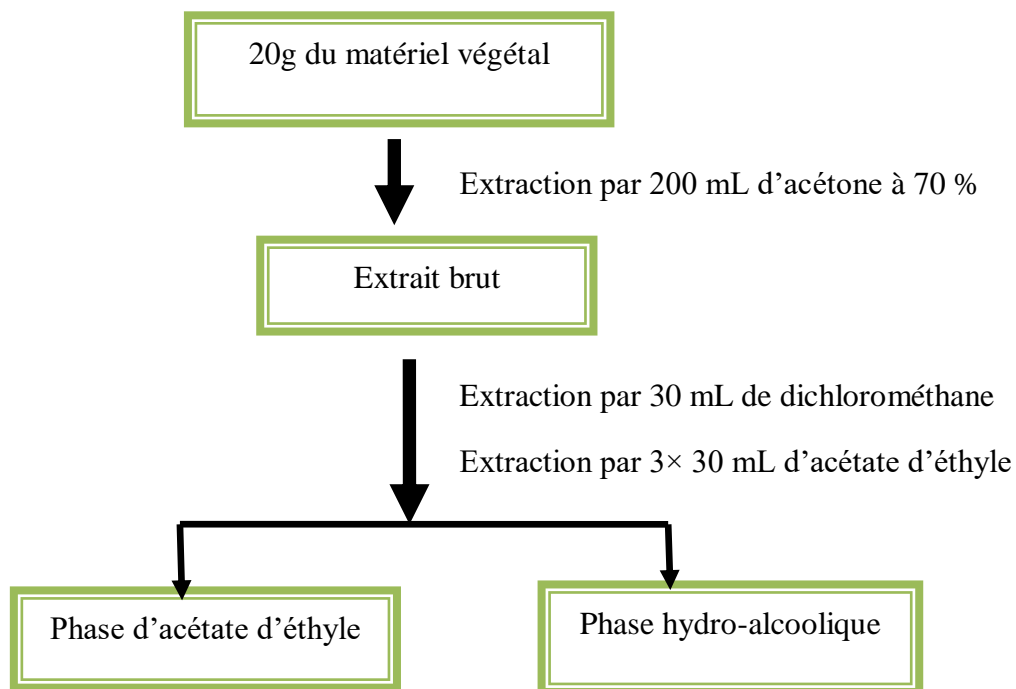


Figure II.3: Protocole d'extraction des tanins

II.4. Calcul du rendement

Le rendement des différents extraits et fractions a été déterminé par la formule suivante :

$$\text{Rendement \%} = \frac{m_{\text{extrait}}}{m_s} \times 100$$

Avec :

m_{extrait} (g): masse de l'extrait récupéré

m_s (g) : masse végétale sèche

II.5. Tests phytochimiques :

Un criblage phytochimique concernant différents extraits de *l'Ammi visnaga* et de stigmates de *Zea mays* a été basé sur des réactions colorimétriques et de précipitation indiquées dans [9-12]. Ces essais consistent à mettre en évidence la présence d'un certain nombre de familles chimiques de l'extrait sec, qui peuvent être responsables d'effets biologiques et anticorrosif des extraits. Les réactions de caractérisation utilisées sont citées ci-dessous:

➤ **Test de révélation des flavonoïdes**

Dans un tube à essai, 5 mL de l'extrait de la plante à étudier est ajouté à 5 mL d'alcool chlorhydrique (éthanol à 95 %, eau distillée, HCl concentré à parties égales en volumes); en plus de quelques copeaux de magnésium et 1 mL d'alcool isoamylique. L'apparition d'une coloration rose orangée indique la présence des flavones, rose violacée (flavonones) ou rouge indiquant la présence des flavonols, flavanonols, regroupés dans la couche surnageant d'alcool isoamylique.

➤ **Test de révélation des tanins**

Dans un tube à essai, on ajoute 1 mL de l'extrait à 1 mL d'une solution aqueuse diluée de FeCl₃ à 1 % d'acide acétique. En présence de tanins, une coloration verdâtre ou bleue noirâtre se développe. On différencie entre:

✓ **Tanins catéchiques**

Ils sont parfois classés parmi les flavonoïdes au sens large. Leur révélation consiste à ajouter 1 mL d'alcool chlorhydrique (5 mL d'alcool 95°, 5 mL d'eau distillée, 5 mL d'HCl concentré) à 5 mL d'extrait et porter le tout à ébullition pendant 15 min. En présence des tanins catéchiques, il y a formation d'un précipité rouge soluble dans l'alcool amylique.

✓ **Tanins galliques**

La révélation des tanins galliques consiste à ajouter à 30 mL d'extrait, 15 mL de réactif de Stiany (10 mL de formol à 40 %, 15 mL d'acide chlorhydrique concentré). Après chauffage au bain-marie à 90 °C pendant 15 min, on procède à la filtration et à la saturation du filtrat par 5 g d'acétate de sodium pulvérisé. 1 mL d'une solution de FeCl₃ à 1 % d'acide acétique est ajouté goutte à goutte jusqu'à la formation d'un précipité indiquant la présence des tanins galliques.

➤ **Test de révélation des saponosides**

Les saponosides se caractérisent par leur capacité à former une mousse en présence d'eau. Par l'agitation d'un extrait dissous dans l'eau pendant 15 secondes, une mousse dont la hauteur de 1cm est apparente et persiste après un repos de 15 min ce qui indique la présence des saponosides.

➤ **Test de révélation des mucilages**

Les mucilages sont détectés par la formation d'un précipité floconneux après l'ajout de 5 mL d'alcool absolu à 1 mL d'une solution d'extrait.

➤ **Test de révélation des hétérosides stéroïdiques**

On ajoute 10 mL de chloroforme anhydre à 10 mL d'extrait évaporé, et on mélange avec 5 mL d'anhydre acétique. Ensuite, on ajoute quelques gouttes de l'acide sulfurique et on

agite puis on laisse reposer le mélange. Le développement d'une coloration violacée virant au vert indique la présence des hétérosides stéroïdiques.

➤ **Test de révélation des stérols et terpènes**

L'extrait à tester est obtenu à partir de 1 g de poudre et 30 mL d'éther, laissé en macération pendant 24 heures, filtré et complété à 20 mL. L'ensemble est évaporé à sec dans une capsule de 10 mL d'extraits, puis le résidu est dissous dans 1 mL d'anhydride acétique puis dans 1 mL de chloroforme. On partage le tout dans deux tubes à essai ; l'un servant de témoin, et on met dans le fond du second tube 1 à 2 mL de H₂SO₄ concentré. Dans la zone de contact des deux liquides, il y a formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet, la couche surnageante devenant verte ou violette, révèle la présence de stérols et terpènes.

➤ **Test de révélation des alcaloïdes**

Un gramme de l'extrait à analyser est mis à macération dans 3 millilitres d'acide chlorhydrique (HCl) 2 M. La solution ainsi obtenue est répartie dans 4 tubes à essais dont le premier sert de témoin. Les autres sont utilisés pour les tests de MAYER, de WAGNER et de DRAGENDORFF. Cinq gouttes de réactif de MAYER sont ajoutées dans le deuxième tube à essai, cinq gouttes de réactif de WAGNER sont versées dans le troisième tube et cinq gouttes de réactif de DRAGENDORFF sont versées dans le quatrième tube. La formation d'une floculation ou d'un précipité dans tous les tubes révèle la présence d'alcaloïdes.

➤ **Test de révélation des coumarines**

Un volume de 5 mL d'extraits éthers obtenus après une macération pendant 24 h est évaporé à l'air libre, puis repris avec 2 mL d'eau chaude. La solution d'étude est partagée entre 2 tubes à essai. La présence de coumarines a été révélée par l'apparition d'une fluorescence jaune sous une lampe UV à 366 nm après l'ajout de 0.5 mL de (NH₃, H₂O) à 25 % dans l'un des tubes [13].

➤ **Révélation des glycosides cardiaques**

2 mL de chloroforme ont été ajoutés à 1 mL de l'extrait, l'apparition d'une coloration brune rougeâtre après l'ajout de H₂SO₄, indique la présence des glycosides cardiaques [14].

II.6. Dosage des composés polyphénoliques

II.6.1. Dosage des phénols totaux

Les teneurs en phénols totaux des différents extraits et fractions ont été estimées par la méthode de Folin-Ciocalteu [15,16], en utilisant l'acide gallique comme standard. Nous avons introduit, 100 µL de l'extrait de plante, convenablement dilué dans un tube à essai contenant initialement 6 mL d'eau distillée ; dans le cas des fractions on ajoute le DMSO

pour assurer leur solubilité dans l'eau. On ajoute ensuite 500 µL du réactif de Folin et on agite. Après 5 min, une solution de Na₂CO₃ à 20 % (1.5 mL) est rajoutée tout en agitant. La solution est complétée à 10 mL avec de l'eau distillée. Après une incubation de 2 h à température ambiante, l'absorbance est mesurée avec un blanc fait à partir d'eau distillée à l'aide d'un spectrophotomètre de type Selecta UV-Visible à une longueur d'onde de 765 nm. Une courbe d'étalonnage à différentes concentrations d'acide gallique a été tracée. Les teneurs en phénols totaux sont exprimées en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/ g d'extrait). Tous les essais sont reproduits au moins trois fois.

II.6.1.1. Dosage des flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes des différents extraits et fractions ont été estimées par la méthode décrite par [17,18], dont lequel on a mélangé 1 mL de l'extrait avec un volume égal de la solution de AlCl₃.6H₂O (2 %). Après 10 min, l'absorbance du mélange est mesurée à une longueur d'onde de 430 nm, en utilisant la quercetine comme standard. Les teneurs en flavonoïdes ont été déterminées en se basant sur une courbe d'étalonnage linéaire réalisée par le biais de la quercetine à différentes concentrations et dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent de quercetine par gramme d'extrait (mg EQ/g d'extrait).

II.6.1.2. Dosage des tanins condensés

Les tanins condensés (proanthocyanidines) des différents extraits et fractions ont été déterminés selon la méthode de Sun [19] avec une légère modification. L'extrait de plante (400 µL) a été ajouté à 1.5 mL d'acide chlorhydrique concentré et à 3 mL d'une solution de vanilline (4 % dans le méthanol). Après 15 min d'incubation, à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 500 nm. La quantité en tanins a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de catéchine. Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent de catéchine par gramme d'extrait (mg catéchine /g d'extrait).

II.7. Analyse par Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC)

Dans cette partie, nous avons utilisé une HPLC de type Waters 600E couplée à un détecteur de fluorescence équipé d'une boucle d'injection. Une colonne C18 (longueur = 150 mm; diamètre = 4.6 mm, 5 µm de taille de particule 100A) a été utilisée. Les débits de la phase mobile sont respectivement de 0.5 mL/min, 2.5 mL/min et 1.3 mL/min pour la quercetine, la catéchine et le flavone utilisés dans cette analyse comme standards.

La détection a été réalisée par deux longueurs d'onde, la longueur d'onde d'excitation de 330 nm, 285 nm, 330 nm et la longueur d'onde de détection de 440 nm, 366 nm et 440 nm pour la quercétine, catéchine et flavone, respectivement.

Nous avons injecté les standards à des concentrations de 1 mg/mL, pour déterminer leur présence ou non dans l'extrait. La séparation des solutés de nos échantillons a été réalisée en mode du gradient d'élution. La phase mobile pour la quercétine, la catéchine et le flavone ;est constituée respectivement par l'acétonitrile: le méthanol: acide acétique (70:30:0.1,v/v/v),l'acide acétique: méthanol: diméthylforme amide: l'eau (1:3:40:56v/v/v/v) et acide acétique :méthanol (5:95 v/v).

II.8. Etude de l'activité antioxydante par les méthodes colorimétriques :

L'activité antioxydante a été évaluée *in vitro* par quatre méthodes à savoir: la méthode de réduction du radical libre (DPPH^{*}), la méthode de réduction de fer (FRAP), la méthode de l'activité antioxydante totale (AAT) et la méthode de blanchissement par le β-carotène.

II.8.1. Méthode de DPPH^{*}

Le test de DPPH^{*} est basé sur la réduction du radical libre DPPH^{*} [20, 21], ce qui conduit à sa décoloration par le passage d'une coloration violette à une coloration jaune. L'effet de chaque extrait sur le DPPH^{*} est mesuré par la procédure décrite par Oyaizu [22]. Le réactif est dissous dans le méthanol à la concentration de 1 mM. Le test s'effectue en mélangeant, 2 mL de diverses concentrations des extraits avec 0.5 mL d'une solution méthanolique 1 mM du DPPH^{*}. Pour les différentes concentrations des fractions on ajoute le DMSO pour assurer la solubilité. Après 30 min d'incubation à l'obscurité, l'absorbance a été mesurée à 517 nm. Le contrôle négatif est composé de 2 mL de la solution méthanolique de DPPH^{*} et de 0.5 mL de méthanol. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard qui est le BHT dont l'absorbance est mesurée dans les mêmes conditions que l'échantillon. Trois tests ont été effectués pour vérifier la reproductibilité. La courbe d'étalonnage pour les extraits est obtenue à partir d'une gamme de concentration (1/8 ; 1/6 ; 1/4 ; 1/2 ; 1 mg/mL) et la gamme des concentrations pour les fractions est de (20, 40, 60, 80,100 µg/mL).

Les pourcentages d'inhibitions du radical DPPH^{*} ont été calculés selon la formule suivante (II.1):

$$\%inhibition = \left(\frac{A_C - A_E}{A_C} \right) \times 100$$

Où:

A_C : Absorbance du contrôle positif ;

A_E : Absorbance de la solution contenant l'extrait à tester ;

II.8.2. Test du pouvoir réducteur de fer (FRAP)

Le potentiel réducteur a été examiné par la transformation du complexe ferrique-tripyridyltriazine (Fe^{3+} TPTZ) en tripyridyltriazine ferreux (Fe^{2+} TPTZ⁺) en présence d'un antioxydant réalisé selon Prieto [23]. Dans un tube à essai contenant 1 mL de différentes concentrations des extraits et fractions, 2.5 mL de tampon phosphate (0.2 M, pH 6.6) et 2.5 mL de ferricyanure de potassium [$K_3Fe(CN)_6$] (1 %) sont ajoutés. Le mélange a été incubé à 50 °C pendant 20 minutes. Après incubation, 2.5 mL d'acide trichloroacétique à 10 % ont été ajoutés au mélange et centrifugés à 3000 tr/min pendant 10 minutes. Ensuite, 2.5 mL du surnageant ont été mélangés avec 2.5 mL d'eau distillée et 0.5 mL de $FeCl_3$ (1 %) et l'absorbance a été mesurée par spectrophotomètre à 700 nm. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur de l'extrait où fraction testé par la formation de complex tripyridyltriazine ferreux. Les résultats ont été calculés par l'utilisation de la courbe d'étalonnage obtenue à différentes concentrations de BHT, les mêmes concentrations ont été utilisées que dans le test de DPPH'. Les essais sont répétés trois fois.

II.8.3. Méthode de l'activité antioxydante totale (AAT)

L'activité antioxydante totale (AAT) des extraits et des fractions est évaluée par la méthode de phosphomolybdène [24]. Un volume de 0.3 mL de chaque concentration d'extrait et fraction a été mélangé à 3 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 contre le blanc de 3 mL de solution du réactif et 0.3 mL du méthanol, incubé dans les mêmes conditions que l'échantillon. La capacité antioxydante totale, a été calculée par l'utilisation de la courbe d'étalonnage obtenue à différentes concentrations de BHT. Les expériences sont répétées trois fois.

L'activité antioxydante évaluée par ces trois méthodes décrites ci-dessus est exprimée par l'IC₅₀. L'IC₅₀ a été calculée à partir des régressions linéaires des graphes tracés : pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations des extraits.

II.8.4. Test de blanchissement du β -carotène

La méthode β -carotène décrite par Sahin [25] a été utilisée avec une légère modification. En effet, 2 mg de β -carotène a été dissoute dans 10 mL de chloroforme et 1 mL de cette solution a été mélangé à 20 μ L d'acide linoléique et 200 mg de tween 40. Après évaporation du chloroforme, on ajoute 100 mL d'eau distillée. L'émulsion résultante est vigoureusement agitée. Dans les tubes essais, 4 mL du mélange précédent a été ajouté à 200 μ L des différentes concentrations des extraits étudiés. Les tubes ont été placés dans un bain-marie à 50 °C pendant 2 h. Deux tubes témoins ont été également préparés selon le même procédé : l'un contenant un antioxydant de référence BHT (témoin positif) et l'autre sans antioxydant (témoin négatif) où l'échantillon a été remplacé par 200 μ L de méthanol. Par la suite, l'absorbance de chaque échantillon a été mesurée à 470 nm. Dans ce test, l'oxydation de l'acide linoléique génère des radicaux peroxydes, suite à l'abstraction des atomes d'hydrogène [26]. Cependant, la présence d'un antioxydant pourrait neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et donc prévenir l'oxydation du β -carotène.

II.9. Démarches d'un plan d'expérience

II.9.1. Etapes de la réalisation d'un plan d'expérience

La mise en place d'un plan d'expérience nécessite la considération des étapes suivantes: construction du problème, construction de la matrice d'expériences, préparation et réalisation des essais, analyse des résultats, conclusion et enfin la validation éventuelle de la conclusion. La phase d'instruction du problème est une phase fondamentale qui vise à définir et à donner des informations (facteur; réponse...) afin de choisir le modèle (E), la matrice (M) et le nombre d'essais (n). Cette phase repose sur les étapes suivantes [27]:

1. Définir le problème
2. Définir l'objectif
3. Définir la (ou les) réponse (s)
4. Définir les facteurs
5. Construire la matrice d'expériences
6. Discuter les résultats

III. Méthodes d'études de la corrosion

Les méthodes d'évaluation de la corrosion sont très nombreuses. Dans le cas de l'inhibition de la corrosion de l'acier en milieu acide (acide chlorhydrique, HCl), les plus utilisées et les plus citées dans la littérature sont: la méthode pondérale (gravimétrie) et les techniques électrochimiques. Les dernières peuvent être classées en deux groupes: les techniques dites stationnaires permettant d'accéder aux courbes potentiels-temps, potentiodynamiques et les

techniques non stationnaires dites transitoires basées sur l'exploitation des diagrammes d'impédance électrochimique.

III.1. Méthode gravimétrique

Cette méthode est très utilisée dans les industries chimiques pour la surveillance de la corrosion [28]. Elle est facile à mettre en œuvre et ne nécessite pas un appareillage important. Cette méthode implique l'immersion directe de l'acier (échantillon) dans le milieu corrosif pendant une période de durée fixe. La vitesse de corrosion issue de cette méthode peut être directement déterminée par la mesure de variation de masse de l'acier. Afin d'obtenir des données précises à partir la mesure de la perte de masse, il faut considérer certaines variables importantes telles que : les dimensions de l'échantillon, le temps d'immersion, le prétraitement et le volume du milieu corrosif qui doit être utilisé de manière appropriée. Toutefois, cette méthode ne permet pas l'approche des mécanismes mis en jeu lors de la corrosion.

La vitesse de la corrosion de cette méthode est donnée par la relation suivante (II.2):

$$V_{Corr} = \frac{\Delta m}{S * t} [mgcm^{-2}h^{-1}] \quad (II.2)$$

Où:

Δm : La perte de masse ($\Delta m = m_i - m_f$);

t: Temps d'immersion;

S: La surface de l'échantillon;

L'efficacité inhibitrice est donnée par la relation suivante (II.3):

$$\eta_{PM} \% = \left(\frac{W_0 - W}{W_0} \right) \times 100 \quad (II.3)$$

Où:

W_0 et W sont les vitesses de corrosion en absence et en présence de l'inhibiteur, respectivement.

III.2. Méthodes électrochimiques

III.2.1. Méthode stationnaire

Les techniques stationnaires permettent d'étudier un système se trouvant dans un état de pseudo-équilibre.

III.2.1.1. Suivi du potentiel en circuit ouvert

Cette technique permet d'obtenir des informations préliminaires sur la nature des processus se produisant à l'interface métal/solution. Le régime stationnaire doit être établi, lorsque l'électrode métallique prend un potentiel, appelé potentiel de corrosion (E_{corr}), potentiel

d'abandon ou potentiel libre, par rapport à la solution d'étude. Dans cette étude, les valeurs $d'E_{corr}$ sont référencées par rapport à l'électrode Ag/AgCl: 3M KCl. Cette mesure permet également de connaître la durée d'immersion minimale nécessaire à l'établissement d'un état quasi-stationnaire indispensable pour le tracé des courbes de polarisation des diagrammes et d'impédance électrochimique [29]. Dans ce travail, on atteint une quasi-stationnarité du système électrochimique après une demi-heure à température ambiante [30,31].

III.2.1.2. Courbe de polarisation

Les courbes de polarisation permettent d'obtenir des renseignements sur le comportement d'un métal plongé dans un milieu environnant donné et permettent aussi de déterminer les paramètres électrochimiques d'un métal au contact d'un électrolyte à savoir: le courant de corrosion (i_{corr}), le potentiel de corrosion (E_{corr}), les pentes de Tafel (β_c, β_a), la résistance de polarisation (R_p),...etc [32,33]. Le potentiel imposé au métal entre l'électrode de travail et celle de référence est fourni par un potentiostat, et il varie linéairement avec le temps. Il est important de noter que la forme des courbes et les potentiels qui les caractérisent sont très sensibles à un certain nombre de facteurs comme l'état de surface, l'état structural du métal, l'agitation de la solution, la présence d'impuretés dans l'électrolyte, la vitesse de balayage des potentiels, etc.

Cette méthode permet d'estimer la vitesse de corrosion et d'appréhender la formation de films inhibiteurs. Les mesures de la vitesse de corrosion à partir des courbes de polarisation reposent sur un certain nombre d'hypothèses:

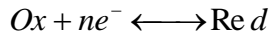
- ✓ L'adsorption,
- ✓ La dissolution anodique du métal
- ✓ Les courants anodiques et cathodiques suivent la relation de Tafel,

Du point de vue cinétique, on distingue trois catégories de réaction de corrosion suivant l'étape réactionnelle limitante.

- La réaction de corrosion contrôlée par la cinétique d'activation pure ou de transfert de charges ;
- La réaction de corrosion contrôlée par la cinétique de diffusion pure ou transport de matière ;
- La réaction de corrosion contrôlée par la cinétique mixte (activation + diffusion).

Dans le cas où le transfert de charge limite les réactions opérant à l'électrode, ce qui est le cas en milieu acide [34], les courbes de polarisation suivent la loi analogue à celle de

Butler-Volmer qui exprime la relation entre la surtension η (définie comme l'écart entre le potentiel appliqué au système E et sa valeur à l'équilibre E_{eq}) et la densité de courant i_{corr} . Soit une réaction électrochimique caractéristique des couples redox simple est réversible :



L'équation fondamentale de Butler-volmer est donnée par la relation suivante (II.4) :

$$i(\eta) = i_{ox} + i_{red} = i_0 \left[\exp\left(\frac{\alpha n F}{RT} \eta\right) - \exp\left(\frac{(1 - \alpha) n F}{RT} \eta\right) \right] \quad (II.4)$$

Où :

i_{ox} : densité de courant d'oxydation;

i_{red} : densité de courant de réduction;

i_0 : densité de courant d'échange ($A \cdot cm^{-2}$);

α : coefficient de transfert électronique anodique;

n: nombre d'électrons échangés;

R: constante des gaz parfaits ($8.314 J \cdot mol^{-1} \cdot K^{-1}$);

T: température (K);

F: constante de Faraday ($96450 C \cdot mol^{-1}$);

η : surtension appliquée à l'électrode (V);

On peut introduire dans l'équation (II.4) les coefficients de Tafel anodique β_a et cathodique β_c qui sont définis comme suit :

$$\beta_c = \frac{RT}{\alpha n F} \quad \text{et} \quad \beta_a = \frac{RT}{(1 - \alpha) n F}$$

On obtient ainsi (II.5):

$$i(\eta) = i_0 \left[\exp\left(\frac{\eta}{\beta_a}\right) - \exp\left(\frac{-\eta}{\beta_c}\right) \right] \quad (II.5)$$

Dans ce travail, nous avons adopté deux méthodes pour extraire les paramètres électrochimiques à partir des mesures de polarisation: la méthode de Tafel [35, 36] et la méthode de Stern-Geary [37] ; celle qui porte sur la mesure de la résistance de polarisation.

➤ La méthode de Tafel

La méthode de Tafel est partiellement décrite dans l'équation de Butler-Volmer (II.4). Elle permet d'obtenir expérimentalement les paramètres électrochimiques (E_{corr} , i_{corr} , β_a , β_c).

Dans le cas de fortes surtensions anodiques (η_a) ou cathodiques (η_c), l'un ou l'autre des courants anodiques et cathodiques de la relation de Butler-Volmer devient négligeable et le courant mesuré correspond au courant partiel anodique ou cathodique. Dans ce cas, on obtient après simplification de la relation de Butler-Volmer, une relation entre la surtension d'électrode et le logarithme de la densité du courant mesuré, connue sous le nom de loi de Tafel:

- **Pour la branche anodique**, la réaction anodique devient prédominante

($i \approx i_a$) et $\eta_a = E - E_{eq} \gg 85$ mV dans ce cas l'équation de $\log i = f(\eta)$ s'écrit comme suit (II.6) :

$$\log i = a + \frac{\eta_a}{\beta_a} \quad (\text{II.6})$$

- **Pour la branche cathodique**, la réaction cathodique devient prédominante

($i \approx i_c$) et $\eta_c = E - E_{eq} \ll -85$ mV dans ce cas la variation linéaire de $\log i$ en fonction de la surtension η_c est donnée par l'équation (II.7) ci-dessous :

$$\log i = a + \frac{\eta_c}{\beta_c} \quad (\text{II.7})$$

Où :

a : est une constante ;

Lorsque $\eta = 0$, dans ce cas le courant $i = i_{corr}$ et l'équation de vitesse de la corrosion (II.8) s'écrit comme suit :

$$V_{corr} = \frac{i_{corr}}{nFS} \quad (\text{II.8})$$

Où:

V_{corr} : vitesse de la corrosion ;

i_{corr} : la densité du courant de corrosion ;

n : nombre d'électrons échangés ;

F : la constante de Faraday ;

S : la surface de l'échantillon ;

Nous pouvons alors déterminer la valeur de la densité de courant de corrosion par l'intersection des droites de Tafel anodiques et cathodiques dans ce cas le potentiel de corrosion E_{corr} correspond au potentiel d'équilibre E_{eq} .

Bien que cette méthode soit facile à mettre en œuvre, elle présente également un certain nombre d'inconvénients :

- ✓ Elle nécessite l'application de fortes surtensions sur la surface métallique, elle est donc considérée comme méthode destructive, particulièrement observée dans la surtension anodique.
- ✓ Les difficultés rencontrées lors de l'extraction des paramètres par extrapolation, si l'une des branches ne se présente pas sous forme d'une vraie droite, la linéarité des courbes $\log i = f(E)$ n'est pas toujours vérifiée à cause de la présence de dégagement gazeux ou d'un processus de polarisation par diffusion.

La détermination du courant de corrosion par l'extrapolation d'une seule droite de Tafel a été approuvée par [38] dans le cas où la courbe de polarisation cathodique met en exergue une ligne droite bien nette sur au moins une décade de courant car «une polarisation cathodique *ne corrode pas* l'échantillon, ce qui rend l'extrapolation d'une droite de Tafel cathodique préférable à l'extrapolation d'une droite de Tafel anodique ».

➤ **Méthode de Stern&Geary**

Une autre représentation dite Stern&Geary [37] consiste à mesurer la résistance de polarisation R_p , qui est la pente (dE/di) au voisinage $\Delta E=0$. La mesure expérimentale est rapide, en réalisant des courbes de polarisation à de faibles surtensions (de l'ordre de ± 25 mV) autour du potentiel de corrosion E_{corr} .

La relation entre cette résistance et le courant de corrosion est établie à partir de l'équation de Butler-Volmer (II.1) et elle nécessite donc les mêmes hypothèses que la méthode des droites de Tafel. En dérivant la relation (II.4) on obtient la relation suivante (II.9):

$$i_{corr} = \frac{1}{R_p} \times \frac{\beta_a \beta_c}{(\beta_a + \beta_c)} = \frac{B}{R_p} \quad (II.9)$$

Où :

i_{corr} : le courant de corrosion (A) ;

R_p : la résistance de polarisation (Ω) ;

β_a, β_c : les coefficients de Tafel anodique et cathodique (en V/décade) ;

B: le coefficient de proportionnalité (V) ;

Le tracé de la droite qui relie le potentiel mesuré E en fonction de la densité de courant i (Fig II.4) pour une valeur de E comprise entre -25 mV et 25 mV autour du potentiel de corrosion E_{corr} , permet de déterminer la valeur de R_p .

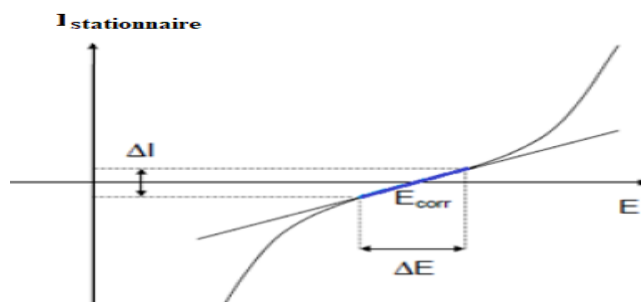


Figure II.4 : Représentation de Stern & Geary pour des valeurs de surtension de l'ordre de 25 mV autour d' E_{corr}

Ces techniques stationnaires restent toutefois insuffisantes pour caractériser les mécanismes complexes, mettant en jeu plusieurs étapes réactionnelles et ayant des cinétiques caractéristiques différentes. L'utilisation des techniques transitoires devient alors indispensable.

III.2.2. Méthode transitoire : spectroscopie d'impédance électrochimique

III.2.2.1. Principe

La spectroscopie d'impédance électrochimique est une méthode qui permet d'avoir des informations sur les étapes réactionnelles qui constituent le processus électrochimique global. Cette méthode consiste à superposer au potentiel de l'électrode une modulation de potentiel sinusoïdale de faible amplitude exprimé par la relation (II.11) et de suivre la réponse en courant aux différentes fréquences du signal perturbateur. La réponse en courant est également sinusoïdale, superposée à un courant stationnaire mais déphasée d'un angle φ par rapport au potentiel comme illustre la relation (II.12). Inversement, un courant peut être imposé et le potentiel enregistré.

$$E = E + |\Delta E| \sin(\omega t) \quad (\text{II.11})$$

$$I = I + |\Delta I| \sin(\omega t + \varphi) \quad (\text{II.12})$$

Où:

ΔE : Amplitude;

I_a : valeurs de crête du courant ;

ω : pulsation, $\omega = 2\pi f$ (rad/s);

f : fréquence en Hz ;

φ : déphasage du courant par rapport à la tension ;

Pour chaque fréquence d'excitation, l'impédance électrochimique autour du point de fonctionnement (E, I) se définit alors comme étant le rapport entre le signal de perturbation $\Delta E(\omega)$ et la réponse associée $\Delta I(\omega)$ (II.13) :

$$Z(\omega) = \frac{|\Delta E|}{|\Delta I|} \quad (\text{II.13})$$

L'impédance $Z(\omega)$ est un nombre complexe caractérisé par son module $|Z(\omega)|$ et sa phase φ . Il peut être écrit sous deux formes équivalentes :

$$Z(\omega) = |Z(\omega)|e^{j\phi(\omega)} \quad Z(\omega) = Z_{re}(\omega) + jZ_{im}(\omega)$$

Avec $j = \sqrt{-1}$

$|Z(\omega)|$: Étant le module de l'impédance, φ : La phase, $Z_{re}(\omega)$: la partie réelle, $Z_{im}(\omega)$: la partie imaginaire.

III.2.2.2. Re-présentation des spectres d'impédance

Les spectroscopies d'impédances électrochimiques peuvent être représentées par deux représentations : la représentation de Nyquist, en traçant l'opposé de la partie imaginaire - Z_m en fonction de la partie réelle Z_{re} et la représentation de Bode dont laquelle on trace le logarithme décimale $|Z|$ en fonction de logarithme décimale de la fréquence et la phase en fonction du logarithme de la fréquence. Ces diagrammes permettent de déterminer les constantes du temps caractéristiques des différents phénomènes prenant part à l'interface métal/solution.

Ces deux représentations différentes d'un même résultat sont complémentaires. La représentation de Bode permet de voir les boucles et les droites d'impédance aux hautes et basses fréquences contrairement à la représentation de Nyquist qui masque les résultats aux hautes fréquences. Les diagrammes d'impédance électrochimique obtenus dans cette étude seront généralement présentés en coordonnées de Nyquist et de Bode.

III.2.2.3. Modélisation par un circuit équivalent

Les processus électrochimiques se déroulant à l'interface électrode/électrolyte peuvent être modélisés par la construction d'un circuit électrique équivalent qui peut être branché en série ou en parallèle pour ajuster les diagrammes expérimentaux afin d'extraire les paramètres électrochimiques nécessaires à la compréhension du système étudié.

Dans la construction des circuits électriques équivalents, on a recours à des composants électriques, comme la résistance R , la capacité C ou même l'inductance L . D'autres composants sont spécifiques aux processus électrochimiques comme l'impédance de Warburg ou le CPE (*Constant phase element*). L'impédance de Warburg liée à une diffusion semi-infinie. Le comportement en régime dynamique d'une réaction redox en l'absence de gradient de concentration des espèces électroactives est donc analogue à celui du circuit électrique de la Fig.II.5, appelé circuit de Randles simplifié.

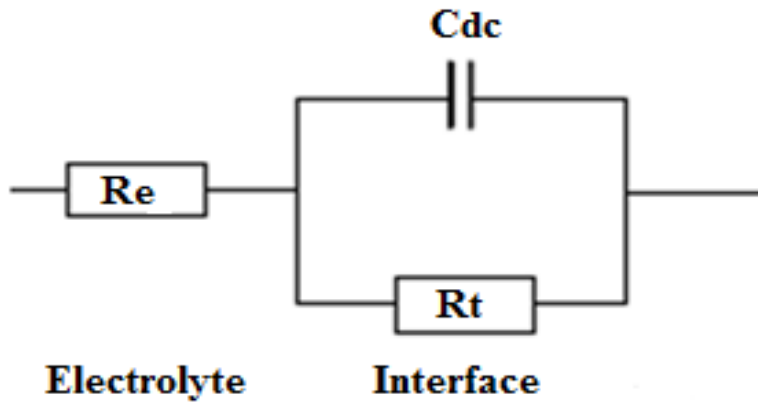


Figure II.5: Circuit de Randles d'une interface électrochimique simple du cas idéal [38]

Ce circuit comprend la résistance de transfert de charges R_t , la capacité de double couche C_{dc} et la résistance de l'électrolyte R_e . Notons que C_{dc} et R_t sont introduites en parallèle pour rendre compte qu'au niveau de l'interface de la simultanéité des deux phénomènes de conduction et de déplacement.

Cependant, il est souvent observé que les circuits équivalents contenant seulement la capacité de double couche ne décrivent pas correctement les données expérimentales d'impédance. Dans ce cas, des CPE sont utilisées à la place des condensateurs idéaux pour prendre en compte la non-idéalité du condensateur (Fig II.6). Plusieurs modèles de circuits équivalents ont été testés pour décrire un système particulier.

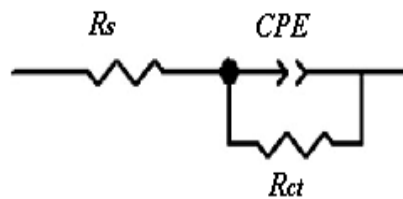


Figure II.6: Circuit de Randles d'une interface électrochimique simple du cas non idéal

Dans notre étude, la modélisation des diagrammes d'impédance électrochimique est faite à l'aide du logiciel EC-Lab V11.20. Elle consiste à analyser les données expérimentales à l'aide de modèles de circuits préétablis. Pour cela, il faut suivre la logique physique du système : les processus successifs sont branchés en série alors que les processus simultanés sont branchés en parallèle.

IV. Tests électrochimiques

IV.1. Matériau utilisé

Les essais de corrosion ont été effectués sur l'acier doux dont la composition chimique est présentée dans le tableau II.1 suivant:

Tableau II.1: Les compositions chimiques de l'acier doux

| Elément | C | Si | Mn | Cr | Mo | Ni | Al | Cu | W | Co | V | Fe |
|-------------|------|------|------|------|------|-----|------|------|------|--------|-------|-------|
| Teneur en % | 0.11 | 0.24 | 0.47 | 0.12 | 0.02 | 0.1 | 0.03 | 0.14 | 0.06 | 0.0012 | 0.003 | 99.12 |

Les teneurs en élément Mn, Si, Cr, Mo, Ni, Al, Cu et W, Co, V sont relativement faible (< 5%). C'est donc un acier non allié.

IV.2. Préparation du matériau et du milieu corrosif

Afin d'obtenir des résultats fiables et reproductibles, avant chaque essai les échantillons d'acier doux subissent un polissage au papier abrasif de granulométrie de plus en plus fine (grade 100-400-800-1200) suivi d'un rinçage par l'eau distillée et d'un séchage de l'échantillon. La solution corrosive est une solution d'acide chlorhydrique molaire (HCl 1 M), obtenue par dilution, avec de l'eau bi-distillée, de l'acide commercial de densité 1.19, concentré à 37 % (marque Prolabo ou Merck). Les concentrations des différents inhibiteurs verts (extraits) ont été préparées par addition de HCl 1 M. Les différents extraits de notre étude sont préparés dans notre Laboratoire LIMAS.

IV.3. Protocole expérimentale des essais électrochimiques

Les essais électrochimiques ont été effectués dans une cellule à 3 électrodes liée à un potentiostat/galvanostat et contrôlé par un logiciel d'analyse (EC-Lab V11.20). L'échantillon en acier doux a été utilisé comme électrode de travail, il est introduite dans un port-échantillon disposé face à la contre électrode de platine, 1 cm² de la surface de l'électrode est en contact avec la solution corrosive. La densité de courant est mesurée entre l'électrode de travail et la contre électrode de platine et tous les potentiels sont référencés à l'électrode de référence (Ag/AgCl: 3 M KCl). Cette dernière est placée près de l'électrode de travail pour minimiser l'influence de la chute ohmique. Les courbes de polarisation acquises lors d'expériences de polarisation potentiodynamique ont été enregistrées dans la plage de potentiel de ± 250 mV du potentiel en circuit ouvert E_{ocp} , avec une vitesse de balayage de 1 mV s⁻¹ pour s'approcher le plus possible des conditions de l'état quasi stationnaire. Le balayage de potentiel a été effectué depuis la zone cathodique vers la zone anodique pour éviter la pollution de l'électrolyte par le fer dissous. Les mesures du potentiel de l'acier doux en absence et en présence de l'inhibiteur sont

faites après stabilisation du potentiel libre. Les paramètres de corrosion obtenus par les courbes de polarisation tels que la pente cathodique du Tafel (β_c), la densité du courant de corrosion i_{corr} et le potentiel de corrosion E_{corr} ont été obtenus par extrapolation à partir du segment linéaire de Tafel ; évalués par le logiciel EC-Lab V11.20. Les courbes de polarisation ont été représentées graphiquement par Origin.6.

Les essais par spectroscopie d'impédance électrochimique de l'interface acier/HCl 1M sans et avec addition d'inhibiteur, à différentes concentrations, ont été effectués en mode potentiostatique au potentiel de corrosion E_{corr} , avec variation de la fréquence de la valeur 100 KHz à 10 mHz, et en appliquant une perturbation sinusoïdale de faible amplitude de 10 mV crête à crête autour de la valeur stationnaire de E_{ocp} . L'électrode est maintenue à E_{ocp} pendant 30 min avant chaque mesure. L'extraction des paramètres d'impédance électrochimique a été effectuée en utilisant EC-Lab V11.20. Les spectres d'impédance ont été analysés selon un circuit équivalent approprié. Origin.6 a été également utilisé pour la représentation graphique des données.

V. Analyse de surface

Les morphologies de surface des échantillons ont été examinées par un microscope électronique à balayage (modèle MEB FEI Quanta® 200) équipé d'une microanalyse de surface (EDX) (Fig II.7). Les micrographies ont été prises après immersion des échantillons pendant 24 h dans la solution corrosive, sans et avec inhibiteurs.



Figure II.6 : Microscopie électronique à balayage (MEB/EDX)

Références bibliographiques

1. G.F. Barbero, A.Liazid, M.Palma, C.G.Barroso, *Talanta*, 75 (2008) 1332.
2. S.B. Glisic, M. Ristic, D.U. Skala, *Ultras. Sonochem.*, 18 (2010) 318.
3. FSdO. Costa, A. Junior, Cad. Silva, EdJ. Bara, MTF. Lima, EM. Valadares, MC. Marreto, *Ultras. Sonochem.*, 18(2011) 1002.
4. S.R. Pai, M.S. Nimbalkar, N.V. Pawar, G.B. Dixit, *Ind. Crop. Prod.*, 34 (2011) 1458.
5. H.Y. Park, Y. Lee, Y. Noh, S.K. Sung, E-G. I. Choi, *Food Chem.*, 130 (2011) 598.
6. V. Sivakumar, J.L, AnnaVijayeeswarri, G. Swaminathan, *Ultras. Sonochem.*, 16 (2009) 782.
7. J .Bruneton, “ Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinale“.2eme édition. Édition Tec et Doc. Paris, France. 1993.
8. S.Y. Zhang, C.G. Zheng, X.Y. Yan, *Biochem.Biophys.Res.Commun.*, 371 (2008) 654.
9. M.D. Judith, Thèse de doctorat en pharmacie de l'Université de BAMAKO. (2005) 57.
10. A. Diallo, Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université BAMAKO. (2005) 38.
11. J.A. Botosoa, Biochimie Fondamentale et Appliquée, Université d'Antananarivo, (2010).
12. F. Suedile, Thèse de Doctorat en chimie, Université des Antilles et de la Guyane, (2014) 54.
13. F.Y. Mun, F.A. Lee, Z.A.Omar, M.S. Ibrahim, A.A. Hesham, Z.A. Mohd, *J Acupunct Meridian Stud.*, 2(2009) 280.
14. E.K. Akkol, F. Göger, M. Koşar, K. H. Başer, *Food Chem.*, 108 (2008) 942.
15. Q. Liu, H.Y.Yao, *Food Chem.*, 102 (2007) 732.
16. C. Quettier-Deleu , B. Gressier, J. Vasseur, T. Dine, C. Brunet, M. Luyckx, M. Cazin, J.C. Cazin, F. Bailleul, F. Trotin, *J. Ethnopharma.*, 72 (2000) 35.
17. C.C. Chang, M.H. Yang, H.M. Wen, J.C. Chern, *J.Food Drug Anal.*, 10 (2002) 178.
18. B. Sun, J.M .Richardo-Da-Silvia, I .Spranger, *J.Agr.Food Chem.*, 46 (1998) 4267.
19. M. D. Rivero-Pérez, P. Muniz, M.L. Gonzalez-Sanjosed, *J. Agric. Food Chem.*, 11 (2007) 5476.
20. W. Brand-Williams, M.F. Cuvelier, C. Berset, *Food Sci. Technol. Leb*, 28 (1995) 25.
21. K. Shimada, K. Fujikawa, K.Yahara, T.J.Nakamura, *J.Agr. Food Chem.*40 (1992) 945.
22. M. Oyaizu, *Jpn J. Nut.*, 44 (1986) 307.
23. P. Prieto, M. Pineda, M. Aguilar, *Anal. Biochem.*, 269 (1999) 337.
24. A. Moure, D. Franco, J. Sineiroet, *J.Agr.Food Chem.*, 48 (2000) 3890.

25. F. Sahin, M. Güllüce, D. Daferera, A. Sökmen, M. Sökmen, M. Polissiou, *Food Control*.15 (2004) 549.
26. C. LAMY, Conséquences de la dégénérescence des corps cellulaires dopaminergiques de la substance noire sur la neurotransmission dopaminergique dans le noyau caudé : Approches méthodologiques en micro dialyse et voltamètre. Mémoire : Ecole pratique des hautes études-LYON. (2007).
27. S. Jennan, A. Farah, F. Mahjoubi, *J Mater Environ Sci*. 6 (2015) 773.
28. E.E. Oguzie, A.I. Onuchukwu, P.C. Okafor, E.E. Ebenso, *Pig.Resin.Technol.*, 35 (2006) 63.
29. P.S. David, Etude du comportement anti-corrosion de revêtements amorphes base Si Elaborés par dépôt chimique en phase vapeur assisté plasma, Institut National des Sciences appliquées de Lyon, (2006).
30. F. Touhami, A. Aouniti, Y. Abed, B. Hammouti, S. Kertit, A. Ramdani, K. Elkacemi, *Corros. Sci.*, 42 (2000) 929.
31. F. Bentiss, M. Traisnel, M. Lagrenée, *Corros. Sci.*, 42 (2000) 127.
32. M.E. Orazem, B. Tribollet, John Wiley & Sons, *Inc, n.d.* (2008).
33. J. Tafel, *Z. Physik, Chem.*, 50 (1905) 666.
34. F. Bentiss, M. Outirite, M. Traisnel, H. Vezin, M. Lagrenée, B. Hammouti, S.S. Al-Deyab, C.Jama, *Int. J .Electrochem .Sci.*, 7 (2012) 1699.
35. E. Poorqasemi, O. AbooTalebi, M. Peikari, F. Haqdar, *Corros. Sci.*, (2009) 1043.
36. G.E. Badea, A. Caraban, M. Sebesan, S. Dzitac, P. Cret, *J. Sustainable Energy.*, 1 (2010) 79.
37. M. Stern, A.L. Geary, *J. Electrochem. Soc.*, 104 (1957) 56.
38. D. Landolt, PPUR presses polytechniques, 1997.

Chapitre III :

Effet du solvant et du procédé d'extraction sur les activités antioxydante et inhibitrice de la corrosion d'un acier doux dans HCl 1M, des extraits de *l'Ammi visnaga* et de ses fractions phénoliques

Contenu du chapitre

Ce chapitre est consacré à l'évaluation de l'effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques ainsi que sur l'activité antioxydante et anticorrosion d'un acier doux en milieu HCl 1 M des extraits non volatils de *A.visnaga*. Deux méthodes d'extraction sont utilisées ; l'extraction assistée par ultrasons et la méthode du soxhlet. Aussi différents solvants ont été testés ; l'eau, l'éthanol et la solution hydro-éthanolique.

Ce chapitre concerne également l'évaluation de l'activité antioxydante de différentes fractions phénoliques obtenues par le protocole de fractionnement des flavonoïdes et des tanins. L'activité anticorrosion des fractions riches en composés phénoliques est étudiée ainsi que celle des standards, la quercétine et la catéchine dans le but d'identifier la famille des composés phénoliques responsables de l'effet de l'inhibition de la corrosion.

Dans ce chapitre nous traitons également la corrélation entre l'activité antioxydante, la teneur en composés polyphénoliques et l'activité anticorrosion. Pour réaliser cette étude, des tests phytochimiques ainsi que des dosages des phénols totaux (TP), des flavonoïdes (TF) et des tanins condensés (TC) des différents extraits et fractions d'extraits ont été nécessaires. La présence de la quercétine et de la catéchine a été détectée dans les fractions n-butanolique et d'acétate d'éthyle par Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC). L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits ; objet de l'étude, a été réalisée par quatre méthodes différentes, DPPH', FRAP, AAT et β -carotène. Concernant l'activité anticorrosion du matériau étudié, elle a été réalisée en se basant sur la méthode électrochimique stationnaire (courbes de polarisation) et transitoire (spectroscopie d'impédance électrochimique) ainsi que sur une étude thermodynamique par utilisation de la méthode électrochimique.

Les résultats montrent que les extraits obtenus par les deux méthodes d'extraction sont riches en polyphénols et que l'analyse des TP des TF et des TC montre que l'extrait hydro-éthanolique obtenu par ultrasons a été caractérisé par une teneur plus élevée en TP (110.02 ± 0.02 mg EAG/g d'extrait), en TF (34.50 ± 0.09 mg EQ/g d'extrait) et en TC (65.20 ± 0.24 mg catechin/g d'extrait).

L'étude de l'activité antioxydante montre que l'extrait hydro-éthanolique obtenu par ultrasons est caractérisé par une activité antioxydante plus importante par rapport aux autres extraits. Les résultats du fractionnement des flavonoïdes et tanins montrent que la fraction n-butanolique est riche en flavonoïdes (241.84 ± 9.10 mg EQ/g d'extrait) et que la

fraction d'acétate d'éthyle est riche en tanins condensés (195.16±4.31 mg catéchine/g d'extrait), alors que les deux fractions ont montré une importante capacité antioxydante.

Les courbes de polarisation indiquent que l'extrait éthanolique *d'A.visnaga* obtenu par soxhlet agit comme un inhibiteur de type mixte et que les mesures de spectroscopie d'impédance électrochimique ont montré que la capacité de la double couche diminue et que la résistance de transfert de charges augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait éthanolique à partir de *l'A.visnaga*. Cela conduit à l'augmentation de l'efficacité d'inhibition à 90 % pour 0.30 g d'extrait par litre de solution à traiter. Ces résultats ont été comparés à ceux obtenus par les extraits issus de la méthode d'ultrasons ayant montré que l'extrait éthanolique ainsi obtenu a une efficacité inhibitrice plus importante de l'ordre de 89 % à 0.01 gL⁻¹. Ces résultats ont montré également que les extraits obtenus par ultrasons agissent comme des inhibiteurs mixtes alors que les mesures par SIE ont montré que l'inhibition de la corrosion de l'acier doux pouvait être attribuée à l'adsorption des molécules actives à la surface du métal. La corrélation entre la teneur en tanins condensés, l'activité antioxydante ainsi que l'efficacité d'inhibition dérivés des droites de Tafel et SIE ont été révélées, respectivement. Les courbes de polarisation montrent que la fraction n-butanolique (F3) et d'acétate d'éthyle (F6) agissent comme des inhibiteurs de type mixte.

L'étude potentiodynamique indique que la molécule de quercétine joue le rôle d'un accélérateur et par conséquent l'action inhibitrice de F3 est due à l'effet de synergie des différents composants de cette fraction. Aussi, la courbe de polarisation indique que la catéchine représente la molécule principale responsable de l'inhibition de la corrosion dans la fraction F6. Les deux fractions, F3 et F6 agissent comme inhibiteurs de type mixte avec un contrôle prédominant de la réaction cathodique. Les diagrammes de Nyquist et de Bode, modélisés par un circuit simple ont montré une efficacité d'inhibition maximale de 93 % à 0.15 gL⁻¹ obtenue pour la fraction F6. L'isotherme d'adsorption de la molécule de catéchine à la surface de l'acier doux obéit à l'isotherme des modèles de Temkin et d'El-Awady.

Anal. Bioanal. Electrochem., Vol. 10, No. 7, 2018, 912-929

**Evaluation of anticorrosion and antioxidant activities of
extract of *Ammi visnaga***

Sarra Aourabi^{1,2}, *Majid Driouch*², *Kenza Ammor*¹, *Mouhcine Sfaira*², *Mohamed Ebn
Touhami*³, *Fatima Mahjoubi*¹

¹ Laboratory of Materials Engineering and Environment, Faculty of Sciences, University Sidi Mohamed Ben Abdellah (USMBA) Fez, (Morocco).

² Laboratory of Materials Engineering, Modeling and Environment, Faculty of Sciences, USMBA Fez, (Morocco).

³ Laboratory of Materials, Electrochemistry and Environment, Faculty of Sciences, University Ibn Tofaïl, Kénitra (Morocco).

*Corresponding Author Tel.: +212652113592

E-Mail: sarra.aourabi@usmba.ac.ma

Received: 18 April 2018 / Received in revised form: 4 June 2018 / Accepted: 12 July

2018 / Published online: 31 July 2018

Abstract

The present work concerns the valorization of ethanolic extract of aerial part of *Ammi visnaga*, as an antioxidant as well as a corrosion inhibitor for mild steel in 1M HCl medium. The antioxidant activity is evaluated by two techniques; total antioxidant capacity and free radical scavenging 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH[•]). The phytochemical tests were carried out by colorimetric reactions and precipitation which revealed an intense presence of tannins and flavonoïds. The content of total phenols, flavonoïds and condensed tannins were conducted by means of Folin Ciacaltea, Quettier-Deleu and Broadhurst methods, respectively. The results showed that ethanolic extract of *Ammi visnaga* was rich of polyphenols. Ethanolic extract had a great radical scavenging activity ($IC_{50} = 2.82$ mg/mL) when compared to the standard BHT with only ($IC_{50} = 0.27$ mg/mL) along with a high total antioxidant capacity (82.46 mg BHT/g extract). On the other hand, the anticorrosion behavior of ethanolic extract of *Ammi visnaga* was conducted by electrochemical impedance spectroscopy, potentiodynamic polarization and mass-loss measurements. Polarization curves indicated that ethanolic extract of *Ammi visnaga* act as mixed-type inhibitor and inhibition efficiency increased with ethanolic extract of *Ammi visnaga* concentration. Impedance measurements showed that the double-layer capacitance decreased and charge-transfer resistance increased with rise of ethanolic extract of *Ammi visnaga* concentration and thereby increased the inhibition efficiency. The adsorption of the extracted molecules followed the Langmuir adsorption isotherm model. It was registered that ethanolic extract of *Ammi visnaga* exhibited both an important antioxidant and anticorrosive properties.

Keywords: Extract of *Ammi visnaga*, Total phenol, Flavonoïds, Condensed tannins, Antioxidant activity, Corrosion inhibition,

I. Introduction

Acidic solutions are commonly used in various industries including acid pickling, industrial cleaning, acid rescaling, oil-well acidification, and petrochemical processes [1]. Besides, mild steel is widely used as structural material in automobiles, pipes and chemical industries [2]. Hydrochloric acid is widely used for pickling and de-scaling of mild steel [3, 4], which leads to severe corrosion of mild steel. In order to investigate this fact a large number of scientific studies have been devoted to corrosion inhibitors of mild steel in acidic environments [5-7].

The majority of the well-known inhibitors are organic compounds containing heteroatoms, such as O, N or S, and multiple bonds, which allow an adsorption on to the metallic surface [8]. These compounds can adsorb on metal surface and block the active surface sites to reduce the corrosion rate [3]. However, the stability of the inhibitor film on the metal surface depends on some physicochemical characteristics of the molecule, related to its functional groups, aromatic, possible steric effects, electronic density of donors, type of corrosive medium, molecular structure, charge of metal surface and nature of interaction between the orbital of inhibitors and the d-orbital of iron [9-14]. Although, many synthetic compounds show a good anticorrosive effect but most of them remain highly toxic to both human beings and environment [3]. The toxicity of these compounds can be shown during the synthesis of these compounds or during their applications. However, plant extracts are considered as rich source of bio-compounds, biodegradable in nature. Several natural compounds such as, *Limbarda crithmoides* [15], *Chamomile Essential Oils* [16], *Fennel Seed Extract* [17], have already been studied and exhibited good performance for corrosion inhibition in acidic media.

Ammi visnaga is an aromatic and medicinal plant belonging to the *Apiaceae* family. It is widely distributed in the Mediterranean, South and North of America, India, Russia, Europe, Southwest Asia, Argentina, Chile Mexico, Atlantic and Iraq [18-21]. Several works have shown the interest of this plant in the field of herbal medicine and in corrosion inhibition [22].

In the present study, the antioxidant activity of *Ammi visnaga* has been studied by DPPH method which relies on the reduction of 2, 2-diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) radical. This method presents the advantage to be simple, fast and inexpensive for measuring the antioxidant capacity.

In this work, the ethanolic extract of *Ammi visnaga* (Morocco) obtained by the Soxhlet technique, has never been tested, in our knowledge, as an antioxidant and corrosion

inhibitor as well. The objective of this study is to evaluate both the antioxidant activity along with its inhibitive effect of ethanolic extract of *Ammi visnaga* as a green corrosion inhibitor for mild steel in 1 M HCl solution. The anticorrosion effect was studied using different techniques like potentiodynamic polarization, electrochemical impedance spectroscopy (EIS), and mass- loss methods.

II. Materials and methods

II.1. Vegetal material and extraction

Plant material was collected at the fruiting time during July 2016 in Taounate region of Morocco. The botanical identification of the species was carried out in the laboratory of Biotechnology and Preservation of Natural Resources (BPNR), Sidi Mohamed Ben Abdellah University, Fez, Morocco. The extraction method was performed with Soxhlet; the extracts were filtered and concentrated under reduced pressure.

II.2. Materials

The chemical composition of mild steel is as follows: 0.11% C, 0.24% Si, 0.47% Mn, 0.12% Cr, 0.02% Mo, 0.1% Ni, 0.03% Al, 0.14% Cu, 0.06% W, 98.7% Fe, < 0.001% Co, <0.003% V. Before each measurement, the mild steel was mechanically polished with SiC paper (400, 600, 1000 and 1200), degreased with acetone, rinsed with distilled water and then blown dry. The aggressive solution of 1 M HCl was prepared by dilution of 37% HCl. whereas inhibitor concentrations were prepared by the addition of 1 M HCl solution.

III. Methods

III.1. Qualitative phytochemical analysis

The qualitative phytochemistry of the dry extract was achieved by colorimetric reactions and precipitation by specific chemical reagents according to the protocols given in [23-25]. These tests revealed the presence of a number of chemical groups of the ethanolic extracts.

III.2. Determination of total phenolic content

The total phenols of the extract were estimated using the Folin-Ciocalteu method [26]. This method allows knowing the total polyphenolic content of a given sample. The plant extract (100 μ L), suitably diluted, is introduced into a test tube initially containing 6 mL of distilled water, then 500 μ L of the Folin reagent is added and the mixture is stirred. After 5 min, a solution of 20 % Na_2CO_3 (1.5 mL) is added while stirring. The solution is adjusted to 10 mL with distilled water. After 2 h of incubation, at room temperature, the absorbance is measured with a white made from distilled water using a spectrophotometer UV-Visible kind Selecta at 760 nm. A calibration curve with different concentrations of gallic acid was

plotted. The total phenol content in the extract was expressed in milligram equivalent of gallic acid per gram of extract (mg EGA/g extract).

III.3. Determination of total flavonoïds contents

The total flavonoïds content of ethanolic extract of *Ammi visnaga* is determined by the Quettier-Deleu method [27]. The method consists in mixing 1 mL of the solution of the extract with an equal volume of a solution of $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ (2%). After 10 min, the absorbance of the mixture is measured at 430 nm. The quantification of flavonoïds is determined based on a linear calibration curve performed by quercetin at different concentrations and under the same conditions as the sample. The results are expressed in milligrams equivalent of quercetin per gram of extract (mg EQ/g extract).

III.4. Determination of condensed tannins

The condensed tannins or proanthocyanidin are determined by the method [28] with slight modification using gallic acid as a reference. This method is based on the ability of vanillin to react with condensed tannins units in the presence of hydrochloric acid to produce a measured color complex. A volume of 400 μ L of extract is added to 3 mL of a solution of vanillin (4% in methanol) and 1.5 mL of concentrated hydrochloric acid. After 15 min of incubation, at room temperature, the absorbance is measured at 500 nm. A calibration curve is carried out in parallel under the same operating conditions using gallic acid at concentrations of 0.1 to 1 mg/mL. The condensed tannins content was expressed in milligram equivalent of gallic acid per gram of extract (mg EGA/g extract). All tests are reproduced at least three times.

IV. Antioxidant activity evaluation

IV.1. DPPH[•] methods

The antioxidant activity of the extract is determinate by measuring the ability of the antioxidant to trap the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH[•]), according to the method described by [29]. The ability to scavenge DPPH radical was measured in these experiments by the discoloration of the solution.

Indeed, 2 mL of the various concentrations of the extracts (0.125-0.5 mg/mL) was mixed to 0.5 mL of a methanolic solution 1 mM DPPH. After the incubation period of 30 min in dark conditions at 25 °C, the absorbance is measured with a white made from methanol using a Selecta UV-Vis spectrophotometer at 517 nm. The standards used are: ascorbic acid and butylated hydroxytoluene (BHT) (0.125-1 mg/mL). Trials were performed three times to verify reproducibility. The results are expressed as percent inhibition calculated according to Equation (1):

$$\text{DPPH scavenging effect (\%)} = \left(\frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100 \right) \quad (1)$$

where A_0 is the absorbance of the control, and A_1 is the absorbance of the sample.

The antiradical activity was expressed as IC_{50} , which is the antiradical concentration required to cause 50% of inhibition. The IC_{50} value was determined by plotting the inhibition percentages according to the different concentrations of the extract.

IV.3. The total antioxidant capacity

The total antioxidant capacity of the extracts was evaluated by Phosphomolybdenum method [30]. This technique is based on the reduction of molybdenum Mo (VI) present as molybdate ions MoO_4^{2-} to Mo (V) MoO^{2+} by the extract and subsequent formation of a green phosphate/ Mo (V) complex at acid pH.

A volume of 0.3 ml of the extract was mixed with 3 ml of the reagent solution (0.6 M sulfuric acid, 28 mM sodium phosphate and 4 mM of ammonium molybdate). The tubes were incubated at 95 °C for 90 min. After cooling, the absorbance of the solutions is measured at 695 nm against the blank which contains 3 mL of the reagent solution and 0.3 mL of methanol and which was incubated under the same conditions as the sample. Total antioxidant capacity is expressed by (mg BHT/g extract) and (mg ascorbic acid/g extract). The experiments are repeated three times.

V. Anti-corrosion activity evaluation

V.1. Mass-loss measurements (mL) by gravimetric methods

Gravimetric measurements were made on rectangular steel samples (1. 22 cm x 2. 85 cm x 0.3 cm) in 1 M HCl solution at different concentrations of ethanolic extract of *Ammi visnaga*. The concentration of the inhibitor ranged from 0.05 to 0.3 gL⁻¹. The immersion time for the mass-loss was 6 h. The results of the mass- loss experiments were the mean of three runs, each one with a fresh specimen and 50 mL of fresh acid solution. The inhibition efficiency $\eta_{ML}\%$ was calculated using Equation (2):

$$\eta_{ML} \% = \left(\frac{W_a - W_b}{W_a} \right) \times 100 \quad (2)$$

where W_b and W_a are the mass- loss of the of mild steel in the presence and absence of ethanolic extract of *Ammi visnaga*, respectively.

V.2. Potentiodynamic polarization (PP) measurements

Electrochemical measurements were carried out in a conventional three electrode cylindrical glass cell containing 50 mL of electrolyte at 25 ± 1 °C. The working electrode was used as a rectangular specimen of mild steel with one face of the electrode with constant 1 cm^2 of surface area exposed to the aggressive solution. Ag/AgCl was used as reference electrode and a rectangular platinum foil was used as a counter electrode. Polarization studies were conducted using a potentiostat/galvanostat and controlled with analysis software (Voltmaster 4). The working electrode was immersed during half an hour until a steady state open circuit potential (E_{ocp}) was obtained. Thereafter, the potentiodynamic polarization curves were recorded by scanning the electrode potential automatically from - 900 mV to 100 mV against with a scanning rate of 1 mV s^{-1} . The inhibition efficiency $\eta_{PP} \%$ was calculated using Equation (3):

$$\eta_{PP} \% = \frac{(i_{corr} - i_{in})}{i_{corr}} \times 100 \quad (3)$$

where i_{corr} and i_{in} are the corrosion current density of mild steel in the absence and presence of ethanolic extract of *Ammi visnaga*, respectively.

V.3. Electrochemical impedance spectroscopy (EIS) measurements

The EIS experiments were conducted using the same potentiostat / galvanostat and controlled with analysis software (Voltmaster 4) system with EC-lab software to evaluate the charge transfer (R_{ct}) and double layer capacitance (C_{dl}) values. All experiments were performed in a frequency ranging from 100 kHz to 100 mHz and peak-to-peak ac amplitude of 10 mV. The impedance diagrams were plotted in both Nyquist and Bode representations. The inhibition efficiency $\eta_{EIS} \%$ was calculated using Equation (4):

$$\eta_{EIS} \% = \frac{(R_{ct}^{inh} - R_{ct}^0)}{R_{ct}^{inh}} \times 100 \quad (4)$$

where R_{ct}^0 and R_{ct}^{inh} are the charge transfer resistance of mild steel in the absence and presence of ethanolic extract of *Ammi visnaga*, respectively.

VI. Results and discussion

VI.1. The antioxidant potential of ethanolic extract of *Ammi visnaga*

VI.1.1. Phytochemical screening

The phytochemical analysis is exemplified in the Table 1:

Table 1. Phytochemical screening of the ethanolic extract of *Ammi visnaga*

| Chemical constituent | | Revelation | |
|----------------------|----------------------|-------------------|-----|
| polyphenols | Tannins | Total tannins | + |
| | | Gallic tannins | - |
| | | Condensed tannins | +++ |
| | Flavonoïds | +++ | |
| | Alkaloids | - | |
| | Steroids | + | |
| | Mucilage | - | |
| | Saponins | - | |
| | Steroidal heteroside | - | |
| | Terpenoids | + | |
| | Coumarins | + | |

+++ : Very abundant, + : presence, - : absence

It can be concluded from Table 1, that the phytochemical tests carried out on ethanolic extract of *Ammi visnaga* show the presence of flavonoïds, terpenoids, coumarins, steroids and condensed tannins. These results are in agreement with some researches [31, 32]. Whereas for those obtained by [22], the aqueous extract of the seed of *Ammi visnaga* was characterized by intense presence of furanochromone (khellin and visnagin) and coumarins. The phytochemical study of aqueous extract of the fresh umbels of *Ammi visnaga* revealed the presence of therapeutic molecules such as terpenoids, sterols, condensed tannins, flavonoïds and the absence of gallic tannins and saponines [33].

It is to be noted that in the present study, the extraction of plant material by ethanol reveals the presence of condensed tannins and flavonoïds much better, whereas the extraction with water reveals the presence of furanochromone, coumarins and alkaloids. So, the chemical composition depends on the extraction method as well as the solvent and the part studied of the plant.

VI.1.2. Determination of total phenols, flavonoïds and condensed tannins

The calibration curves of gallic acid and quercetin to evaluate the total phenols, flavonoïds and condensed tannins are given in Fig. 1, 2, 3, respectively.

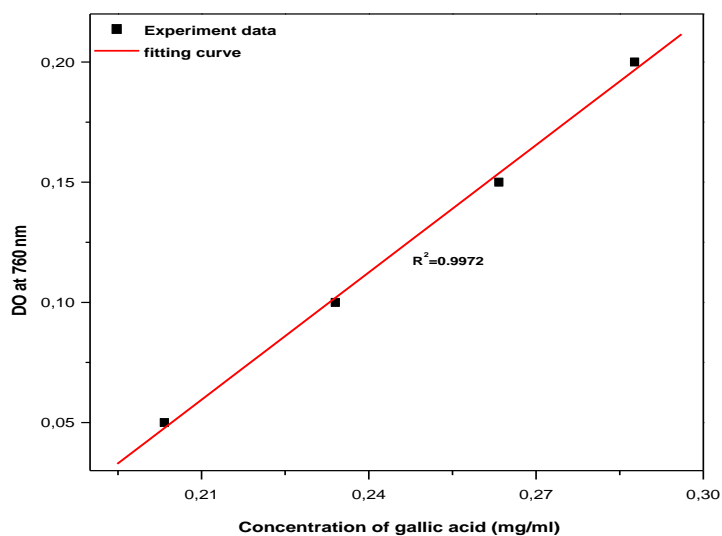


Fig. 1. Gallic acid calibration curve for the determination of phenols

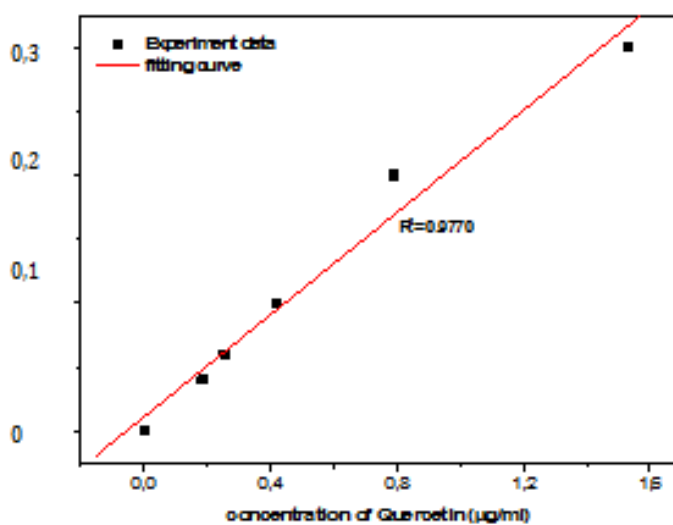


Fig. 2. Quercetin calibration curve for the determination of flavonoïds

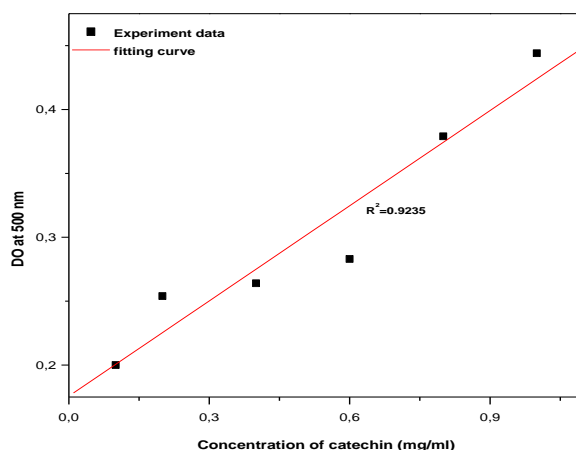


Fig. 3.Gallic acid calibration curve for the determination of condensed tannins

The results of total phenols, flavonoïds and condensed tannins content are summarized in Table 2 and all the values are expressed as mean \pm SD: Standard deviation.

Table 2.Total phenolic content, total flavonoids content and condensed tannins in ethanolic extract of *Ammi visnaga*

| | Extraction yield (%) | Total phenolic content (mg EGA/g extract) | Condensed tannins (mg EGA/g extract) | Total flavonoids content (mg EQ/g extract) |
|--|----------------------|---|--------------------------------------|--|
| Ethanolic extract of <i>Ammi visnaga</i> | 23.35 | 76.75 \pm 2.31 | 41.03 \pm 0.10 | 11.75 \pm 0.02 |

In this study, the ethanol extract has higher total phenols, in particular, the value of condensed tannins is higher than that of flavonoïds. These results are in agreement with those obtained by other researchers [34-36].

VI.1.3. Evaluation of the antioxidant character of ethanolic extract of *Ammi visnaga* by DPPH

The results of inhibition by DPPH are presented in Table 3:

Table 3. IC₅₀ values of ethanolic extract of *Ammi visnaga*, BHT and ascorbic acid

| Extract | IC ₅₀ (mg/mL) |
|--|--------------------------|
| Ethanolic extract of <i>Ammi visnaga</i> | 2.82 |
| BHT | 0.27 |
| Ascorbic acid | 0.19 |

VI.1.4. Evaluation of the total antioxidant capacity by phosphomolybdenum method

The results of the total antioxidant activity are reported in Table 4:

Table 4. Total antioxidant capacity

| | Total antioxidant capacity (mg BHT/g extract) | Total antioxidant capacity (mg ascorbic acid/g extract) |
|---|--|--|
| Ethanolic extract of <i>Ammi visnaga</i> | 82.46± 5.27 | 115.39± 6.33 |

Recent studies have shown that there is no single method to evaluate the antioxidant activity quantitatively and accurately [37]. Therefore, some researchers have recommended at least two methods to analyze the antioxidant activity, because each one is distinguished by its mechanism of action [38]. In this study, we performed two methods to evaluate the antioxidant activity of ethanolic extract of *Ammi visnaga*: DPPH and total antioxidant capacity using BHT and ascorbic acid as reference.

The values of IC₅₀ are given in Table 3. The results for total antioxidant capacity are presented in Table 4. The antioxidant activity of ethanolic extract of *Ammi visnaga* is evaluated by DPPH and total antioxidant capacity methods was significantly higher. In fact, antioxidant capacity may be associated with a high phenol content considered as secondary metabolites of plant origin [39]. Structurally, phenols comprise an aromatic ring bearing one or more hydroxyl substituent [36]. The antioxidant activity of this type of molecule is due to its ability to scavenge free radicals, donate hydrogen atoms or electrons or chelate metal cations [40]. The obtained results showed that ethanolic extract of *Ammi visnaga* has a high activity of elimination of free radicals which can be imputed to the high quantity of phenolic compounds [41]. Indeed, in terms of some works the antioxidant activity of different extracts of *Ammi visnaga* is characterized by a strong capacity to trap free radicals. The value of IC₅₀ changes from one extract to another due to the extraction solvent [42], the treated part of the plant material as well as the extraction method and the reference used.

VI.2. The anticorrosion potential of ethanolic extract of *Ammi visnaga*

VI.2.1. Mass-loss measurements by gravimetric methods

The corrosion rate and inhibition efficiency for mild steel in 1 M HCl solution in the absence and presence of ethanolic extract of *Ammi visnaga* are given in Table 5. It is indicated that inhibition efficiency of mild steel rise with the increase of ethanolic extract of *Ammi visnaga* concentration up to 84.82 % at 0.3 g. L⁻¹. So, the presence of ethanolic extract of *Ammi visnaga* leads to a decrease of the corrosion rate. This behavior can be attributed to the increase of the covered area by adsorbed molecules on the surface steel, which reduces the direct contact between the steel and the corrosive environment. Simultaneously, it can be also concluded that a relatively high surface coverage could be obtained even at low concentrations 0.05 g L⁻¹. Indeed, the ethanolic extract of *Ammi visnaga* extracted bay Soxhlet is characterized by the intense presence of polyphenols, mainly condensed tannins and flavonoïds. All flavonoïds are derived from the benzo- γ -pyrone sequence [43] and condensed tannins comprise a group of polyhydroxy-flavan-3-ol oligomers and polymers bonded by carbon-carbon bonds between subunits of flavanol [44]. Therefore, flavonoïds and condensed tannins are characterized by the presence of adsorption centres (oxygen) in their molecular structures facilitating the transfer of electrons from functional groups to the steel surface. This allows a better adsorption capacity of the molecules at the steel interface and therefore important inhibition efficiencies.

Table 5. Corrosion rates obtained from gravimetric technique for mild steel in 1 M HCl containing at different concentrations of ethanolic extract of *Ammi visnaga* at 298 K

| C_{inh} g.L ⁻¹ | W_{corr} mg.cm ⁻² .h ⁻¹ | η_{ML} % |
|--------------------------------|--|---------------|
| 1 M HCl | 0.5305 | – |
| 0.05 | 0.1535 | 71 .06 |
| 0.10 | 0.1422 | 73 .19 |
| 0.20 | 0.1255 | 76. 34 |
| 0.30 | 0.0850 | 84. 82 |

VI.2.2. Potentiodynamic polarization (pp) measurements

Fig. 6 represents the anodic and cathodic polarization curves (Tafel plots) of mild steel in 1 M HCl solution at different concentrations of ethanolic extract of *Ammi visnaga*. Figure 4 shows an enablement of the potential well shifts from cathodic potential to the anodic direction with the addition of the inhibitor. On the other hand, the addition of ethanolic

extract of *Ammi visnaga* reduces the anodic dissolution of the steel and also delays the evolution reaction of the cathodic hydrogen [45]. These results indicate that this inhibitor exhibits both cathodic and anodic inhibition effects. Hence, ethanolic extract of *Ammi visnaga* can be considered as a mixed type inhibitor.

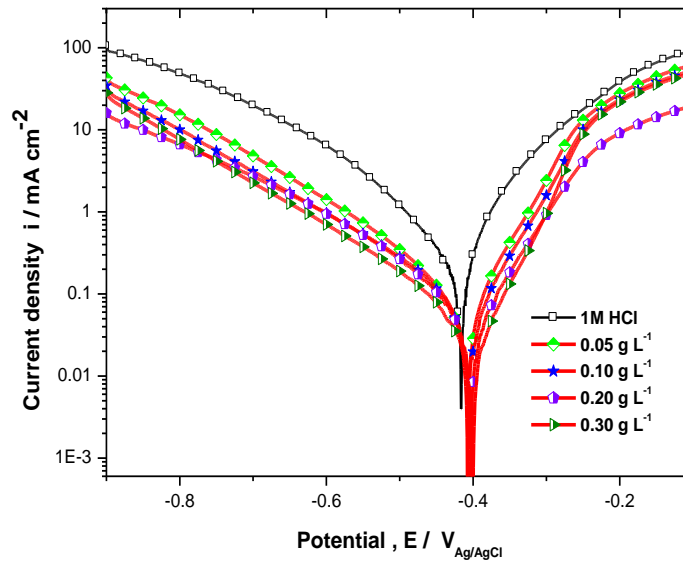


Fig.4. Polarization curves for mild steel in 1 M HCl at various concentrations of ethanolic extract of *Ammi visnaga*

The kinetic parameters including the corrosion current density (i_{corr}), corrosion potential (E_{corr}), cathodic Tafel slope (β_c) and inhibition efficiency η_{pp} % are given in Table 6.

Table 6. Polarization parameters and corresponding inhibition efficiencies for mild steel in 1 M HCl at different concentrations of ethanolic extract of *Ammi visnaga* at 298 K

| C_{inh} $g.L^{-1}$ | E_{corr} $mV_{Ag/AgCl}$ | i_{corr} $\mu A cm^{-2}$ | $ \beta_c $ $mV dec^{-1}$ | η_{pp} % |
|-------------------------|------------------------------|-------------------------------|------------------------------|---------------|
| 1 M HCl | -416.50 | 337.06 | 159.1 | - |
| 0.05 | -407.50 | 95.49 | 163.1 | 71.66 |
| 0.10 | -406.47 | 89.65 | 186.3 | 73.40 |
| 0.20 | -403.07 | 75.15 | 175.9 | 77.70 |
| 0.30 | -398.62 | 49.78 | 172.1 | 85.23 |

Table.6 reflects that the corrosion current density (i_{corr}) drops dramatically and inhibition efficiency η_{pp} % rise to attain 85.23% with rise of ethanolic extract of *Ammi visnaga* concentration until the same optimum of 0.3 $g L^{-1}$ as obtained with Potentiodynamic Polarization measurements. The increasing inhibition efficiency with increasing inhibitor concentration indicates that ethanolic extract of *Ammi visnaga* acts probably by merely

blocking the active sites of the metal surface, so retarding the corrosion reaction. On the other hand, the changed Tafel slopes (β_c) in the presence of ethanolic extract of *Ammi visnaga* suggest that the mechanism of the hydrogen discharge change in the presence of inhibitive at each concentration.

VI.2.3. Electrochemical impedance spectroscopy (EIS) measurements

A better comprehension of the mechanism taking place at the mild steel interface is often attained through impedance measurements. EIS is performed under potentiostatic conditions at E_{corr} and 298 K in the blank and inhibited solution containing different concentrations of ethanolic extract of *Ammi visnaga*. The corrosion behavior of mild steel in 1 M HCl solution in the presence of ethanolic extract of *Ammi visnaga* is investigated by EIS at 25 ± 1 °C. Fig. 5 and 6 show the results of electrochemical impedance spectroscopy (EIS) measurements experiments in the Nyquist and Bode representations. It is clear from Figure 5 that the Nyquist plots are characterized by one depressed capacitive loop, as often obtained in acidic media [45,46], which reflects the presence of a single time constant over the entire frequency range explored. Which indicate that the corrosion process is mainly charge transfer controlled [47]. The deviation of Nyquist plots from an ideal semi-circle is generally attributed to different physical processes such as the non-homogeneity of the electrode surface or its roughness during the corrosion process [48, 49]. Thus, the Nyquist diagrams are analyzed in terms of an equivalent circuit composed the constant phase element (CPE), charge transfer resistance (R_{ct}) and a solution resistance (R_s) (as shown in Fig. 7). The impedance parameters including charge transfer R_{ct} , double layer capacitance C_{dl} and inhibition efficiency $\eta_{EIS\%}$ are summarized in Table.7. It is clear that the R_{ct} values increase while CPE values decrease with increasing ethanolic extract of *Ammi visnaga* concentration in 1 M HCl solution, which led to an increase in $\eta_{EIS\%}$ until it, reaches 90.69 % at 0.3 gL^{-1} . In turns the R_{ct} is related to the blocking of the active sites on the metal surface, the C_{dl} is directly related to the thickness of the adsorbed film and/or the replacement of water molecules by the inhibitor molecules. This situation suggests that more inhibitor molecules are adsorbed on the metal surface and provide better surface coverage which reduces the capacitance.

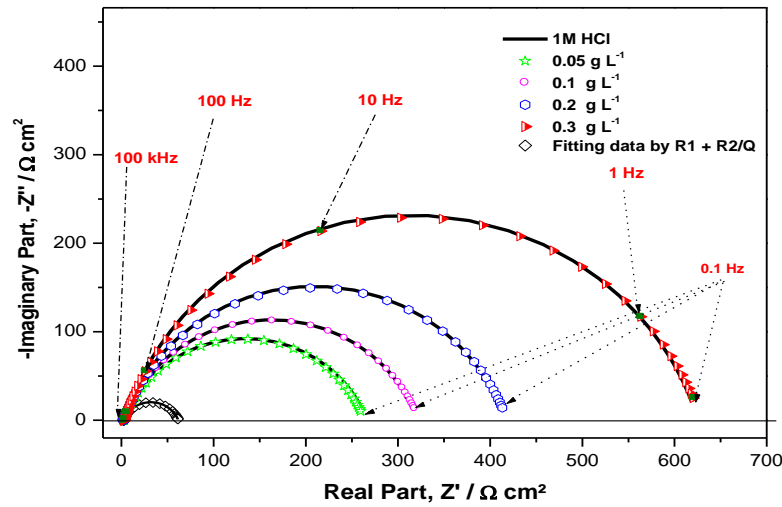


Fig.5: Nyquist diagrams for mild steel in 1 M HCl at 298 K at different concentrations of ethanolic extract of *Ammi visnaga*

As it can be seen from the Bode plots (Fig. 6), only one time constant appears, which indicates that the corrosion of mild steel in 1 M HCl solution is mainly controlled by a charge transfer process. The increase in the peak heights in the phase-angle plots indicates a more capacitive response of the interface due to the presence of inhibitor molecules at the interface. Moreover, the increase of absolute impedance at low frequencies confirms the higher protection with increasing the concentration of ethanolic extract of *Ammi visnaga*, which is related to the adsorption of ethanolic extract of *Ammi visnaga* molecules on the steel surface in 1 M HCl. In fact, the Bode diagrams, reported in Figure 6, indicate the existence of three main regions. The first one, at low frequencies (from 1.38 Hz to 10 Hz); i.e., the frequency $f \rightarrow 0$, the second region, at high frequencies (from 10 kHz to 100 kHz); i.e. $f \rightarrow \infty$, the measured impedances Z are practically not influenced by the frequency accompanied with a decrease of the phase angle ($\varphi \rightarrow 0$). Thus, these two regions show typical ohmic behavior where the measured impedances correspond to an ohmic resistance. However, the region ranged from 10 Hz to 1 kHz shows a linear dependence of $\log|Z| - \log$.

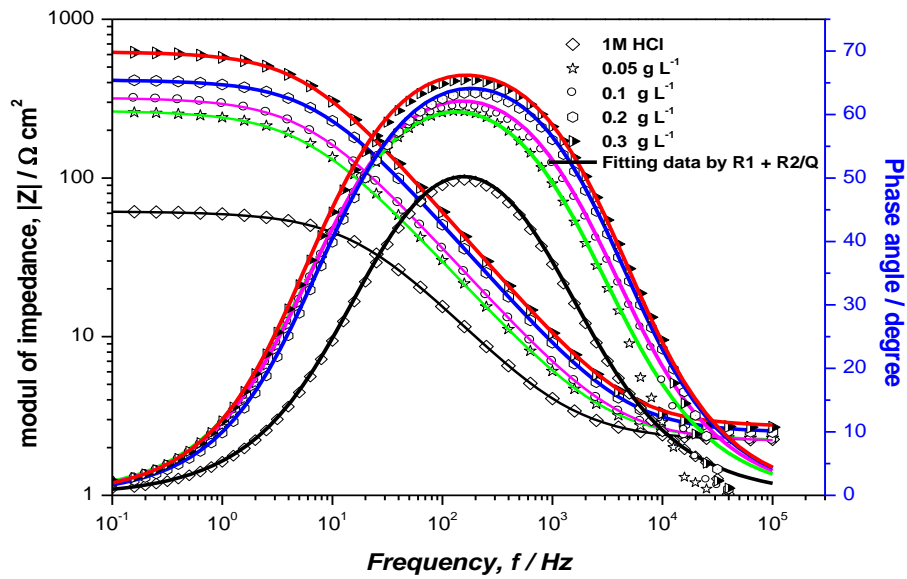


Fig.6. Bode diagrams for mild steel in 1 M HCl solution at different concentrations of ethanolic extract of *Ammi visnaga* at 298 K.

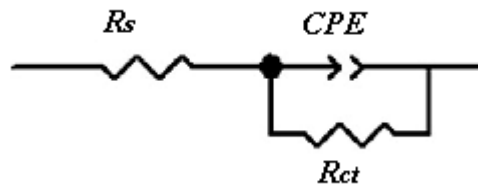


Fig.7. Equivalent circuit model used to fit the electrochemical impedance spectroscopy experiment data where R_s , R_{ct} and CPE represent respectively the solution resistance, the charge transfer resistance and the constant phase element.

Table 7. Electrochemical impedance parameters for mild steel in 1 M HCl solution in the absence and presence of different concentrations of ethanolic extract of *Ammi visnaga* at 298 K

| C_{inh} $g \cdot L^{-1}$ | R_s $\Omega \text{ cm}^2$ | R_{ct} $\Omega \text{ cm}^2$ | Q $\mu F \text{ cm}^{-2}$ | n | C_{dl} $\mu F \text{ cm}^{-2}$ | $\eta_{EIS}\%$ |
|-------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|--------|-------------------------------------|----------------|
| 1 M HCl | 1.10 ± 0.019 | 58.00 ± 0.78 | 373.30 ± 2.2 | 0.7672 | 118.00 | - |
| 0.05 | 2.21 ± 0.06 | 264.10 ± 0.41 | 99.38 ± 0.92 | 0.7765 | 224.20 | 78.03 |
| 0.10 | 2.17 ± 0.017 | 319.80 ± 1.25 | 78.51 ± 0.82 | 0.7859 | 172.80 | 81.86 |
| 0.20 | 2.47 ± 0.029 | 413.90 ± 4.70 | 50.93 ± 0.53 | 0.8038 | 108.60 | 85.98 |
| 0.30 | 2.63 ± 0.042 | 623.30 ± 6.80 | 43.53 ± 0.23 | 0.7835 | 85.14 | 90.69 |

The electrochemical impedance measurements in the presence of ethanolic extract of *Ammi visnaga* indicate the formation of a protective film at the interface of the metal. This film

formed by the presence of polyphenols (especially condensed tannins > flavonoïds), that could cover the steel surface and trap the antioxidant molecules chelating Fe^{2+} cations. The results show that ethanolic extract of *Ammi visnaga* is dominated by polyphenols especially condensed tannins and flavonoïds. Which have been studied as responsible the inhibition of corrosion for the plant *Rosmarinus officinalis* [51] and *Rhizophora apiculata* [52], respectively.

VII. Adsorption isotherm

The adsorption isotherm experiments are performed to have more insights into the mechanism of corrosion inhibition, since they describe the molecular interaction of inhibitor molecules with the active sites on the mild steel surface. The inhibitive action of ethanolic extract of *Ammi visnaga* toward the acid corrosion of steel could be attributed to the adsorption of its components onto the steel surface. The relation between (C_{inh}/θ) verses C_{inh} , is represented in Fig.8. A straight line is obtained with almost unity slope indicating that the adsorption process follows Langmuir adsorption isotherm with regression coefficient R^2 up to 0.999. This isotherm postulates that there is no interaction between the adsorbed molecules [22].

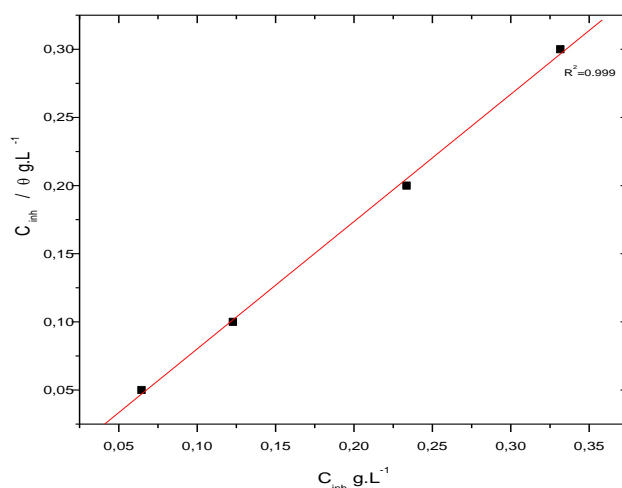


Fig.8. Langmuir adsorption isotherm ethanolic extract of *Ammi visnaga* on the mild steel surface

VIII. Conclusions

In this work it can be concluded that the phytochemical tests of the ethanolic extract of *Ammi visnaga* reveal the presence of flavonoïds, coumarins, steroids, terpenoids and condensed tannins. Quantitative analysis shows that this extract is rich in polyphenols

particularly condensed tannins and flavonoïds, which are responsible for the antioxidant activity. Also the ethanolic extract of *Ammi visnaga* ensures the inhibition of mild steel corrosion in 1 M HCl medium because of formation of a protective film. The polarization study shows that the ethanolic extract of *Ammi visnaga* acts as a mixed type inhibitor, while the electrochemical impedance spectroscopy results show that as the inhibitor concentration is increased, the charge transfer resistance rise and the double layer capacity decreases. The inhibition efficiency follows the same trend from the three understating gravimetric, potentiodynamic polarization (Tafel) as well as electrochemical impedance spectroscopy methods. The adsorption of ethanolic extract of *Ammi visnaga* obeys to Langmuir isotherm model.

REFERENCES

- [1] S. Cheng, S.Chen, T.Liu, X.Chang, and Y.Yin, *Electrochim Acta.* 52 (2007) 5932.
- [2] L. R. Chauhan, and G. Gunasekaran, *Corros. Sci.* 49 (2007) 1143.
- [3] A. Ostavari, S. M. Hoseinie, M. Peikari, S.R. Shadizadeh, and S. J. Hashemi, *Corros. Sci.* 51(2009) 1935.
- [4] P. C. Okafor, X.Liu, and Y. G. Zhen, *Corros. Sci.* 51 (2009) 761.
- [5] B. Zerga, A.Attayibat, M. Sfaira, M. Taleb, B. Hammouti, M. EbnTouhami, S. Radi, and Z.Rais, *J. Appl. Electrochem.* 40 (2010) 1575.
- [6] Y. Aouine, M. Sfaira, M. EbnTouhami, A. Alami, B. Hammouti, M. Elbakri, A.El Hallaoui, and R. Tourir, *Int. J. Electrochem. Sci.* 7 (2012) 5400.
- [7] Z. El Adnani, M.Mcharfi, M. Sfaira, M.Benzakour, A.T. Benjelloun, and M.Ebn Touhami, *Corros. Sci.* 68 (2013) 223.
- [8] K. Benbouya, B. Zerga, M. Sfaira, M.Taleb, M.EbnTouhami, B. Hammouti, H. Benzeid, And E.M.Essassi, *Int. J. Electrochem. Sci.* 7 (2012) 6313.
- [9] J.M. Roque, T. Pandiyan, J. Cruz, and E.García Ochoa, *Corros. Sci.* 50 (2008) 614.
- [10] W. Niouri, B.Zerga, M. Sfaira, M. Taleb, B. Hammouti, M. EbnTouhami, S.S. Al-Deyab, H.Benzeid, and El M.Essassi, *Int. J. Electrochem. Sci.* 7 (2012) 10190.
- [11] Sk.A. Ali, M.T.Saeed, and S.U.Rahman, *Corros. Sci.* 45 (2003) 253.
- [12] H. Shokry, M. Yuasa, I. Sekine, R. M. Issa, H. Y. El-Baradie, and G. K. Gomma, *Corros. Sci.* 40 (1998) 2173.
- [13] E. Machnikova, K.H. Whitmire, and N. Hackerman, *Electrochim. Acta.* 53 (2008) 6024.
- [14] A.Rauscher, G.Kutsan, and Z.Lukacs, *Corros. Sci.* 35 (1993) 1425.
- [15] S. Andreani, M. Znini, J. Paolini, L. Majidi, B. Hammouti, J. Costa, and A.Muselli, *J. Mater. Environ. Sci.* 7(2016) 187.

- [16] D. Ben Hmamou, R. Salghi, A. Zarrouk, B. Hammouti, S.S. Al-Deyab, Lh. Bazzi, H. Zarrok, A. Chakir, and L.Bammou, *Int. J. Electrochem. Sci.* 7 (2012)2361.
- [17] Divya G. Ladha, Poonam M. Wadhvani, Mohsin Y. Lone, Prakash C. Jha and Nisha K. Shah, *Anal. Bioanal. Electrochem.*7 (2015)59.
- [18] A. Keddad, A. Baaliouamer, and M. Hazzit, *J. Essent. Oil Bear. Plants.*19 (2016) 1243.
- [19] A. M .Beltagy, DM Beltagy, *J.Pharm.Sci. Res.*7(2015) 285.
- [20] S.Ramadan, *Hamdard.*25 (1982) 32.
- [21] H. L. Chakravarty, *Repub. Iraq.*(1976) 11.
- [22] A.Y. El-Etre, *Appl. Surf. Sci.* 252 (2006) 8521.
- [23] M.D. Judith, Thèse de doctorat en pharmacie de l'Université de BAMAKO. (2005) 57- 64.
- [24] N. Dohou, K. Yamni, S. Tahrouch, L.M. Idrissi Hassani, A. Badoc, and N. Gmira, *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux.*142 (2003) 61.
- [25] A. Diallo, Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université BAMAKO. (2005) 38.
- [26] E.K. Akkol, F.Göger, M. Koşar, K. H. Başer, *Food Chem.* 108 (2008) 942.
- [27] C.Quettier-Deleu , B.Gressier , J.Vasseur , T. Dine , C. Brunet , M .Luyckx , M. Cazin, J. C. Cazin, F.Bailleul, and F.Troten, *J.Ethnopharma.*72 (2000) 35.
- [28] R. B. Broadhurst, and W.T. Jones, *J. Sci.Food.Agr.* 48 (1978) 788.
- [29] K. Shimada, K. Fujikawa, K.Yahara, and T.J.Nakamura, *J.Agr. Food Chem.*40 (1992) 945.
- [30] P. Prieto, M. Pineda, and M. Aguilar, *Analy. Biochemi.* 269 (1999) 337.
- [31] N.AminJaradat, *IJPPR.*7 (2015) 137.
- [32] S. Keddari, N. Benaoum, Y. M. Boufadi, M. Belhocine, And A. Riazi, *Sou.Asia. J. Experim. Biol.*6 (2016) 70.
- [33] K. N. Soro, L. Sabri, S. Amalich, Y.Khabbal, and T. Zaïr, *Phytotherapie.* 13 (2015) 168.
- [34] L. Ben Mohamed Maoulainine, A. Jelassi, Imed Hassen and Ould Mohamed Salem Ould Boukhari, *Inter. Food.Resea. J.* 19 (2012) 1125.
- [35] R. Petlevski, D. Flajs, Z. Kaloderka, and M. Zovko Končić, *S. Afr. J. Bot.* 85 (2013) 17.
- [36] F. Medini, H. Fellah, R. Ksouri, Ch. Abdelly, J. Taib. *Univer. Sci.* 8 (2014) 216.
- [37] R. L. Prior, X. Wu, K.Schaich, *J. Agric. Food Chem.*53(2005) 4290.
- [38] K. Schlesier, M. Harwat, V. Böhm, and R. Bitsch, *Free Radic. Res.* 36 (2002) 177.
- [39] A. Mansouri, G. Embared, E. Kokkalou, and P. Kefalas, *Food Chem.* 89 (2005)411.
- [40] R. Amarowicz, R.B. Pegg, M. Rahimi, B. Barl, and J.A. Weil, *Food Chem.* 84 (2004)

551.

- [41] M. Skerget, P. Kotnik, M. Hadolin, A. R. Hras, M. Simonic, and Z. Knez, Food Chem. 89 (2005) 191.
- [42] K. Zhou, and L. Yu, LWT.Food Sci. Tech, 37 (2004) 717.
- [43] K. Ghedira, Phytothérapie4 (2005) 162.
- [44] P.Schofield, D.M. Mbugua, and A.N. Pell, Anim. Feed Sci. Tech.91(2001) 21.
- [45] N.A. Negm, Y.M. Elkholy, M.K. Zahran, and S.M. Tawfik, Corros. Sci. 52 (2010) 3523.
- [46] M. Ramananda Singh, J. Mater. Environ. Sci. 4 (2013) 119.
- [47] A. F. Gualdrón, E. N. Becerra, D.Y. Peña, J. C. Gutiérrez, and H. Q. Becerra, J. Mater. Environ. Sci. 4 (2013) 143.
- [48] R. Rosliza, W.B. Wan Nik, and H.B. Senin, Mater. Chem.Phys. 107 (2008) 281.
- [49] K. Juttner, Electrochim. Acta.35 (1990) 1501.
- [50] F. Deflorain, V.B. Miscovic-Stankovic, P.L. Bonora, and L. Fedrizzi, Corrosion. 50 (1994) 446.
- [51] M. A. Velázquez-González, Americ, J.Analy.Chem. 5 (2014) 55.
- [52] Kang Wei Tan, and M. Jain Kassim, Corros. Sci. 53 (2011) 569.

Copyright © 2018 by CEE (Center of Excellence in Electrochemistry) ANALYTICAL & BIOANALYTICAL ELECTROCHEMISTRY (<http://www.abechem.com>) Reproduction is permitted for noncommercial purposes.

Int. J. Electrochem. Sci., 14 (2019) 6376–6393, doi: 10.20964/2019.07.02

Influence of phenolic compounds on antioxidant and anticorrosion activities of *Ammi visnaga* extracts obtained ultrasonically in three solvent systems

S. Aourabi^{1,2,*}, *M. Driouch*², *M. Sfaira*², *F. Mahjoubi*¹, *B. Hammouti*³, *K.M.Emran*^{4,*}

¹Laboratoire de Génie des Matériaux et Environnement, Faculté des Sciences, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah (USMBA), B.P. 1796-30000, Fès-Atlas, Morocco.

²Laboratoire d'Ingénierie des Matériaux, de Modélisation et d'Environnement. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah (USMBA), Faculté des Sciences B.P. 1796-30000, Fès-Atlas, Morocco.

³Laboratoire de la chimie appliquée et d'environnement, Faculté des sciences, Université Mohammed Premier, BP 4808 Oujda, Morocco.

⁴ Department of Chemistry, College of Science, Taibah University, Al-Madinah Al-Monawarah, PO Box 4050, Saudi Arabia

*E-mail: kabdalsamad@taibahu.edu.sa & sarra.aourabi@gmail.com

Received: 15 February 2019/Accepted: 23 April 2019 /Published: 10 June 2019

Abstract

The purpose of this research was to study the correlation between phenolic compounds and antioxidant as well as anticorrosive activities of different extracts of *Ammi visnaga*. The antioxidant capacity was evaluated by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH^{*}). The phenolic compounds, namely, total phenol content (TPC), total flavonoids content (TFC), and condensed tannins (CT), were determined by Folin–Ciocalteu, Quettier–Deleu, and Broadhurst methods, respectively. In addition, the inhibiting effect of different extracts of *Ammi visnaga* on mild steel in 1 M HCl solution was investigated by potentiodynamic polarization (PP) and electrochemical impedance spectroscopy (EIS). The obtained results revealed that the mixed aqueous extract had a high level of phenolic compounds when compared with pure solvents. Hydroalcoholic extract had the highest radical trapping capacity ($IC_{50} = 1.7$ mg/mL) compared with standard butylated hydroxy toluene (BHT) ($IC_{50}=0.2$ mg/mL). The PP tests showed that the extracts act as mixed inhibitors, whereas EIS measurements indicated that action inhibition of mild steel can be explained by the adsorption of active compounds at the metal surface. The trends between condensed tannins and antioxidant activity, as well as the inhibition efficiency derived from Tafel plots and EIS, were revealed, respectively.

Keywords: *Ammi visnaga* extract; TPC; TFC; condensed tannins; antioxidant activity; corrosion inhibition.

I. Introduction

Ammi visnaga is a perennial plant belonging to the umbelliferae (Apiaceae) family. It is widely distributed in North Africa, Europe, the Eastern Mediterranean region, southwestern Asia, North America, Argentina, Chile, Mexico, and Atlantic islands [1]. The main active constituents of this genus are coumarin and its derivatives, flavonoids, and furanochromone [2]. All flavonoids described in *Ammi* species can be classified into flavonols (quercetin, kaempferol, and isorhamnetin) and flavones (apigenin, luteolin, and chrysoeriol). These types of flavonoids have been shown to be powerful antioxidants and free radical scavengers [3-5].

The content of these compounds in dried fruits varies widely according to genetic factors and environmental conditions [6]. The yield of phenolic compounds in the extract depends on several factors: type of solvent, extraction method, extraction time, temperature, composition, as well as physical characteristics of the sample, such as texture [7].

Several different methods are available and have been used to assess the antioxidant activity of plant extracts, including the 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) diammonium salt (ABTS) assay [8], the total antioxidant capacity (TAC), the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH^{*}) test [9], and the ferric-reducing antioxidant power (FRAP) assay [10].

Previous studies [9, 8, 11] have used only one assay method to assess the total antioxidant activity of plant extracts. In the present study, we evaluated the antioxidant activity of different extracts by DPPH^{*} assays. The DPPH^{*} method is preferred because it is fast, stable, easy, reliable, and does not require a special reaction and device.

On the other hand, several studies have investigated mild steel corrosion in acidic environments because of its many applications in the industrial field. However, its susceptibility to rusting in humid air as well as its high dissolution rate in acidic solutions is the major obstacles for its use on a larger scale without protection.

Electrochemical corrosion is generally caused by the potentials between the metal and a strong acid. The aggressiveness of hydrogen ions and dissolved oxygen are referred to natural motors of corrosion [12, 13]. Due to this problem, corrosion inhibitors are required. Indeed, many synthetic compounds have been studied as corrosion inhibitors [14-16], which offer good anticorrosive action, but most of them risk being highly toxic to both humans and the environment.

In the last decade, researchers have evaluated the use of ecofriendly compounds, as green corrosion inhibitors, of mild steels to replace toxic chemicals currently in use. Indeed, several studies have been carried out on corrosion inhibition by using essential oils [17, 18] and plant extracts [19-23]. All of them have been reported to be good inhibitors for various metals and alloys in different acidic media.

The focus of this work is to study the correlation between phenolic compounds of different extracts of *Ammi visnaga* and their antioxidant and corrosion inhibition properties. Furthermore, the impact of solvents, namely, water, ethanol, and ethanol/water, is also taken into account. Corrosion behavior is evaluated by potentiodynamic polarization (PP) and electrochemical impedance spectroscopy (EIS).

II. Experimental part

II.1. Vegetal material and extraction

Ammi visnaga was collected from the Taounate region of Morocco in July 2017. The botanical identification of the species was carried out in the Laboratory of Biotechnology and Preservation of Natural Resources (BPNR), Sidi Mohamed Ben Abdellah University, Fez, Morocco. The extracts were obtained ultrasonically, mixing the dry powder with different solvents (water, ethanol, and ethanol/water) for 45 min at 308 K. The extracts were filtered and concentrated under reduced pressure.

II.2. Screening phytochemical analysis

The qualitative phytochemistry of the dry extract was achieved by colorimetric reactions and precipitation by specific chemical reagents according to the protocols given in the literature [24-26]. These tests revealed the presence of a number of compound groups of the three extracts.

II.3. Determination of total phenol content (TPC)

The TPC of the extracts was investigated by the Folin–Ciocalteu method [27]. This method provided the total polyphenolic content of a given sample. The plant extract (100 μ L), suitably diluted, was introduced into a test tube initially containing 6 mL of distilled water, then 500 μ L of the Folin reagent was added and the mixture was stirred. After 5 min, a solution of 20% Na_2CO_3 (1.5 mL) was added while stirring.

The solution was adapted to 10 mL with distilled water. The absorbance of the sample was measured at 760 nm against water using a spectrophotometer UV–Visible kind Selecta after 2 h of incubation at room temperature. A calibration curve at different concentrations of gallic acid was plotted. The total phenol content in the extract was expressed by mg EGA/g of extract.

II.4. Determination of total flavonoids content (TFC)

The total flavonoids content of various extracts of *Ammi visnaga* was determined by the Quettier–Deleu method [28]. The method consists of mixing 1 mL of the extract with an equal volume of a solution of AlCl₃, 6H₂O (2 %). After 10 mn, the absorbance of the mixture was measured at 430 nm. The quantification of flavonoids was determined based on a linear calibration curve performed by quercetin at different concentrations. The results were expressed in milligrams equivalent to quercetin per gram of extract (mg EQ/g of extract).

II.5. Determination of condensed tannins (CT)

Condensed tannins (proanthocyanidins) were determined according to the Sun method [29], with a slight modification. Four hundred micro-liters of extract were added to 1.5 mL of concentrated hydrochloric acid and 3 mL of a solution of vanillin (4% in methanol). After 15 min of incubation at room temperature, the absorbance was measured at 500 nm against methanol as a blank. The amount of total condensed tannins was expressed in milligrams equivalent to catechin per gram of extract.

II.6. Antioxidant activity determined by DPPH[•]

The antioxidant activity of the extract was evaluated by measuring the capacity of the antioxidant to reduce the DPPH[•] radical to 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazine (DPPH-H), followed by the change from a violet (DPPH[•]) to a yellow (DPPH-H) color as shown in Fig. 1, according to the method described by [30]. Indeed, 2 mL of various concentrations of the extracts (0.125–1 mg/mL) was combined with 0.5 mL of a methanolic solution of 1 mM DPPH[•]. After the incubation period of 30 min, at 25 °C, the absorbance was measured with a white made from methanol at 517 nm. The standards used were ascorbic acid and butylated hydroxy toluene (BHT) (0.125–1 mg/mL). Trials were performed to verify reproducibility. The results were expressed as percent inhibition (% inhibition) calculated according to Equation (1):

$$\% \text{Inhibition} = \frac{A_B - A_S}{A_S} \times 100 \quad (1)$$

where A_B is the absorbance of the control and A_S is the absorbance of the sample.

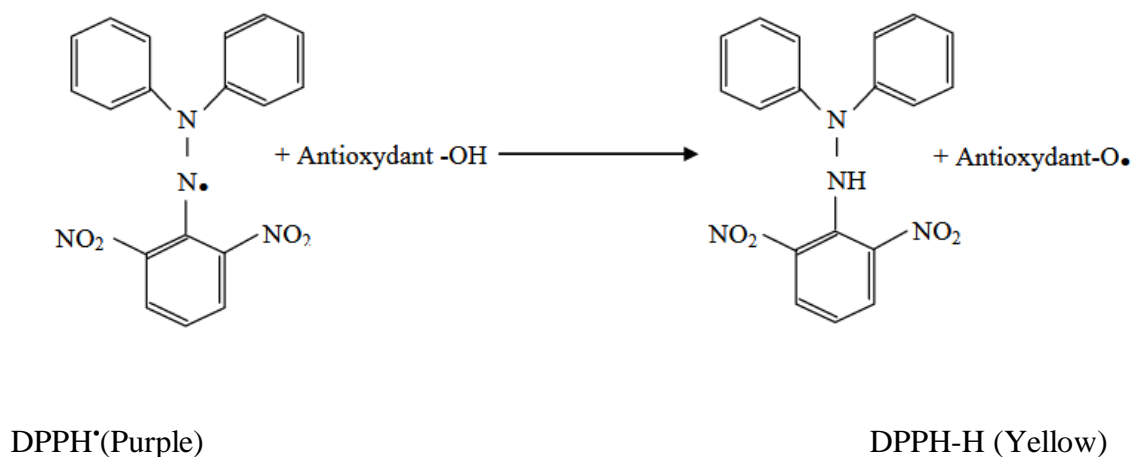


Figure 1. Reduction of DPPH• to DPPH-H.

The antioxidant activity was expressed by IC_{50} , which is the antiradical concentration required to cause 50% of inhibition.

II.7. Electrochemical test

The chemical composition of the mild steel was (in wt%) 0.11% C, 0.24% Si, 0.47% Mn, 0.12% Cr, 0.02% Mo, 0.1% Ni, 0.03% Al, 0.14% Cu, 0.06% W, 98.7% Fe, <0.001% Co, and <0.003% V. The steel samples were pretreated by grinding with abrasive paper, rinsed with distilled water, degreased in acetone, washed again with bi-distilled water, and then dried at room temperature before use. The acid solution (1 M HCl) was prepared by dilution of an analytical reagent grade 37 % HCl with doubly distilled water. The concentrations of different inhibitors were prepared with 1 M HCl addition.

Electrochemical measurements were carried out in a conventional three-electrode glass cell, conducted by a Bio-Logic potentiostat, and controlled with analysis software (Ec-Lab software V5.52). The working electrode was used as a rectangular specimen of mild steel with a surface area of 1 cm². Ag/AgCl (3 M KCl) was used as a reference electrode and a rectangular platinum foil was used as a counter electrode. The working electrode was immersed in 50 mL of the test solution during 30 min in open circuit potential (E_{ocp}) to obtain a stable potential.

The potentiodynamic polarization for mild steel in the test solution in the absence or presence of various extract inhibitions were recorded from -900 to -100 mV with a scanning rate of 1 mV s⁻¹. The corrosion parameters, such as cathodic Tafel slope (β_c), corrosion current density (i_{corr}), and corrosion potential (E_{corr}), were evaluated by using Ec-Lab software.

Impedance spectra were recorded in the frequency range from 100 kHz to 100 mHz with 10 points per decade at 308 K at an alternating current amplitude of ± 10 mV ac voltage peak to peak. The impedance spectra, given in both Nyquist and Bode representations, were analyzed in terms of an appropriate equivalent electrical circuit implemented in Ec-Lab software. All experiments were repeated three times.

III. Results and discussion

III.1. Extraction yield of various extracts of *Ammi visnaga*

The ultrasonic extraction efficiency results derived from three solvents are given in Table 1. The results of the ultrasonic extraction yield of different extracts of *Ammi visnaga* showed that the hydroalcoholic extract gave the highest value of 16.24 %, followed by the aqueous extract, which gave a yield of 12.35 %. Thus, the use of mixed solvents led to high enrichment of extracts with polyphenols [31]. The superiority of these solvents could be due to the increased solubility of phenolic compounds in mixed solvents when compared with pure solvents [32, 33].

Table 1. Solvent effects on the extraction yield of *Ammi visnaga*.

| Solvent | Solvent polarity* | Extraction yield (%) |
|--|-------------------|----------------------|
| Water | 10.2 | 12.35 |
| Ethanol | 5.2 | 9.12 |
| Hydroalcoholic (70:30 v/v Ethanol-Water) | 6.7 | 16.24 |

* The solvent mixture indexes were calculated from the equation $\left(\frac{I_w}{100} \times P_w\right) + \left(\frac{I_E}{100} \times P_E\right)$, where I_w and I_E are the polarity indexes of the solvents water and ethanol, respectively, and P_w and P_E are the percentage of solvents water and ethanol, respectively, in the solvent mixture [7].

The results showed that those phenolic molecules were more soluble in polar solvents than in non polar solvents. A considerable rise in extract yield was observed by the combination of water and an organic solvent system. The yield was more important with a solvent mixture compared with the solvents taken separately. Indeed, phenolic compounds are highly soluble in a mixture of organic and polar (water) solvents. Similar results were obtained by Ammor and Aourabi [34, 35], and the extraction yield of the hydroalcoholic and ethanolic extract of *Ammi visnaga* obtained by Soxhlet gave values of 23.40 % and 23.35 %, respectively. The extracts obtained by ultrasonic extraction had low yields compared with those obtained by Soxhlet; this can be explained by the heating applied

during the operation (Soxhlet) as well as the long extraction time. Hence, the extraction method as well as the type of solvent significantly influenced the extraction efficiency.

III.2. Screening phytochemical analysis

According to Table 2, the screening phytochemical carried out on the various extracts of *Ammi visnaga* showed the presence of condensed tannins, flavonoids, and coumarins in all extracts. Alkaloids appeared only in aqueous and hydroalcoholic extracts. However, anthocyanins, leucoanthocyanins, cardiac glycosides, monosaccharides, and holosides were absent in all three extracts.

Table 2. Screening phytochemical of three extracts of *Ammi visnaga*.

| Chemical constituent | | Hydroalcoholic | Aqueous | Ethanollic | |
|-------------------------------|------------|------------------|---------|------------|---|
| Polyphenols | Tannins | Total tannins | + | + | + |
| | | Gallic tannins | - | - | - |
| | | Catechin tannins | + | + | + |
| | Flavonoids | Flavonols | + | + | + |
| | | Anthocyanes | - | - | - |
| | | Leucoanthocyanes | - | - | - |
| Alcaloids | | + | - | + | |
| Mucilage | | - | - | - | |
| Saponosids | | - | - | - | |
| Coumarins | | + | + | + | |
| Cardiac glycosides | | - | - | - | |
| Monosaccharides and holosides | | - | - | - | |

+: presence and -: absence

III.3. Determination of TPC

The phenolic content in different samples was influenced by the polarity of the solvent as well as the solubility of these compounds in the solvent used for extraction [34, 36]. The TPC values were obtained from the calibration curve equation (2):

$$Y = 0.564x + 0.176 \quad R^2 = 0.997 \quad (2)$$

where Y is the absorbance and x is the concentration of the gallic acid solution (mg/mL).

The TPC values in different extracts of *Ammi visnaga* are shown in Table 3. The TPC values of the extracts varied from 69 to 110 mg EGA/g extract. The TPC extracted by the various solvents can be classified in descending order: hydroalcoholic > ethanolic > aqueous. These results indicate that 70 % of ethanol produced a greater phenolic yield than the other selected solvents. It should be noted that there was a trend between TPC and extraction efficiency, with the exception of the solvent ethanol, which gave a relatively high TPC value compared to its extraction capacity.

III.4. Determination of TFC

The content of flavonoids was determined by colorimetric reactions and the results are reported in Table 3. The TFC of the extracts ranged from 18 to 34 mg of EQ/g extract in descending order: hydroalcoholic > ethanolic > aqueous. The TFC values were lower than the TPC values, which is logical because flavonoids are subclasses of polyphenolic compounds.

The obtained results were superior to those reported in reference [34] because the content of phenolic compounds varied by the extraction method according to [37]. The extraction of phenolic compounds by the combination of alcohol and water was more efficient when compared with extraction by a single solvent [38], and the present results were in agreement with those found by [39, 40].

III.5. Determination of CT

Tannins can be classified into two groups, namely, hydrolysable and condensed tannins [41]. As seen in Table 3, the extracts had a high CT content, ranging from 20 to 65 mg of catechin/g extract. The results showed that the hydroalcoholic extract was characterized by a higher content of CT followed by ethanolic and aqueous extracts.

Table 3. Contents of TPC, TFC, and CT in different extracts of *Ammi visnaga*.

| Extract | TPC (mg EGA/g extract) | TFC (mg EQ/g extract) | CT (mg catechin/g extract) |
|----------------|------------------------------|--------------------------|----------------------------------|
| Aqueous | 69.33±0.08 | 18.60±0.04 | 20.00±0.09 |
| Ethanollic | 77.09±0.02 | 22.51±0.01 | 44.30±0.02 |
| Hydroalcoholic | 110.02±0.02 | 34.50±0.09 | 65.20±0.24 |

* Data are expressed as means ± standard deviation of triplicate samples

III.6. Determination of antioxidant activity by the DPPH[•] method

The antioxidant activities of extracts depend on the ability of antioxidant compounds to lose hydrogen [42, 43]. The DPPH[•] free radical, which is at its maximum wavelength of 517 nm, can easily receive an electron or hydrogen from antioxidant molecules to become a stable diamagnetic molecule [44].

The free radical scavenging effects of different concentrations of aqueous, ethanolic, and hydroalcoholic extracts of *Ammi visnaga* along with BHT and ascorbic acid are reported in Figure 2. The antioxidant activity of the extracts was compared to BHT and ascorbic acid as synthetic antioxidants.

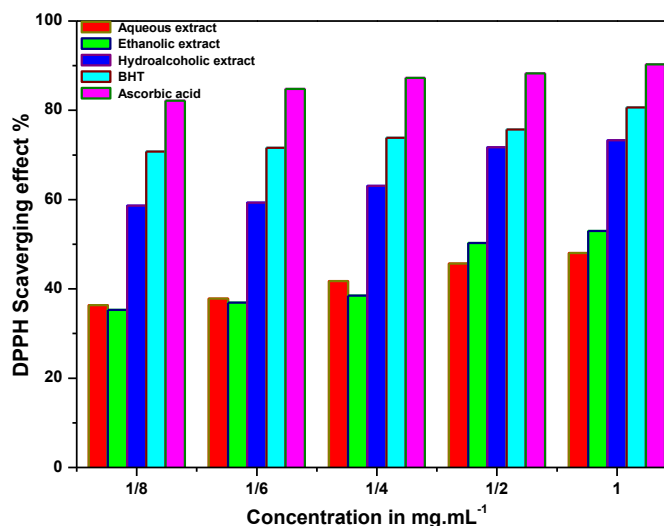


Figure 2. Antioxidant capacity of different extracts of *Ammi visnaga* and reference standard by the DPPH[•] method

It can be seen from Fig. 2 that for concentrations of 1, 1/2, and 1/4 mg/mL, the percentage of DPPH[•] scavenging effects of the aqueous extract decreased, under the present experimental conditions, till 48.6 %, 45.1 %, and 41.7 %, respectively. The ethanolic

extract decreased until 52.23 %, 50.42 %, and 38.34 %, respectively, and for the hydroalcoholic extract, the decrease was as high as 73.28 %, 71.70 %, and 63.04 % when compared with BHT with the corresponding values of 80.62 %, 75.72 %, and 73.83 %, as well as for the ascorbic acid with 90.30 %, 88.27 %, and 87.23 %. A similar tendency was registered for 1/6 and 1/8 mg/mL.

As shown in Table 4, the IC_{50} found in this study for the hydroalcoholic extract of *Ammi visnaga* was as high as 1.7 mg/mL, followed by the ethanolic extract with 2.4 mg/mL, whereas 3.05 is obtained for the aqueous extract when compared to 0.24 and 0.19 mg/mL for BHT and ascorbic acid, respectively. The high capacity of the hydroalcoholic extract to trap free radicals could be attributed to the presence of a high polyphenol content according to [45,46].

The present results were in agreement with other researchers [34,40]. From this investigation, it can therefore be concluded that the antioxidant activity of the extract was closely dependent on the selected solvent [47].

Table 4. Comparison of antioxidant properties of different extracts of *Ammi visnaga* and reference standard.

| Extract | IC_{50} (mg mL ⁻¹) |
|-----------------------|----------------------------------|
| Aqueous | 3.05 |
| Ethanolic | 2.40 |
| Hydroalcoholic | 1.70 |
| BHT | 0.24 |
| Ascorbic acid | 0.19 |

III.7. Correlation between antioxidant activity and phenolic compounds

Figure 3 exemplifies the relationship between antioxidant activity IC_{50} and TPC, TFC, and CT measured in various extracts of *Ammi visnaga*. It can obviously be seen that there was a linear correlation between the antioxidant activity determined by the DPPH[•] method and phenolic compounds with the following determination coefficients:

$R^2 = 0.9001, 0.9319, \text{ and } 0.9958$, respectively. Besides, a strong correlation appeared with condensed tannins, referring only to R^2 . Similar results were found by [44] with a good trend between the total phenol profile and the antioxidant activity of the plant extracts, suggesting that phenolic compounds are responsible for the antioxidant activity of those extracts.

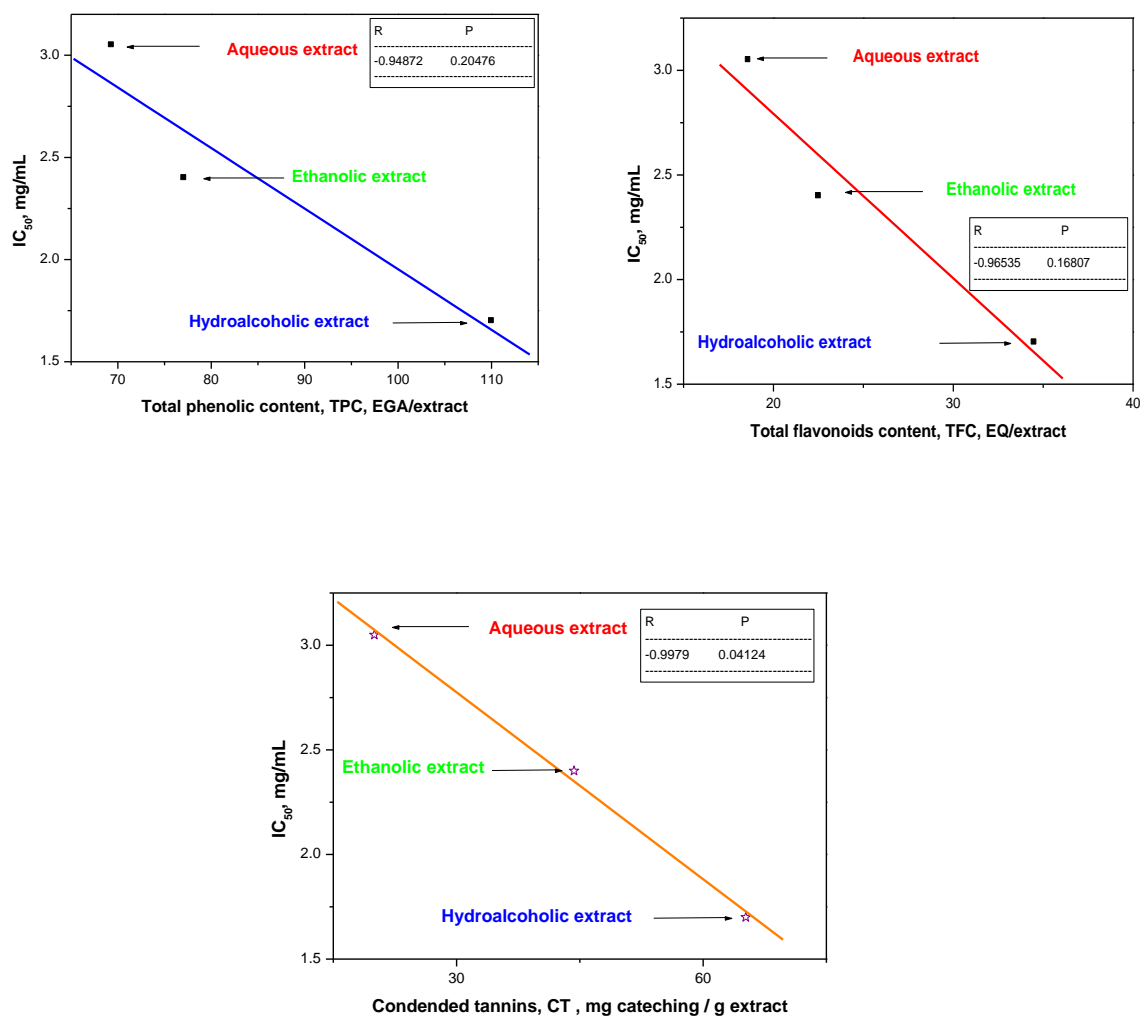


Figure 3. Correlation between IC_{50} and TFC, CT and TPC of different extracts of *Ammi visnaga*

However, our perception of the analysis of these results must in no way be based on the simple data of R^2 but also on the basis of p -values. Indeed, the different values obtained were 20.47 %, 16.80 %, and 4.12 % for TPC, TFC, and CT, respectively (cf. Figure 3). Following these results, it thus appears clearly that the p -values exceeded by far the 5 % tolerated, so that a model was retained as a linear regression model except for the case of CT. Thus, the quality of the model reflecting the linear dependence between IC_{50} and CT was the best and those corresponding to TPC and TFC were rejected, notwithstanding the higher values of R^2 .

III.8. Anticorrosion activity

III.8.1. PP measurements

PP measurements were made at 308 K after 30 min of immersion at open circuit potential in the presence or absence of 0.01 g L^{-1} of various *Ammi visnaga* extracts in order to

acquire information on the kinetics of anodic and cathodic reactions. Fig. 4 illustrates the current–potential characteristics of mild steel in 1 M HCl solution. The choice of this concentration was dictated by the maximum of inhibition efficiency when compared with the other explored concentrations (not reported here).

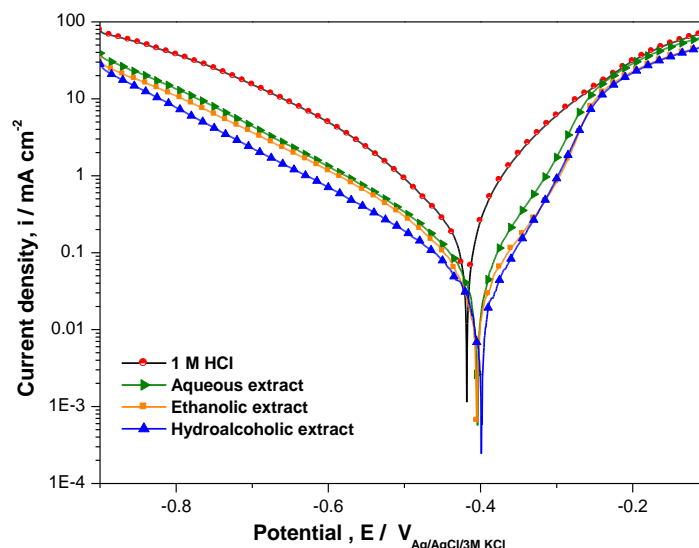


Figure 4. Steady-state polarization curves for mild steel in 1 M HCl in the absence or presence of 0.01 g L^{-1} of different extracts of *Ammi visnaga*

Figure 4 shows that the addition of different extracts of *Ammi visnaga* in the acid solution reduced the anode and cathode branches compared with the control solution. This indicates that both the hydrogen reduction reactions and the dissolution of the metal were slowed down. Besides, the cathodic active sites of mild steel can be covered by phenolic molecules at 0.01 g L^{-1} with *Ammi visnaga* extracts. According to Figure 4, the cathodic curves showed Tafel behavior, which shows that the mechanism for reducing H^+ ions at the cathode surface sites of mild steel is through a charge transfer mechanism.

The cathodic branch of the polarization curves for the three extracts of *Ammi visnaga* was shifted, indicating that the chemical constituents of the extracts had a separate effect on the cathodic process. In addition, the different extracts affected the anodic branch at different degrees, indicating that their inhibitive effect depended on the type of solvent only at over potential lower than -0.3 V vs. Ag/AgCl , 3 M KCl . The anodic shift for steel in the presence of different extracts was in the following order: hydroalcoholic > ethanolic > aqueous.

The electrochemical parameters, such as corrosion current density i_{corr} , corrosion potential E_{corr} , cathodic Tafel slope β_c , and inhibition efficiency η_{PP} % are given in Table 5. Inhibition efficiency η_{PP} % was calculated from the corrosion current density values according to Equation (3):

$$\eta_{PP} \% = \frac{i_{corr} - i_{corr}^{inh}}{i_{corr}} \times 100 \quad (3)$$

where i_{corr} and i_{corr}^{inh} are the corrosion current densities of mild steel in the absence or presence of different extracts of *Ammi visnaga*, respectively.

Table 5. Electrochemical parameters of mild steel in 1M HCl solution without and with different extracts of *Ammi visnaga*.

| $C_{inh} = 0.01 \text{ g L}^{-1}$ | E_{corr} | i_{corr} | $ \beta_c $ | $\eta_{PP} \%$ |
|-----------------------------------|--------------------------------|-----------------------|----------------------|----------------|
| | mV _{Ag/AgCl, 3 M KCl} | $\mu\text{A cm}^{-2}$ | mV dec ⁻¹ | |
| 1 M HCl | -416.236 | 337.06 | 159.4 | - |
| Aqueous | -404.293 | 91.20 | 166.4 | 72.94 |
| Ethanolic | -404.907 | 79.12 | 163.9 | 76.52 |
| Hydroalcoholic | -399.466 | 49.81 | 172.1 | 85.22 |

The analysis of Table 5 shows that corrosion current densities decreased considerably with the addition of different extracts of *Ammi visnaga*. As a result, the hydroalcoholic extract gave the highest inhibitory efficacy of 85.22 % when compared with ethanolic extract (76.52 %) and aqueous (72.94 %). These results suggest that the protective adsorption film formed onto the surface of mild steel tended to be increasingly high and stable with the addition of the hydroalcoholic extract. The addition of different inhibitors caused a slight shift in corrosion potential compared with that without an inhibitor. In this study, the corrosion potential moved anodically between 12 and 17 mV compared with the solution without an inhibitor. Based on literature reports, if the displacement of corrosion potential is greater than 85 mV, the inhibitor can be considered as a cathodic or anodic type inhibitor, while when the displacement is less than 85 mV, the inhibitor can be classified as a mixed type inhibitor [49]. Accordingly, the obtained results revealed that the extracts here acted as mixed-type inhibitors.

III.8.2. EIS measurements

The EIS measurements were performed to obtain information on the elementary steps that make up the overall electrochemical process. Fig.5 shows the Nyquist diagrams after 30

minutes of immersion of the mild steel in an acid medium at an open circuit in the presence or absence of the various extracts of *Ammi visnaga*. The impedance diagrams were performed over the frequency range of 100 kHz to 100 mHz. The recorded EIS spectra for mild steel in 1 M HCl at 308K showed one depressed capacitive loop.

A similar trend (a capacitive loop) was also noticed for mild steel immersed in 1 M HCl containing 0.01 gL^{-1} of different extracts. Further, the above impedance diagrams were in the form of a depressed semicircle, the center of which was located under the real axis, showing that the overall corrosion process was controlled by the charge transfer step. Such behavior is characteristic of solid electrodes and is generally ascribed to Cole–Cole [50, 51] and/or Cole–Davidson [52] representations inherent to frequency dispersion. This phenomenon is generally attributed to different physical processes such as the non-homogeneity of the electrode surface or its roughness during the corrosion process, adsorption of inhibitors, and formation of porous layers [49].

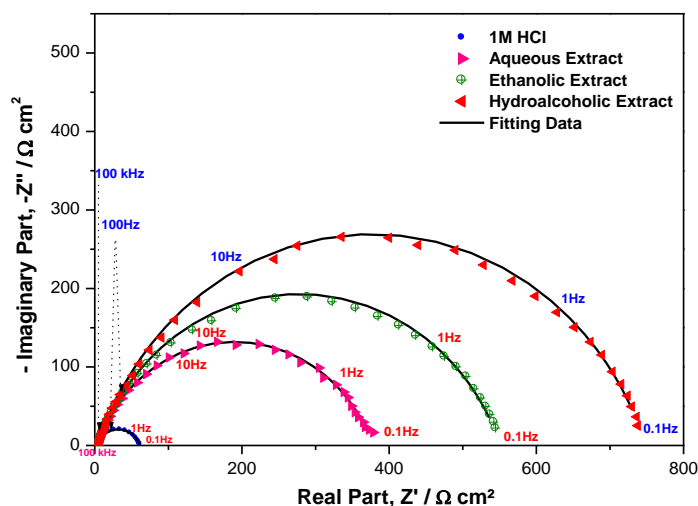


Figure 5. Nyquist diagrams of mild steel in 1 M HCl in the absence or presence of different extracts of *Ammi visnaga*.

Fig. 5 shows that the diameter of R_{ct} increased after the addition of different extracts to the corrosive solution [50]. This increase became more and more pronounced with addition of hydroalcoholic extract, which indicates more adsorption of phenolic compounds on the metal surface when compared with ethanolic and aqueous extracts, respectively.

In order to confirm the proposed mechanism, it would be very practical to draw Bode diagrams that explicitly show frequency information at high frequencies. The mild steel

Bode diagrams, which were obtained in a 1 M HCl solution with or without different extracts of *Ammi visnaga*, are given in Fig. 6.

The Bode diagram presented in the Fig.6 is characterized by the presence of a single oblique slope, a single time constant, and a single maximum in the intermediate frequencies on the diagrams ($\log f - \log |Z|$) and ($\log f - \varphi$), respectively, which proves that corrosion in 1 M HCl mild steel solution was mainly controlled by a charge transfer process ($R_P = R_{ct}$) [49].

A detailed analysis of the ($\log f - \log |Z|$) and ($\log f - \varphi$) on mild steel indicated the existence of three main regions. In the first one (1), at high frequencies ranging from 4 to 100 kHz, the impedance modulus $|Z|$ as well as the phase angle φ were very low, corresponding to an ohmic resistance R_s of the electrolytic solution (1 M HCl) between the working and reference electrodes. The second region (2), between 3 Hz to 4 kHz, showed a linear dependence of $\log|Z| - \log f$ with a slope, $\partial(\log|Z|) / (\partial \log f)$, and a phase angle φ far from -1° and 90° , respectively, reflecting then a non-ideal condenser [53-55] corresponding to the capacitance of the mild steel/solution interface (in the absence or presence of different extracts of *Ammi visnaga* in the solution). For region (3), corresponding to low frequencies (from 0.1 to 3 Hz), the impedance modulus $|Z|$ was again practically independent of frequency and was accompanied by an abrupt decrease of the phase angle $\varphi \rightarrow 0$. Thus, the impedance modulus $|Z|$ in this region corresponded to the sum of the charge transfer and the electrolytic resistance ($|Z| = R_{ct} + R_s$). Evidently, regions 1 and 3 showed typical ohmic behavior, with $|Z_1| = R_s$ and $|Z_3| = R_{ct} + R_s$, respectively.

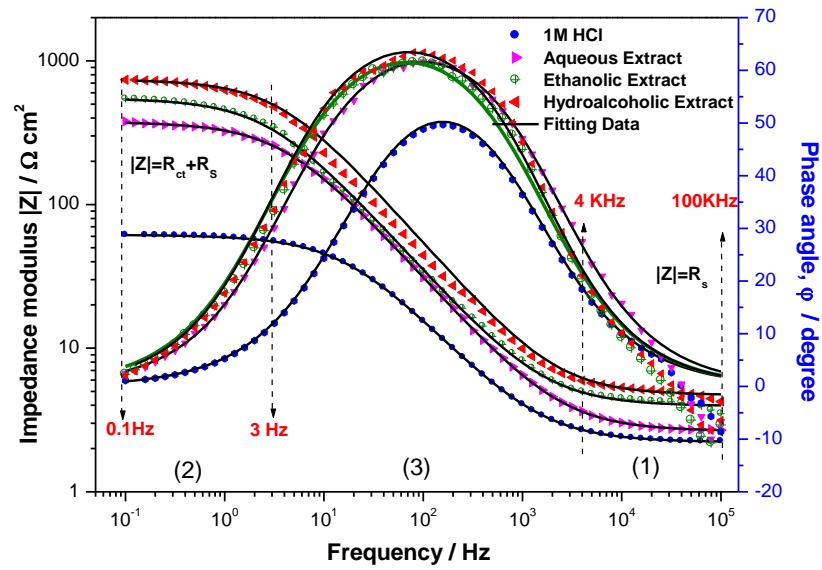


Figure 6. Bode diagrams for mild steel in 1 M HCl solution at different extracts of *Ammi visnaga* at 308K.

Based on the analysis of the Nyquist and Bode diagrams, the simulations of impedance diagrams with the modified Randles model containing a constant phase element *CPE*, instead of a double layer capacitance in parallel to the load transfer resistance R_{ct} , were all in a series with another resistance corresponding to the resistance of the electrolyte solution R_s , which showed excellent agreement with the experimental data. This equivalent circuit proposed for the studied interface is represented in Fig. 7.

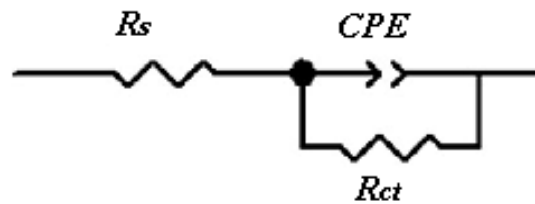


Figure7. Equivalent circuit model.

The impedance of *CPE* is defined by the mathematical expression [45,51] given in Equation (4):

$$Z_{CPE} = \frac{1}{Q(j\omega)^n} = \frac{1}{Q \times \omega^n} e^{\left(\frac{-j \times \pi \times n}{2}\right)} = \frac{1}{Q \times \omega^n} \left(\cos\left(\frac{\pi \times n}{2}\right) - j \times \sin\left(\frac{\pi \times n}{2}\right) \right) \quad (4)$$

where Q is a proportional factor (in $\mu F s^{n-1} cm^{-2}$), j is an imaginary number with $j^2 = -1$, n is an exponent related to the phase shift, ω is the angular frequency in rad^{-1} ($\omega_{max} = 2 \times \pi \times f_{max}$), and f_{max} is the frequency of which the imaginary component of the impedance is maximal.

The double layer pseudo capacitance C_{dl} was calculated by Equation (5) according to [49,54]:

$$C_{dl} = (Q \times R_{ct}^{1-n})^{1/n} \quad (5)$$

The R_{ct} was used to calculate the inhibition efficiency $\eta_{EIS} \%$ of different extracts of *Ammi visnaga*, given by Equation (6):

$$\eta_{SIE} \% = \frac{R_{tc}^{inh} - R_{tc}}{R_{tc}^{inh}} \times 100 \quad (6)$$

where R_{ct} and R_{ct}^{inh} are the charge transfer resistances without or with different extracts of *Ammi visnaga*, respectively.

The various calculated parameters, such as R_{ct} , C_{dl} , n , R_s , Q , χ^2 , and $\eta_{EIS} \%$, are shown in Table 6. The χ^2 , given in Equation 7, used in this method is defined as follows [49]:

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^n \frac{|Z_{meas}(i) - Z_{mod\ el}(f_i, param)|^2}{D_i^2} \quad (7)$$

where $Z_{meas}(i)$ is the measured impedance at the f_i frequency, $Z_{mod\ el}(f_i, param)$ is a function of the chosen model, $param$ is the model parameter (R_s, R_{ct}, Q), and D_i is the standard deviation. Estimates of the margins of error calculated for some parameters are also reported in Table 6.

Table 6. Impedance parameters of mild steel in 1 M HCl in the absence or presence of 0.01 gL⁻¹ of different extracts of *Ammi visnaga*.

| C_{inh} g L ⁻¹ | R_s $\Omega\text{ cm}^2$ | R_{ct} $\Omega\text{ cm}^2$ | C_{dl} $\mu\text{F cm}^{-2}$ | Q $\mu\text{F s}^{n-1}\text{ cm}^{-2}$ | n | χ^2 | η_{EIS} % |
|--------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|---|--------|----------|-------------------|
| Blank | 1.1 ±0.23 | 58.00±0.37 | 118.0 | 373.3±2.2 | 0.7672 | 0.011 | - |
| Aqueous | 2.63±0.21 | 374.80±0.31 | 103.8 | 211.3±9.1 | 0.7812 | 0.001 | 84.52 |
| Ethanolic | 3.93±0.27 | 547.30±0.47 | 100.8 | 189.6±5.3 | 0.7819 | 0.003 | 89.40 |
| Hydroalcoholic | 4.7 ±0.11 | 738.71±0.56 | 72.7 | 130.1±1.7 | 0.7986 | 0.006 | 92.14 |

* Data are expressed as means ± standard deviation of fitting data

Table 6 shows that the quality of fitting to the equivalent circuit was judged by the chi-squared value χ^2 [56]. The corresponding values (0.011–0.001), reported in Table 6, demonstrate the good quality fitting with the proposed circuit.

Inspection of the impedance data corresponding to the three extracts reported in Table 6 revealed that the R_{ct} of the mild steel increased considerably after the addition of 0.01 gL⁻¹ of different extracts (aqueous, ethanolic, or hydroalcoholic) to 1 M HCl solution and attained a maximum value of 738 $\Omega\text{ cm}^2$ in the presence of the hydroalcoholic extract, followed by the ethanolic (547 $\Omega\text{ cm}^2$) and aqueous (374 $\Omega\text{ cm}^2$) extracts. The value of the Q parameter of CPE and also the pseudo-capacity of the double layer C_{dl} decreased, which could have been due to an increase in the thickness of the double layer and/or a decrease in local dielectric constant. This may be due to the progressive replacement of ions and water molecules adsorbed on the surface by the adsorption of inhibiting molecules on the metal surface [49, 55, 56].

Furthermore, the excellent inhibitory properties of the hydroalcoholic extract can be interpreted as being the result of the intense presence of adsorbent phenolic molecules in the hydroalcoholic extract when compared with the ethanolic and aqueous extracts.

The present study shows for all EIS spectra that $n < 1$, with or without different extracts, showing the surface heterogeneity despite the adsorption of the inhibitor molecules contained in the different extracts on the active adsorption sites of the electrode surface.

III.8.3. Correlation between phenolic compounds and inhibition efficiency

The relationships between phenolic compounds and inhibitive actions were analyzed by comparing the trends of phenolic compounds to those of inhibition efficiency by Origin. The graphs of TPC, TFC, CT, and $\eta\%$ (obtained from the Tafel and EIS techniques) are given in Fig.8.

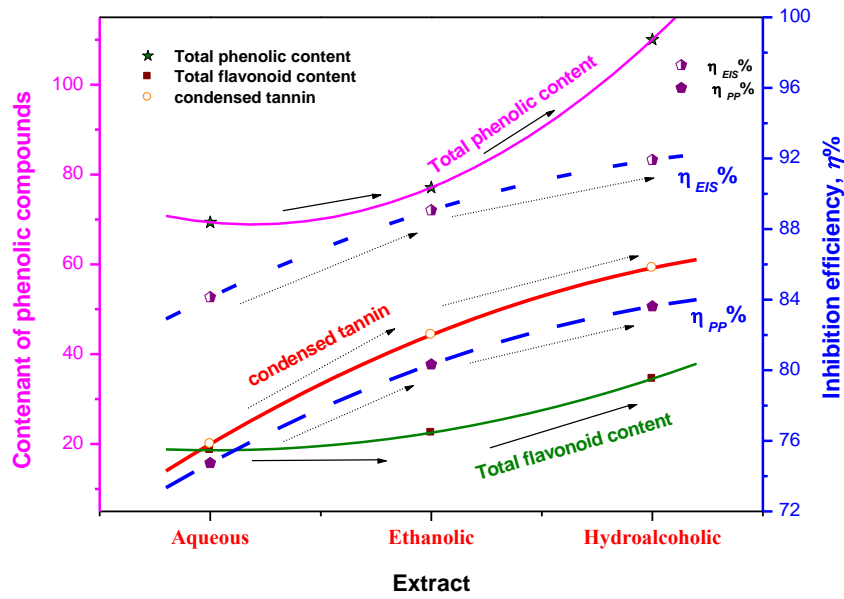


Figure 8. Data trends of phenolic compounds and inhibition efficiency $\eta\%$.

The TPC, TFC, and CT are expressed as a percentage to allow direct comparison of phenolic profiles with $\eta_{PP}\%$ and $\eta_{EIS}\%$ curves. It is obvious from Figure 8 that the evolution of CT in the three extracts followed the same trend as the inhibition efficiency $\eta\%$ obtained from both Tafel and EIS measurements, whereas others tendencies were registered with TPC and TFC. Thus, it can easily be concluded that the inhibitory properties of *Ammi visnaga* may be attributed to condensed tannin present in extracts.

III.8.4. Relation between antioxidant and inhibition efficiency of *Ammi visnaga* extracts

The relationships between IC_{50} and inhibition efficiency $\eta\%$ (calculated from i_{corr} and R_{ct}) were analyzed by comparing the trends of IC_{50} and those of inhibition efficiency by Origin 6.0. The correlation between IC_{50} and inhibition efficiency in the three extracts are plotted in Fig. 9.

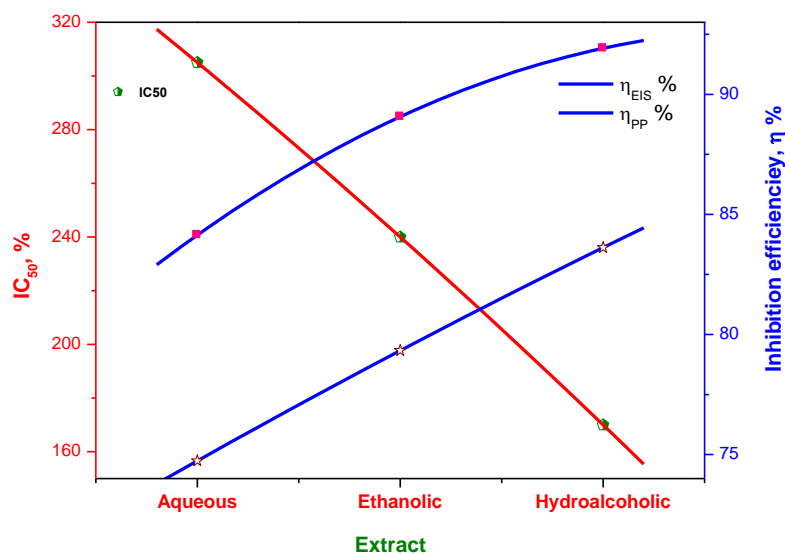


Figure 9. Data trends of antioxidant activity and inhibition efficiency ($\eta\%$).

Fig. 9 shows that the IC_{50} values decreased considerably with the hydroalcoholic extract when compared with the ethanolic and aqueous extracts, respectively. As opposed to this trend, the corrosion inhibition efficiency increased. In addition, the strong correlation between CT and IC_{50} as well as CT and inhibition efficiency reported in Figs.3 and 8, respectively, along with the strong presence of CT in the hydroalcoholic extract with the highest content (65.20 mg of catechin/g extract) when compared with the other extracts (cf. Table 2), can be attributed to their increased solubility, which is likely inherent to the decreased polarity of the hydroalcoholic solvent.

Consequently, all these results illustrate a similar trend between antioxidant and anticorrosive activities and their strong dependence on the CT content.

IV. Conclusion

This study showed that the extraction solvent had a significant effect on the phenolic profiles of different extracts of *Ammi visnaga* and therefore on antioxidant activity.

The results showed that hydroalcoholic extraction gave the maximum yield. Quantitative analysis showed that the hydroalcoholic extract had the highest TPC, TFC, and CT when compared with the ethanolic and aqueous extracts, thus providing an intense capacity to trap free radicals.

The correlation between the phenolic compounds (TPC, TFC, and CT) and IC_{50} of the different extracts showed that the condensed tannin content of the different extracts was very well correlated with IC_{50} .

The electrochemical analysis suggested that different extracts of *Ammi visnaga* have an inhibition action in acidic media. A good trend was obtained between the corrosion inhibition properties of *Ammi visnaga* extracts and their total phenolic content and antioxidant activity.

REFERENCES

1. A.E. Al-Snafi, *Int. J. Pharm. & Ind.*, 3(2013) 257.
2. M. H. A. El Gamal, N.M.M. Shalaby, H. Duddeck and M. Hiegemann, *Phytoch.*, 34 (1993) 819.
3. J.B.Harborne and L. King, *Biochem. Syst. Ecol.*, 4 (1976) 111.
4. A.N. Singab, *Phytochem*, 49 (1998) 2177.
5. T. Z. Abdul Jalil, K. Saour and A.M.A. Nasser, *J. Pharm. Sci.*, 19 (2010) 48.
6. K. Günaydın and F.B.Erim, *J. Chromatogr.*, 954 (2002) 291.
7. K. W. Tan and M.J. Kassim, *Corros. Sci.*, 53 (2011) 569.
8. Y.Z. Cai, Q. Luo, M. Sun and H. Corke, *Life Sci.*, 74 (2004) 2157.
9. H.R. Jadhav and K.K. Bhutani, *Phyto. Res.*, 16 (2002) 771.
10. I.F.F. Benzie and J.J. Strain, *Anal. Biochem.*, 239 (1996) 70.
11. B. Auddy, M. Ferreira. F. Blasina, L. Lafon, F. Arrendondo, F. Dajas, P. Tripathy, T. Seal and B. Murkerjee, *J. Ethnopharmacol.*, 84 (2003) 131.
12. I.N. Putilova, S.A. Balezin and V.P. Barannik, *Pergamon. Press. New York* (1960) p. 31.
13. M.A. Amin, S.S. Abd El-Rehim, E.E.F. El-Sherbini and R.S. Bayoumi, *Electrochim. Acta.*, 52 (2007) 3588.
14. B. Labriti, N. Dkhireche, R. Tourir, M. EbnTouhami, M. Sfaira, A. El Hallaoui, B. Hammouti and A. Alami, *J. Sci. Eng.*, 37 (2012) 1293.
15. B. Zerga, B. Hammouti, M. EbnTouhami, R. Tourir, M. Taleb, M. Sfaira, M. Bennajeh and I. Forssal, *Int. J. Electrochem. Sci.*, 7 (2012) 471.
16. K. Benbouya, B. Zerga, M. Sfaira, M. Taleb, M. EbnTouhami, B. Hammouti, H. Benzeid and E.M. Essassi, *Int. J. Electrochem. Sci.*, 7 (2012) 6313.
17. B. Zerga, M. Sfaira, Z. Rais, M. EbnTouhami, M. Taleb, B. Hammouti, B. Imelouane and A. Elbachiri, *Mater. Tech.*, 97 (2009) 297.
18. L. Afia, R. Salghi, L. Bammou, El. Bazzi, B. Hammouti, L. Bazzi and A. Bouyanzer, *J. Saudi Chem. Soc.*, 18 (2014) 19.
19. J. Bhawsar, P.K. Jain and P. Jain, *Alex. Eng. J.*, 54 (2015) 769.

20. M.R. Singh, P. Gupta and K. Gupta, *Arab. J. Chem.*, 52(2015) 1878.
21. A.K. Satapathy, G. Gunasekaran, S.C. Sahoo, Kumar Amit and P.V. Rodrigues, *Corros. Sci.*, 51 (2009) 2848.
22. P.C. Okafor, M.E. Ikpi, I.E. Uwaha, E.E. Ebenso, U.J. Ekpe and S.A. Umoren, *Corros. Sci.*, 50 (2008) 2310.
23. A.Y. El-Etre, *Appl. Surf. Sci.*, 252 (2006) 8521.
24. M.D. Judith, Thèse de doctorat en pharmacie de l'Université de BAMAKO (2005) 57.
25. N. Dohou, K. Yamni, S. Tahrouch, L.M. Idrissi Hassani, A. Badoc and N. Gmira, *Soc. Pharm. Bordeaux* 142 (2003) 61.
26. A. Diallo, Thèse de pharmacie. Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie (Fmpos). Université de Bamako (2005).
27. E.K. Akkol, F. Göger, M. Kosar and K.H. Başer, *Food Chem.*, 108 (2008) 942.
28. C. Quettier-Deleu, B. Gressier, J. Vasseur, T. Dine, C. Brunet, M. Luyckx, M. Cazin, J.C. Cazin, F. Bailleul and F. Trotin, *J. Ethnopharm.*, 72 (2000) 35.
29. B. Sun, J.M. Richardo-Da-Silvia and I. Spranger, *J. Agric. Food Chem.*, 46 (1998) 4267.
30. K. Shimada, K. Fujikawa, K. Yahara and T.J. Nakamura, *J. Agr. Food Chem.*, 40 (1992) 945.
31. P. Prieto, M. Pineda and M. Aguilar, *Anal. Biochem.*, 269 (1999) 337.
32. S. Bourgou, B. R. Serairi, F. Medini and R. Ksouri, *Agr. Bio. Tech.*, 28 (2016).
33. Z. Mohammedi and F. Atik, *Int. J. Pharma. Bio. Sci.*, 2 (2011) 609.
34. K. Ammor, D. Bousta, S. Jennan, A. Chaqroune and F. Mahjoubi, *Der Pharma Chemica*, 9 (2017) 73.
35. S. Aourabi, M. Driouch, K. Ammor, M. Sfaira, M. EbnTouhami and F. Mahjoubi, *Anal. Bioanal. Electrochem.*, 10 (2018) 912.
36. M. Alothman, R. Bhat and A.A. Karim, *Food Chem.*, 115 (2009) 785.
37. S.F. Sulaiman, A.A.B. Sajak, K.L. Ooi, Supriatno and E.M. Seow, *J. Food Compos. Anal.*, 24 (2011) 506.
38. A. Wojdylo, J. Oszmianski and R. Czemerzys, *Food Chem.*, 105 (2007) 940.
39. S. Jennan, A. Farah and F. Mahjoubi, *J. Mater. Environ. Sci.*, 6 (2015) 773.
40. R. Petlevski, D. Flajs, Z. Kalodela and M. K. Zovko, *S. AFR. J. BOT.*, 85 (2013) 17.
41. B. Lapornik, M. Prosek and A.G. Wondra, *J. Food Eng.*, 71 (2005) 214.
42. K. Shimada, K. Fujikawa, K. Yahara and T. Nakamura, *J. Agr. Food Chem.*, 40 (1992) 945.

43. L.R. Fukumoto and G. Mazza, *J. Agric. Food Chem.*, 48 (2000) 3597.
44. J.R. Soares, T.C.P. Dins, A.P. Cunha and L.M. Almeida, *Free Radic. Res.*, 26 (1997) 469.
45. A. Pizzi, *Ind. Eng. Chem. Prod. Res. Devel.*, 21 (1982) 359.
46. S. Moreno, T. Scheyer, C.S. Romano and A.A. Vojnov, *Free Rad. Res.*, 40 (2006) 223.
47. Y. Gong, X. Liu, W.H. He, H.G. Xu, F. Yuan and Y.X. Gao, *Fitoterapia*, 83 (2012) 481.
48. D. Karou, M.H. Dicko, J. Simporé and A.S. Traore, *AJB.*, 4 (2005) 823.
49. M. Beniken, M. Driouch, M. Sfaira, B. Hammouti, M. EbnTouhami and M.A. Mohsin, *J. Bio. Tribo-Corros.*, 4 (2018) 38.
50. K.S. Cole and R.H. Cole, *J. Chem. Phys.*, 9 (1941) 341.
51. S. Duval, M. Keddou, M. Sfaira, A. Srhiri and H. Takenouti, *J. Electrochem. Soc.*, 149 (2002) 520.
52. D.W. Davidson and R.H. Cole, *J. Chem. Phys.*, 19 (1951) 1484.
53. D.A. Lopez, S.N. Simison and S.R. Sanchez, *Corros. Sci.*, 47 (2005) 735.
54. M. Lebrini, F. Robert, H. Vezin and C. Roos, *Corros. Sci.*, 52 (2010) 3367.
55. M. Beniken, M. Driouch, M. Sfaira, B. Hammouti, M. EbnTouhami and M.A. Mohsin, *J. Bio. Tribo-Corros.*, 4 (2018) 34.
56. Z. Bensouda, M. Driouch, M. Sfaira, M. EbnTouhami and A. Farah, *Int. J. Electrochem. Sci.*, 13 (2018) 8198.

© 2019 The Authors. Published by ESG (www.electrochemsci.org). This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Journal of molecular liquids, <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.114950>

Phenolic fraction of *Ammi visnaga* extract as environmentally friendly antioxidant and corrosion inhibitor for mild steel in acidic medium

*S. Aourabi¹, M. Driouch^{1**}, M. Sfaira¹, F. Mahjoubi¹, B. Hammouti², C. Verma^{3**},
Eno E. Ebenso⁴, L. Guo⁵*

¹Laboratory of Engineering, Modeling and Systems Analysis (LIMAS). University of Sidi Mohamed Ben Abdellah (USMBA), Faculty of Sciences, PO Box 1796-30000, Fez-Atlas, Morocco

²Laboratory of Applied Chemistry and Environment, Faculty of Sciences, Mohammed the 1st University, PO Box 4808, Oujda, Morocco

³Center of research Excellence in corrosion, Research institute, king Fahd University of petroleum and Minerals, Dhahran 31261, Saudi Arabia

⁴Material Science Innovation and Modelling (MaSIM) Research Focus Area, Faculty of Agriculture, Science and Technology, North-West University (Mafikeng Campus), Private Bag, Mmabatho, South Africa

⁵School of Material and chemical Engineering, Tongren University, Tongren 554300, China

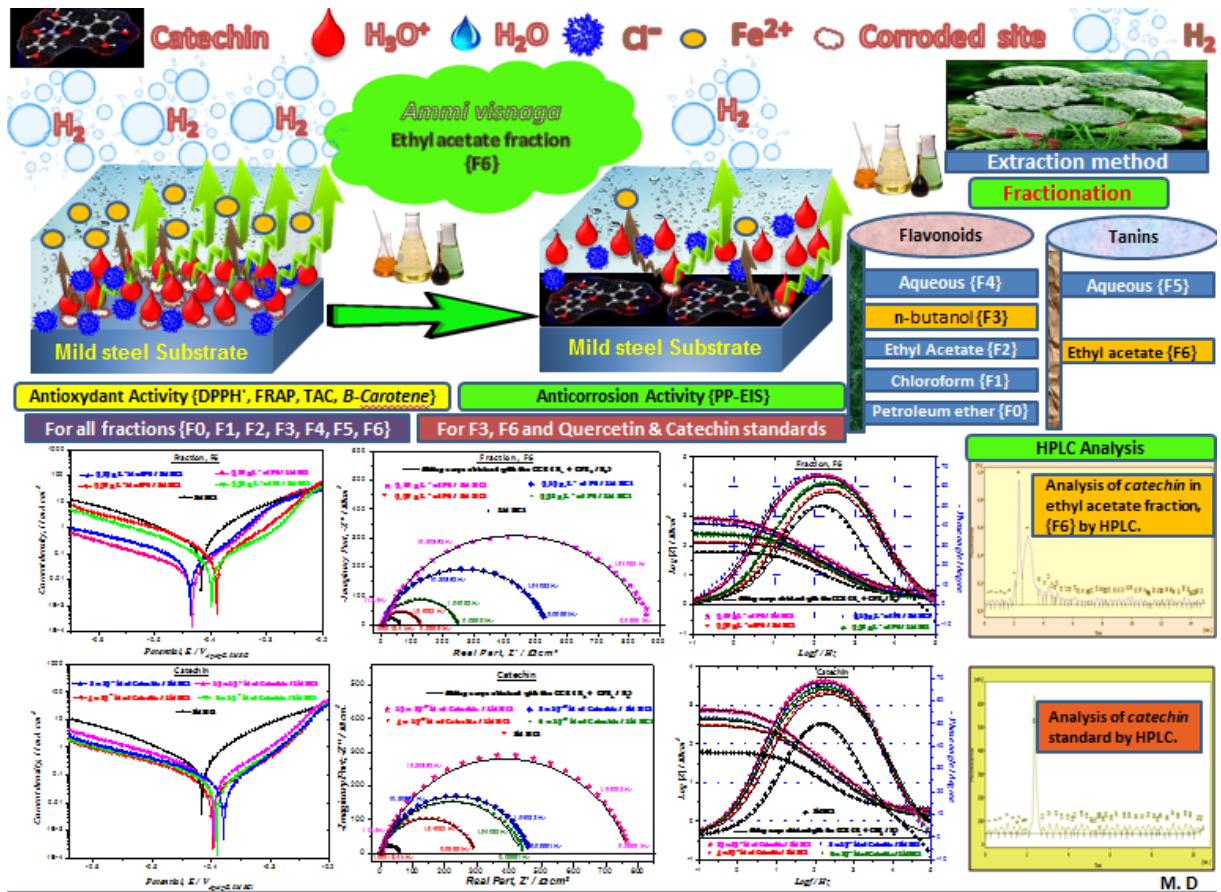
*Corresponding authors:

E-mail: Majid.driouch.fsdm@gmail.com(MD) & chanderverma.rs.apc@itbhu.ac.in(CV);

Center of research Excellence in corrosion, Research institute, king Fahd University of petroleum and Minerals, Dhahran 31261, Saudi Arabia

Received 8 August 2020, Revised 22 November 2020, Accepted 2 December 2020,
Available online 5 December 2020.

Chapitre III : Effet du solvant et du procédé d'extraction, sur les activités antioxydante et inhibitrice de la corrosion d'un acier doux dans HCl 1M, des extraits de *Ammi visnaga* et de ses fractions phénoliques



Graphical Abstract

Abstract

The present study aims to prepare a phenolic extract of *Ammi visnaga* from its areal part and qualitative measurement of flavonoids and tannins present in the extract using Folin Ciocalteu and Quettier-Deleu methods. Antioxidant activities of different fractions of the extract was measured using DPPH, FRAP, β -carotene and total antioxidant capacity techniques. The n-butanol and ethyl acetate fractions designated as F3 and F6 contain quercetin and catechin as major phytochemicals, respectively. Corrosion inhibition effect of quercetin and catechin and F3 and F6 was studied for mild steel in 1 M HCl using electrochemical procedures. Results showed that with respect to F3, F6 contains relatively more phenolic and tannins proportion. Among all tested species, F6 showed highest antioxidant activity. Electrochemical studies showed that quercetin and catechin standards showed antagonistic effect towards mild steel acidic corrosion. Never the less, among the tested species, the F6 and F3 fractions showed highest inhibition efficiencies of 93% and 88%, at 0.15 gL⁻¹ concentrations, respectively. Potentiodynamic polarization (PP) electrochemical impedance spectroscopy (EIS) studies showed that tested species act as mixed-type and interface-type corrosion inhibitors, respectively. Adsorption of catechin on metallic surface in acidic medium obeyed the Temkin and El-Awady models.

Keywords: *Ammi visnaga*, antioxidant activity, *catechin* and *quercetin*, acid corrosion, inhibitors, Temkin and El-Awady adsorption isotherm models.

I. Introduction

Steel alloys (carbon and mild steel) are widely used as constructional materials in different industries due to their high mechanical strength and low cost. They are mainly used in oil and gas industries as storage tanks, transportation pipelines, purification and works-up tanks [1, 2]. Nevertheless, they are highly reactive and undergo corrosion by the dissolved impurities and gases in the transportable liquids and gases. The corrosion causes huge safety and economic damages in such industries. In view of this several attempts are made to overcome the unwanted damaging phenomenon. Among the numerous methods, use of organic compounds is acquired the top most position because of their ease synthesis, cost-effectiveness and high protection efficiency. However, because of increasing ecological and environmental awareness, the processes and practices of environmental sustainable alternatives protocols are advancing in all fields of science and technology including the area of metallic corrosion inhibition. One of greenest and environmental friendly alternatives of the traditional corrosion inhibitors is implementation of extract of plants.

The use of plant extracts at the place of traditional toxic and non-environmental friendly corrosion inhibitors acquires several benefits including high efficiency, huge commercial availability, non-toxic nature, cost-effectivity and reduced risks to soil, aquatic and areal lifes [3]. The high protection effectiveness of the plant extracts is mainly due to the presence of several simple to complex phytochemicals such as phenolic compounds, flavonoids, tannins, *catechin*, terpenoids and vitamins, etc. that contain numerous electron rich polar functional groups and multiple bonds that accelerate their adsorption on metallic surface [4-8]. After their adsorption, the phytochemicals form protective film that isolates the metal surface from aggressive environment and protect from corrosion. Similar to traditional corrosion inhibitors, inhibition effectiveness of the extracts greatly depends upon temperature, pH, nature of metal and corrosive environment and electronic structure of the phytochemicals [9, 10]. Literature study demonstrated that several plant extracts are such as *Black pepper* extract [11], *Artemisia pallens*[12], *Chenopodium ambrosioides* extract [13], *Ammi visnaga* extract[14], *Khillah* extract [15] and Ethanolic extract of *Ammi visnaga*[16] etc. as evaluated as effective metallic corrosion inhibitors.

The *Ammi visnaga* (family *Apiaceae*) extract shows reasonably good antioxidant and anticorrosive activities because of the presence of numerous phenolic compounds [17, 18]. The *Ammi visnaga* extract contains some flavonoids and tannins that obviously offer high anticorrosive activity [19-25] because of their association with high complex and polymeric structures. Several studies are reported dealing with the tannins extracts of the several plants [26-28]. The anticorrosive and antioxidant behavior of numerous phenolic extracts are also reported elsewhere [29-30]. We herein, describe the preparation of *Ammi visnaga* real extract and evaluation of its antioxidant and anticorrosive effectiveness towards mild steel acidic corrosion. High Performance Liquid Chromatography (HPLC) analysis was used to identify the chemicals present in the extract. The *quercetin* and *catechin* are the major phytochemicals that are present in the extract. Potentiodynamic polarization (PP) electrochemical impedance spectroscopy (EIS) studies showed that tested fractions act as mixed-type and interface-type corrosion inhibitors, respectively. Adsorption of catechin on metallic surface in acidic medium obeyed the Temkin and El-Awady models.

II. Material

II.1. Vegetal material

Ammi visnaga areal part was collected at the time of its fruiting in July 2018 in the Taouinate of Morocco. The cleaned areal part of plant was dried (in shade) and crushed.

The mild steel samples {containing 0.11wt.% C, 0.24 wt.% Si, 0.47 wt.% Mn, 0.12 wt.% Cr, 0.02 wt.% Mo, 0.10 wt.% Ni, 0.03 wt.% Al, 0.14 wt.% Cu, 0.06 wt.% W, Co < 0.0012 wt.%, V < 0.003 wt.%, and balanced with iron were used for electrochemical demonstration. We follow our previous protocol for the preparation of sample and electrolyte (1M HCl) [31]. Anticorrosive power of n-butanol fraction, ethyl acetate fraction of the extract and standards {*quercetin*, *catechin*} in 1 M HCl addition was tested at their different concentrations.

III. Methods

III.1. Fractionation of polyphenols

III.1.1. Flavonoids extraction

Flavonoids extraction was carried out according to the procedure reported earlier [32]. The areal part of *Ammi visnaga* was extracted by maceration with 70 % ethanol/water system. The extract was then filtered to eliminate the debris, concentrated by rotary evaporator to obtain a crude hydro-ethanolic extract (HE). The HE was dissolved in hot water and then partitioned sequentially with petroleum ether (F0), chloroform (F1), ethyl acetate (F2) and n-butanol (F3). All the five fractions, including the aqueous fraction (F4), were concentrated and stored at 4°C for subsequent analyses.

III.1.2. Tannins extraction

Tannins extraction was obtained according to method reported by Zhang *et al.*[33]. The areal part of *Ammi visnaga* was extracted by maceration in 70 % acetone/water system. The extract was then filtered and concentrated by rotary evaporate to obtain a crude extract which was dissolved in dichloromethane and then partitioned sequentially with ethyl acetate. The water fraction (F5) and ethyl acetate fraction (F6) were collected separately and concentrated using a rotary evaporator to remove the residual solvents.

III.1.3. Phytochemical screening

The phytochemical screenings that give qualitative information on chemical composition of the various fractions were carried out to get the information about the phytochemicals present in the extract. The tannins fraction was differentiated in two fractions, namely: condensed tannins and gallic tannins. The revelation of these different tannins was accomplished according to reference [34].

III.1.4. Quantitative analyses (TPC, FC, CT)

The total phenolic content (*TPC*) of each fraction was obtained according to the method described elsewhere [35]. A modified colorimetric aluminum chloride method, referred to [36], was used in this study for the determination of flavonoids content (*FC*). Condensed

tannins (CT) or proanthocyanidins were determined according to the method reported previously [37].

III.2. Antioxidant activity

III.2.1. DPPH[•] method

The antioxidant activity of each fraction was demonstrated by measuring the ability of the antioxidant to trap the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH) as described by other authors [38]. Indeed, 0.6 μL of various concentrations {10-100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ } of sample solutions were prepared from the stock solution in DMSO and mixed to 3 mL of a methanolic solution of DPPH (0.2 mM). After the incubation period of 30 min in dark (at 25 °C), the absorbance was measured with a blank made from methanol that shows absorption peak at 517 nm. The standard used in the study was butylated hydroxytoluene (BHT). All experiments were triply performed to ensure reproducibility. The results are expressed as percent inhibition as follows [38]:

$$\% \text{Inhibition} = \frac{A_B - A_S}{A_B} \times 100 \quad (1)$$

where, A_B is the absorbance of the control, and A_S is the absorbance of the sample.

IC_{50} value that specifies the extract concentration to minimize 50 % of initial concentration of DPPH was tested by plotting graph between concentration and percentage inhibition.

III.2.2. β -carotene method

The β -carotene method was used with a slight modification [39]. An emulsion of β -carotene/ linoleic acid was prepared by solubilizing 2 mg of β -carotene in 10 mL of chloroform. Then the solution was mixed with 20 μL of linoleic acid and 200 mg of emulsifier tween 40. After evaporation of chloroform by rotavapor, 100 mL of distilled water was added. The resulting emulsion is vigorously agitated. In test tubes, 4 mL of previous mixture was added to 200 μL of extract. The tubes were placed in a water bath at 50°C for 2h. Two control tubes were also prepared using the same procedure: one containing BHT as antioxidant reference (positive control) and the other without antioxidant (negative control) where the sample was replaced by 200 μL of methanol. Thereafter, the absorbance of each sample was measured at 470 nm. All tests were repeated three times. The percent activity was calculated as follows [39]:

$$AA\% = \frac{A_{BHT} - A_S}{A_{BHT}} \times 100 \quad (2)$$

where, A_{BHT} is the absorbance of positive control, and A_S is the absorbance of the sample.

III.2.3. Ferric-reducing antioxidant power (FRAP) method

The reductive potential was examined in the conversion of *ferric-tripyridyltriazine* (Fe^{3+} -TPTZ) complex to *ferrous tripyridyltriazine* (Fe^{2+} -TPTZ⁺) in the presence of an antioxidant according to [40]. The protocols for the measurements were adopted as described elsewhere [40]. All samples were analyzed in triplicate.

III.2.4. Determination of total antioxidant capacity (TAC)

The total antioxidant efficiency (TAC) of all extract was tested by *Phosphomolybdenum* method described before [41].

III.2.5. HPLC method for identification of flavonoids and tannins

The analysis of the presence of phenolic compounds (*quercetin and catechin*) in the n-butanol (F3) and ethyl acetate (F6) fractions, respectively, was carried out by HPLC (reverse phase) and the type of water 600E coupled to a fluorescence detector equipped with an injection loop with a C18 column (length = 150 mm; diameter = 4.6 mm, 5 μm particle size). The analysis was carried out in *Laboratory of Agricultural & Food Industry, IAV HASSAN II*. The flow rate of the mobile phase was 0.5 mL/min, 2.5 mL/min for the *quercetin and catechin*, respectively. Detection was performed at two wavelengths: the excitation wavelength were 330 nm, 285 nm and the detection wavelength were 440 nm, 366 nm for *quercetin and catechin*, respectively.

The standards were injected at the concentration of 1 mg/mL to determine whether they were present or not in the extract. Separation of solutes from our samples was performed in the elution gradient mode. The mobile phase consisted of: *Acetonitrile: methanol: acetic acid* (70:30:0.1, v/v/v), *acetic acid: methanol: dimethylformamide: water* (1:3:40:56, v/v/v/v) for both standards. The HPLC conditions are listed in Table 1.

Table 1 Conditions of HPLC

| Sample | Mobile phase | Column | Injection volume | Flow rate | Detection/Fluorescence |
|------------------|---|--------|------------------|-----------|--|
| Quercetin | Acetonitrile: methanol: acetic acid (70:30:0.1, v/v/v) | C18 | 50 μL | 0.5 mL/mn | Excitation at 330 nm and detection at 440 nm |
| Catechin | acetic acid: methanol: dimethylformamide: water (1:3:40:56, v/v/v/v) | C18 | 40 μL | 2.5 mL/mn | Excitation at 285 nm and detection at 366 nm |

III.3. Anticorrosion activity

The anticorrosive effect of the different fraction of extract and their standards was measured using electrochemical methods. Conventional three electrode cell with a thermostat double wall conducted by *Bio-logic* potentiostat/galvanostat and controlled with analysis software (*Ec-Lab*[®] *V11.20*) was used for electrochemical studies. The *Ag/AgCl* (*3MKCl*), platinum and mild steel were taken as reference, auxiliary and working electrodes, respectively.

The potentiodynamic studies was carried out by measuring the Tafel potential range from $\pm 250mV$ with respect to open circuit potential E_{ocp} , at the scan rate of $1 mV s^{-1}$. Corrosion current densities were obtained by extrapolation method. EIS studies were carried out in the frequency range of $10^5-10^1 Hz$, with small fluctuation amplitude of $10 mV$ peak to peak.

IV. Results and discussion

IV.1. Extraction yield

The extraction yields of different fractions are obtained from the fractionation of flavonoids ranged from 1.1 to 6.3 % as shown in Table 2. From all fractions, the n-butanol fraction (F3) gives the highest yield of 6.3 % while the petroleum ether fraction (F0) gives the lowest yield of 1.1 %. This may be due to the low solubility of the main components in petroleum ether and chloroform whereas flavonoids are highly soluble in low and high polar solvents. The extraction efficiency of the different fractions can be concluded in the following order: {F3>F2>F4> F1 > F0}. Concerning the fractionation of tannins, the ethyl acetate fraction (F6) is associated with highest yield of 7.6 % and aqueous fraction with highest yield of 2.2 % as presented in Table 2. This may be due to the solubility of tannins in polar solvents [42, 43].

Table 2 Extraction yields of different fractions of extracts

| Fraction | Flavonoids | | | | | Tannins | |
|---------------------------------|--------------------------|------------------|------------------------|---------------------|---------------|---------------|------------------------|
| | F0 Petroleum ether | F1 Chloroform | F2 Ethyl acetate | F3 n- butanol | F4 Aqueous | F5 Aqueous | F6 Ethyl acetate |
| Extraction Yield (%) | 1.1 | 1.2 | 5.2 | 6.3 | 3.9 | 2.2 | 7.6 |

IV.2. Phytochemicals screening of F3 obtained from fractionation of tannins

Phytochemicals screening of the ethyl acetate fraction obtained by fractionation of tannins shows the presence of condensed tannins and absence of gallic tannins.

IV.3. Contents of FC and TPC in different phenolic fractions issued from fractionation of flavonoids

The data presented in Table 3 indicates that flavonoids and total phenolic contents in F3 and F6 fractions are considerably superior to chloroform, petroleum ether and aqueous fractions. Based on these results, we observed that the highest total flavonoids content is registered in F3 {165.79 ± 0.41 milligrams equivalent of *quercetin* per gram of extract, *mg EQ/g extract*} and the lowest content is observed in F0 {9.47 ± 0.10 *mg EQ/g extract*}. The TPC of all fractions varied from 241.84 to 12.98 milligrams equivalent of *gallic acid* per gram of extract, *mg EGA/g extract*}. The highest TPC is detected in the F3 {241.84 ± 9.10 *mg EGA/g extract*}, whereas the lowest content is found in F0 {12.98±2.40*mg EGA/g extract*}. TPC of extracts is found to be arranged in the following descending order: {F3 > F2 >F1 > F4> F0}. This result suggests that F3 fraction is rich in phenolic compounds and that n-butanol solvent is suitable to extract the phenolic compounds. This result is similar to other results which showed that the n-butanol fraction had a highest total phenolic and flavonoids content {164.1 µg GAE/g DCS for TPC and 69.4 µg RE/gDCS for FC} [42] and {203.30 µg/mL of *gallic acid* equivalent and 745 µg/mL of rutin equivalent, respectively} [44].

Table 3 Comparative analysis of TPC and FC of phenolic fractions.

| Fraction | F0 | F1 | F2 | F3 | F4 |
|-------------------------------|--------------|------------|-------------|-------------|------------|
| <i>FC {mg EQ/g extract}</i> | 9.47±0.10 | 38.47±0.10 | 158.43±0.10 | 165.79±0.41 | 26.36±0.40 |
| <i>TPC {mg EGA/g extract}</i> | 12.98 ± 2.40 | 42.93±2.51 | 175.17±3.50 | 241.84±9.10 | 39.95±1.71 |

values are mean ± standard deviation of three replicate analyses

According to these results, the F0 fraction is characterized by the lowest amount of FC and TPC. So, in the rest of the work we will not take it into account.

IV.4. Contents of TPC and CT in different fractions issued from fractionation of tannins

In this study, the highest contents of condensed tannins are observed in F6 {195.16±4.31 *mg catechin/g extract*} and the lowest content is observed in F5 {12.45±0.30 *mg catechin/g extract*} as shown in Table 4. For the determination of TPC containing in different fractions, it is noted that F6 is characterized by the highest content of TPC {250.17±7.20 *mg EGA/g extract*} followed by F5 {22.84±5.41 *mg EGA/g extract*}.

Table 4 Comparative analysis of *TPC* and *CT* fractions

| Fraction | F5 | F6 |
|-----------------------------------|-------------|---------------|
| <i>TPC</i> {mg EGA/g extract} | 22.84±5.41 | 250.17 ±7.20 |
| <i>CT</i> {mg catechin/g extract} | 12.45± 0.30 | 195.16 ± 4.31 |

values are mean ± standard deviation of three replicate analyses

IV.4.1. Evaluation of antioxidant activity

Phenolic compounds are well known class of antioxidant agents [45]. In the present study antioxidant activity of different fractions were tested using in-vitro antioxidant models, including *DPPH* radical scavenging activity, Ferric-reducing antioxidant power, Total Antioxidant Capacity and β -carotene.

IV.4.1.1. *DPPH* method

The free radical activity of all fractions obtained from the fraction of flavonoids increases with rise of fraction concentration (Fig.1).

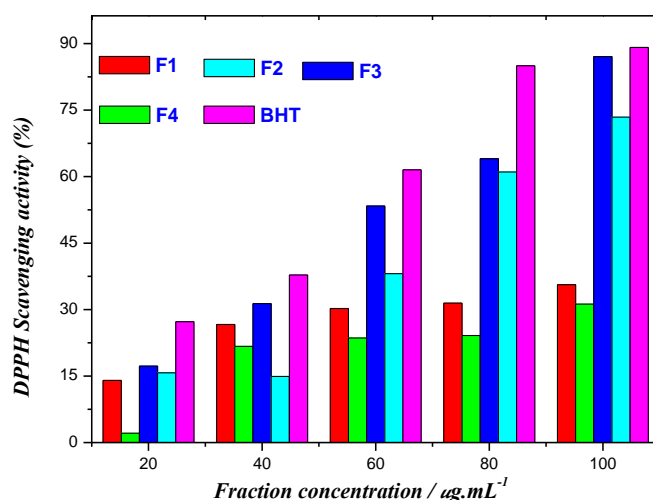


Fig. 1. Evolution of inhibition percentage by *DPPH* as a function of fraction concentrations and *BHT*.

At 100 $\mu\text{g/mL}$, F3 reflects the highest percentage of scavenging activity among all fractions (87.1 %), and does not show a significant difference from *BHT* (89.2 %) while F1 gives the lowest percentage of scavenging activity. IC_{50} values of free radical scanning activity are classified in the following decreasing order : {F4> F1>F2>F3} as indicated in Table 5.

Table 5 Antioxidant activities in phenolic fractions derived from DPPH' method

| Fraction | F1 | F2 | F3 | F4 | F5 | F6 | BHT |
|-----------------------------|-------|------|------|-------|-------|------|------|
| IC ₅₀ (µg/mL) | 183.7 | 72.7 | 64.5 | 270.7 | 139.2 | 60.6 | 52.1 |

The phenolic compounds, in particular flavonoids present in all fractions are the main constituents that can remove the *DPPH'* radical. Results derived in present study were consistent with the results derived by other group of authors [46, 47].

The free radical removal activity in the tannins fractions showed that F6 is characterized by an important *IC*₅₀ value {60.6 µg/mL} followed by the aqueous fraction F5 {139.2 µg/mL} when compared to standards as shown in Table 5. It is noted that F6 is characterized by the *IC*₅₀ value lower than that of the n-butanol fractions. Additionally, as tannins have been reported to be considerable components of phenolic [48], notable antioxidant potential of ethyl acetate fractions could be also due to tannins.

IV.4.1.2. Ferric-reducing antioxidant power (FRAP) method

The *potassium ferricyanure* reduction method is used to measure the antioxidant activity by reduction of *ferric-tripyridyltriazine*(*Fe*³⁺-*TPTZ*) complex to *ferrous tripyridyltriazine*(*Fe*²⁺-*TPTZ*), for which the color of the test solution changes from yellow to green, depending on the reducing power of each fraction.

As shown in Table 6, the *IC*₅₀ values of F3 {35.6 µg/mL} is characterized by the highest power to reduce the *Fe*³⁺ complex to *Fe*²⁺ when compared to other fractions obtained from fractionation of flavonoids, because the lower *IC*₅₀, the greater the activity of to reduce the *Fe*³⁺ complex to *Fe*²⁺. Concerning the fraction of tannins, it can be noted that F6 {*IC*₅₀= 29.3 µg/mL} is characterized by a high reducing power when compared to *BHT* standard {*IC*₅₀= 20.2µg/mL} which is demonstrated due to high phenolic content of ethyl acetate fraction. The reducing capability consistent with the degree of hydroxylation and extent of conjugation in polyphenols [49].

Table 6 Antioxidant activity of phenolic fractions obtained by FRAP method.

| Fraction | F1 | F2 | F3 | F4 | F5 | F6 | BHT |
|-------------------------------|-------|------|------|-------|-------|------|------|
| FRAP IC ₅₀ (µg/mL) | 100.1 | 54.6 | 35.6 | 180.3 | 104.4 | 29.3 | 20.2 |

IV.4.1.3. β-carotene and total antioxidant capacity method (TAC)

Table 7 shows the percentage of the inhibition of β-carotene when compared to *BHT* as positive control for different fractions. F3 shows the important percentage of inhibition (82.4 %) when compared to *BHT* (89.9 %) followed by F2 (64.9 %), F1 (58.8 %) and F4

(31.2 %). Concerning the fraction of tannins, F6 shows the highest percentage of inhibition (85.1 %) when compared to *BHT* (89.9 %) followed by F5 (28.8 %). The results were consistent with the earlier results available in literature [50].

Table 7 Antioxidant activity of phenolic fractions by β -carotene and *TAC* method.

| Fraction | F1 | F2 | F3 | F4 | F5 | F6 | <i>BHT</i> |
|-------------------------------------|------|------|------|------|------|------|------------|
| (%) inhibition of β -carotene | 58.8 | 64.9 | 82.4 | 31.2 | 28.8 | 85.1 | 89.9 |
| <i>TAC</i> { $IC_{50} \mu g/mL$ } | 79.8 | 45.6 | 38.1 | 58.2 | 60.3 | 28.1 | 20.4 |

The results of total antioxidant capacity of different fractions show that the n-butanol fraction F3 {38.1 $\mu g/mL$ } and the ethyl acetate fraction F6 {28.1 $\mu g/mL$ } are characterized by the highest total antioxidant capacity when compared to *BHT* {20.4 $\mu g/mL$ } followed by other fractions.

IV.5. HPLC analysis

IV.5.1. Fractionation of flavonoids

Quercetin contents in the fraction of n-butanol are obtained by comparing the standard area, peak and the retention time of the fractions with the standard (*quercetin*). The results illustrated in Figs. (2,3) show that the *quercetin* peak (10) appears at a retention of time $t_r=2.36 \text{ min}$. From Table 8., almost the same peak (10) appears in n-butanol fraction at a retention time $t_r=2.34 \text{ min}$ (Fig.3), which indicates the presence of *quercetin* in n-butanol fraction with a percentage (34%) from Table 9. which shows that *quercetin* is the major molecule in n-butanol fractions.

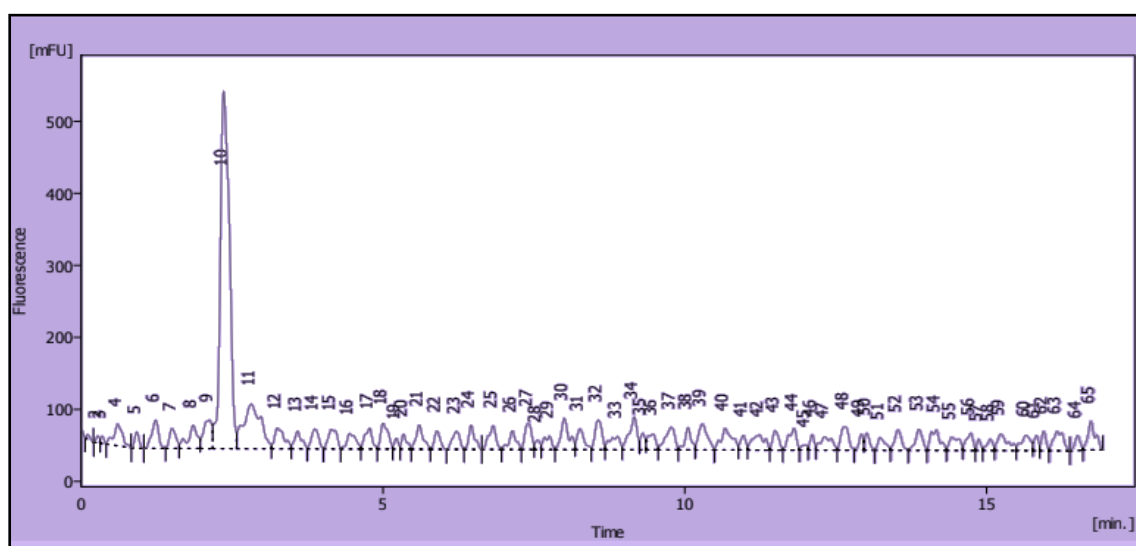


Fig.2 Analysis of *quercetin* standard by HPLC.

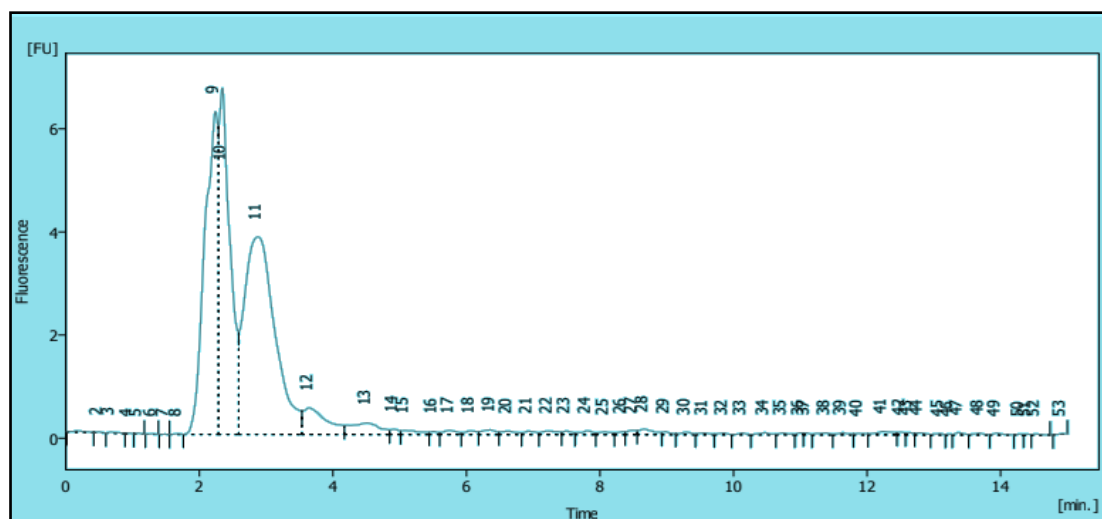


Fig.3 Analysis of *quercetin* in n-butanol fraction by HPLC.

Table 8 Peak characteristic of *quercetin*.

| Peak | Retention time [min] | Area[mFU.s] | Height[mFU] | Area% | Height% |
|------|-------------------------|-------------|-------------|-------|---------|
| 7 | 1.50 | 206.9 | 27.5 | 1.0 | 1.3 |
| 8 | 1.85 | 342.4 | 32.3 | 1.7 | 1.5 |
| 9 | 2.12 | 384.4 | 39.3 | 1.9 | 1.8 |
| 10 | 2.36 | 5193.6 | 496.1 | 25.6 | 22.8 |

Table 9 Peak characteristic of *quercetin* present in n-butanol fraction.

| Peak | Retention time [min] | Area[mFU.s] | Height[mFU] | Area% | Height% |
|------|-------------------------|-------------|-------------|-------|---------|
| 8 | 1.67 | 91.6 | 14.4 | 0.0 | 0.1 |
| 9 | 2.23 | 84572.1 | 6261.5 | 25.5 | 31.7 |
| 10 | 2.36 | 78904.3 | 6716.7 | 23.8 | 34.0 |
| 11 | 2.87 | 123484.4 | 3830.46 | 37.2 | 19.4 |

IV.5.2. Fractionation of tannins

The analysis of the presence of *catechin* in the fraction of ethyl acetate and standard (*catechin*) alone is performed by HPLC. The results presented in the Figures (4,5) show that the peak (10) corresponding to *catechin* is found in a retention time of $t_r=2.36 \text{ min}$ from Table 10 and that the peak (8) corresponds to *catechin* present in F6 since they appear almost at the same retention time of $t_r=2.34 \text{ min}$ with a percentage of (24.2 %) according to Table 11 obtained after the analysis by HPLC.

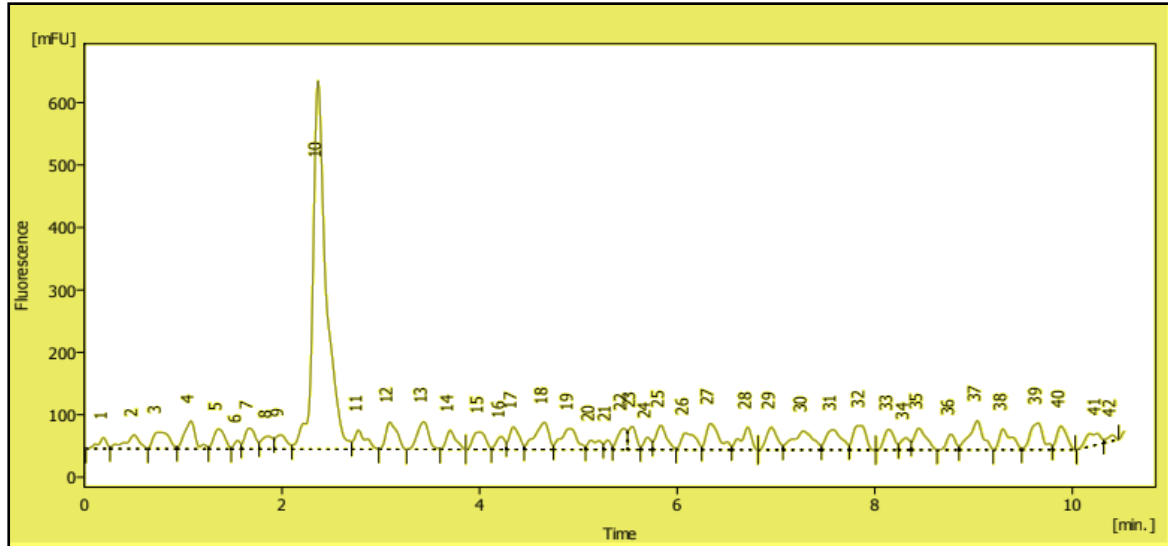


Fig.4 Analysis of *catechin* standards by HPLC.

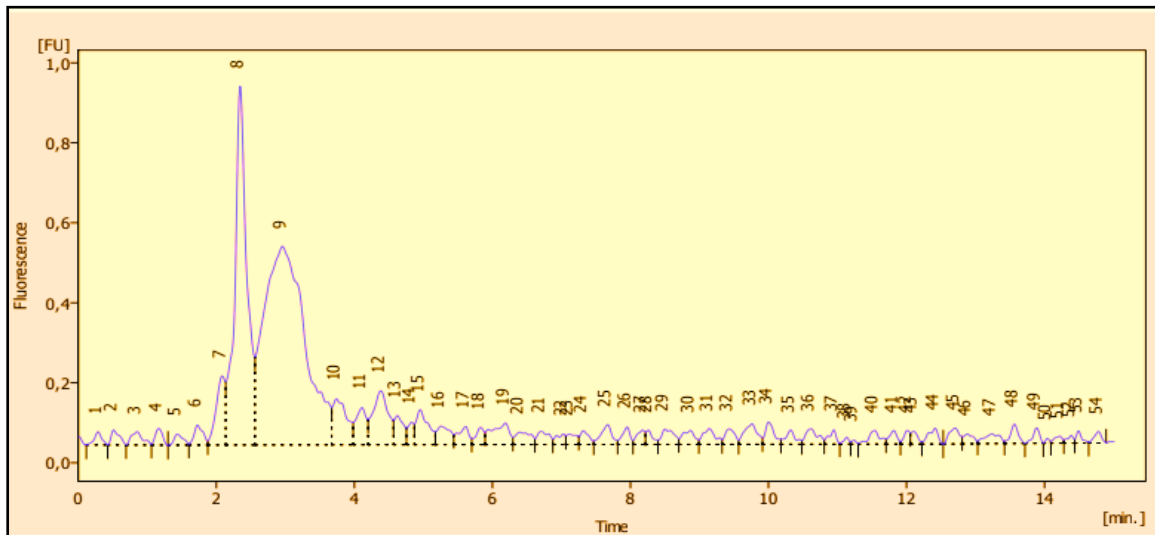


Fig. 5 Analysis of *catechin* in ethyl acetate fraction by HPLC.

Table 10 Peak characteristic of *catechin*.

| Peak | Retention time [min] | Area[mFU.s] | Height[mFU] | Area% | Height% |
|------|-------------------------|-------------|-------------|-------|---------|
| 7 | 1.667 | 244.2 | 33.3 | 1.6 | 1.8 |
| 8 | 0.861 | 157.9 | 20.3 | 1 | 1.1 |
| 9 | 1.98 | 179.96 | 22.4 | 1.1 | 1.2 |
| 10 | 2.36 | 5534.7 | 589.8 | 35.2 | 32.1 |

Table 11. Peak characteristic of *catechin* present in ethyl acetate fraction.

| Peak | Retention time [min] | Area[mFU.s] | Height[mFU] | Area% | Height% |
|------|-------------------------|-------------|-------------|-------|---------|
| 6 | 1.72 | 451.90 | 49.90 | 0.80 | 1.30 |
| 7 | 2.08 | 1525.60 | 173.10 | 2.80 | 4.70 |
| 8 | 2.35 | 10921.75 | 897.30 | 19.80 | 24.20 |
| 9 | 2.95 | 20543.10 | 496.96 | 37.20 | 13.40 |

V. Anticorrosion activity

The n-butanol fraction (flavonoids) and the ethyl acetate fraction (tannins) are characterized by the highest content of phenolic compounds and the highest antioxidant activity as compared to the other fractions. Therefore, we selected these two fractions for their anticorrosive activities towards mild steel acidic corrosion along with quercetin and catechin standards.

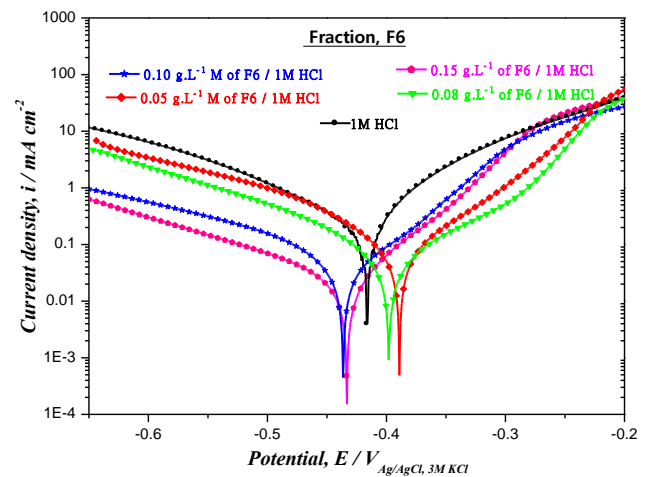
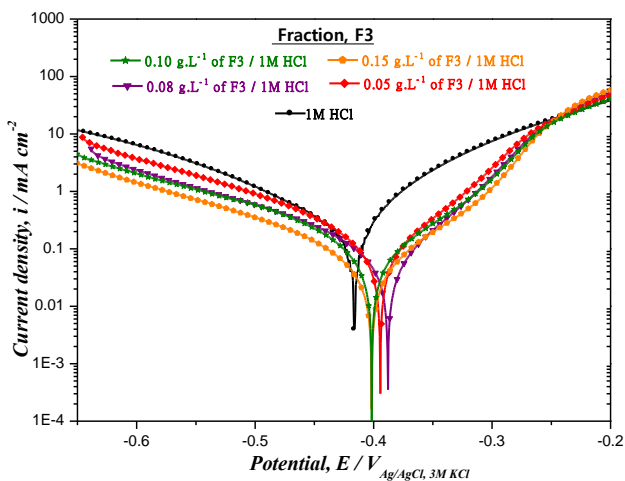
V.1. Potentiodynamic polarization study (PP)

The typical potentiodynamic polarization curves for mild steel in 1M HCl in the absence and presence of different concentrations ranged from 0.05 to 0.15 gL^{-1} for F3 and F6 and also in the absence and presence of different concentrations varying between 8×10^{-5} - $20 \times 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$ for *quercetin* and 4×10^{-5} - $10 \times 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$ for *catechin*, are shown in Fig. 6.

The molar concentrations of *quercetin* and *catechin* are determined from the percentage of the two standards in the n-butanol and ether acetate fractions derived from HPLC, respectively. The mass concentration of the two fractions, then the quantity of the two standards treated is compatible with the quantity of *quercetin* and *catechin* in the two fractions. Indeed, this is a first approximation as we do not have the HPLC technique coupled with mass spectrometry. In addition, we were encouraged by the fact that *quercetin* and *catechin* molecules are the major compounds of the fractions (F3 and F6) issued from HPLC technique.

As shown in Fig.6, the current densities of the anodic and cathodic branches have decreased in the presence of F3 and F6 as well as with *catechin* standard which suggest that inhibiting molecules form a protective film onto the metal surface [51]. The cathodic branch, in the absence and presence of F3, F6 and *catechin* gives well defined Tafel lines, which means that the hydrogen evolution reaction is activation controlled. Thus, the reduction of H^+ , at the mild steel interface, essentially takes place through a charge transfer mechanism [52, 53].

For the polarization curves of F3 and the *catechin standard*, it is to be noted that at an overvoltage greater than $-250 \text{ mV}_{\text{Ag}/\text{AgCl}, 3\text{M KCl}}$, the presence of the inhibitor does not modify the characteristics of the potential current when compared to the control. This behavior indicates that in this region the predominance phenomenon is rather desorption of the inhibitor molecules from the metal surface. Therefore, in the vicinity of the corrosion potential and below $-250 \text{ mV}_{\text{Ag}/\text{AgCl}, 3\text{M KCl}}$, it is observed that the increase in inhibitor concentration leads to a decrease in current density. In this case, the rate of adsorption remains even higher than that of the inhibitor desorption [54, 55]. For potentials below $-250 \text{ mV}_{\text{Ag}/\text{AgCl}, 3\text{M KCl}}$ the anodic and cathodic current densities are reduced. It is clear that the increase in F3 concentration and *catechin standard* slightly shifts the E_{corr} values towards larger anodic potentials but the amplitude of the displacement is not enough to determine the type of inhibitor [56, 57].



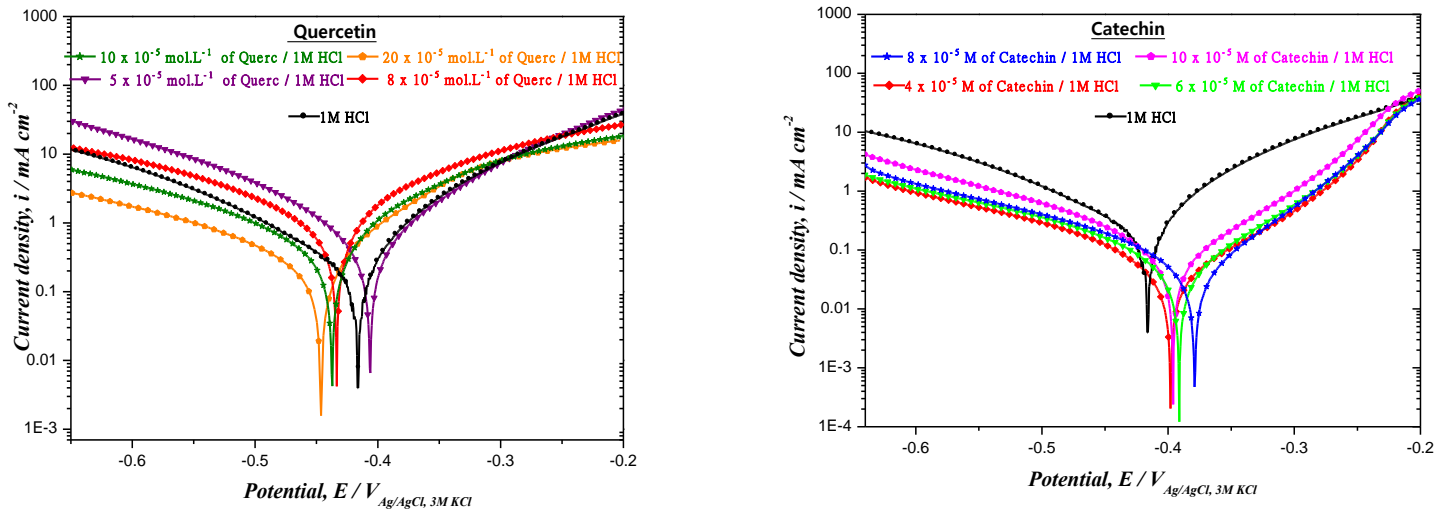


Fig.6. Polarization curves of mild steel in 1M HCl at different concentrations of F3, F6 and *quercetin* as well as *catechin* at 298K.

The largest shift in E_{corr} value for F3 and *catechin* standard is observed at 0.15 gL^{-1} and $10 \times 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$ of 14.8 mV and 45.5 mV , respectively, which are much less than 85 mV then they are called mixed type inhibitors [58]. From Fig.6, it is clear that in the presence of F3 and *catechin*, the cathodic curves are moved towards lower current density with rise of inhibitor concentration. This indicates that the cathodic reaction is mainly delayed by the addition of the inhibitor; therefore, the F3 and *catechin* could be classified as mixed type corrosion inhibitors with predominant control of the cathodic reaction.

For F6, it can be seen that at potentials lower than $-250 \text{ mV}_{Ag/AgCl, 3MKCl}$, the densities of the anodic and cathodic currents decreased in the increase of concentration inhibitor. These results indicate that F6 could be classified as a mixed type inhibitor [59-62]. According to Fig.6, it is noticed that the addition of 5×10^{-5} and $8 \times 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$ of *quercetin* leads to an increase in corrosion current density when compared to the blank, and the curves are located above the cathodic and anodic branches of the blank. At 10×10^{-5} and $20 \times 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$, it is noticed that the curves are located below the cathodic and above the anodic branches of the blank. Thus, *quercetin* will probably play the role of an accelerator of corrosion.

The values of i_{corr} , E_{corr} , cathodic Tafel slopes β_c and Inhibition $pp\%$ obtained by the extrapolation of linear Tafel segments of cathodic curves and R_p obtained by methods of Stern&Geary (S&G) are regrouped in Table 12. The inhibition efficiency derived from potentiodynamic polarization, signified by Inhibition $pp\%$, is calculated by using Eq.(3)[61]:

$$\text{Inhibition}_{pp} \% = \left(\frac{i_{corr} - i_{corr/inh}}{i_{corr}} \right) \times 100 \quad (3)$$

where, i_{corr} and $i_{corr/inh}$ are the corrosion current density values in the absence and presence of F3, F6 and the two standards {*quercetin*, *catechin*}, respectively.

The inhibition efficiency of S&G method given by $\text{Inhibition}_{s\&g} \%$ is calculated from the polarization resistance, using the following Eq.(4) [68]:

$$\text{Inhibition}_{s\&g} \% = \left(\frac{R_{p/inh} - R_p}{R_{p/inh}} \right) \times 100 \quad (4)$$

where, R_p and $R_{p/inh}$ are the polarization resistance values without and with different concentrations of fractions (F3,F6) and standards, respectively.

Table 12 Electrochemical parameters obtained from PP plots after 30 min of immersion time of mild steel immersed in 1 M HCl at different concentrations of fractions and standards.

| | Tafel Data | | | | S&G Data | | |
|--|---------------------|------------|------------|-----------|----------------------------|-------|---------------------------------|
| | C_{inh} | E_{corr} | i_{corr} | β_c | Inhibition _{pp} % | R_p | Inhibition _{S&G} % |
| Blank | 1M HCl | -416.2 | 337.1 | -159.4 | - | 82.2 | - |
| F3 {g L⁻¹} | 0.05 | -393.4 | 190.7 | -158.2 | 43.4 | 219.1 | 62.4 |
| | 0.08 | -402.1 | 167.8 | -183.2 | 50.2 | 222.2 | 63.0 |
| | 0.10 | -388.4 | 122.4 | -166.3 | 63.6 | 273.3 | 69.9 |
| | 0.15 | -401.4 | 88.3 | -163.4 | 73.8 | 358.4 | 77.0 |
| Quercetin standard {mol L⁻¹} | 5×10^{-5} | -433.5 | 1311.7 | -210.7 | -289.1 | 27.5 | -198.9 |
| | 8×10^{-5} | -405.4 | 985.6 | -156.6 | -192.3 | 38.6 | -112.9 |
| | 10×10^{-5} | -437.2 | 574.7 | -202.9 | -70.4 | 55.1 | -49.1 |
| | 20×10^{-5} | -446.3 | 329.5 | -215.7 | -2.2 | 81.4 | -0.9 |
| F6 {g L⁻¹} | 0.05 | -387.9 | 220.6 | -152.2 | 34.5 | 211.1 | 61.1 |
| | 0.08 | -397.7 | 110.8 | -174.3 | 67.1 | 320.2 | 74.3 |
| | 0.10 | -435.2 | 81.5 | -197.9 | 75.8 | 369.3 | 77.7 |
| | 0.15 | -433.2 | 27.1 | -159.1 | 91.9 | 679.1 | 87.9 |
| Catechin standard {mol L⁻¹} | 4×10^{-5} | -391.1 | 99.3 | -197.8 | 70.5 | 392.1 | 79.1 |
| | 6×10^{-5} | -379.4 | 88.8 | -186.2 | 73.6 | 380.2 | 78.3 |
| | 8×10^{-5} | -398.4 | 86.1 | -192.5 | 74.4 | 496.1 | 83.4 |
| | 10×10^{-5} | -370.6 | 48.4 | -167.4 | 85.6 | 598.1 | 86.2 |

where E_{corr} in {mV_{Ag/AgCl, 3M KCl}}, i_{corr} in { $\mu\text{A cm}^{-2}$ }, $|\beta_c|$ in {mV dec⁻¹}, R_p in { $\Omega \text{ cm}^2$ }

From Table 12, it is clear that after the addition of the fractions F3 and F6, the current density i_{corr} decreases dramatically and therefore the inhibition efficiency increases to rich 73.8 % and 91.9 %, respectively. Note that the percentage of inhibition obtained by F6 is higher than that obtained by F3; this can be explained by the higher content of condensed tannins in F6 (Table 4) and by the presence of *catechin* as major molecule in F6 (Fig.5). The inhibiting action of *catechin* can be explained by the presence of oxygen active centers and hydroxyl groups on the aromatic rings. Furthermore, as the medium is strongly acidic (1 M HCl, $pH=0$), the possibility of protonation of the *catechin* is entirely conceivable. However, after a study published by Kennedy et al.[63], four equilibrium constants of acidity were evaluated by spectrophotometry measurements. The different pK_A are as follows (values for *catechin* 8.64 ± 0.01 ; 9.41 ± 0.02 ; 11.26 ± 0.06 ; 13.26 ± 0.05). It therefore emerges from this study that the *catechin* molecule acts exclusively in its neutral form and excludes any possibility of the *catechin* protonation.

According to Table 12, the percentage of inhibition obtained by the addition of *catechin* increases from 70.5 to 85.6 %, indicating that the addition of catechin to the corrosive medium has a significant percentage of inhibition against mild steel degradation. Otherwise, when comparing the inhibition percentage obtained by the same amount of *catechin* with F6, we remark that at 0.15 gL^{-1} of F6 gives comparable inhibition percentage as catechin taken solely at $10 \times 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$. The difference registered remains insignificant and therefore the inhibitory action of F6 is due to the major compound (*catechin*). The inhibition effect of *catechin* observed in the present work is more remarkable than that undertaken elsewhere [64, 65].

It is also noted that F3 has an inhibition and this may be due either to the presence of major molecule (*quercetin*) or to family of flavonoids present in F3. The results showed that quercetin does not play the role of an inhibitor but an accelerator of corrosion. Therefore, percentage of inhibition obtained by addition of F3 is due to the family of flavonoids. The flavonoids compounds contain O-atoms in functional groups (O–H, C=O, C–O), O-heterocyclic rings, and the presence of electron rich multiple bonds which meets the general characteristics of typical corrosion inhibitors. Also, the flavonoids can act as chelating agents due to their binding to the metal ion (M^{n+}) at two sites on the molecule [66]. In this case, the inhibitor molecules could affect the metal dissolution reaction; consequently, it can be deduced that the flavonoids exhibit the inhibition performance. In addition, the values of β_c for the fraction F3, F6 and *catechin* show a slight change with the increase in the different concentrations, indicating that the mechanism of discharge of the

hydrogen evolution is not affected by the inhibitor; therefore, the reaction mechanism remained unchanged, as explained by [67].

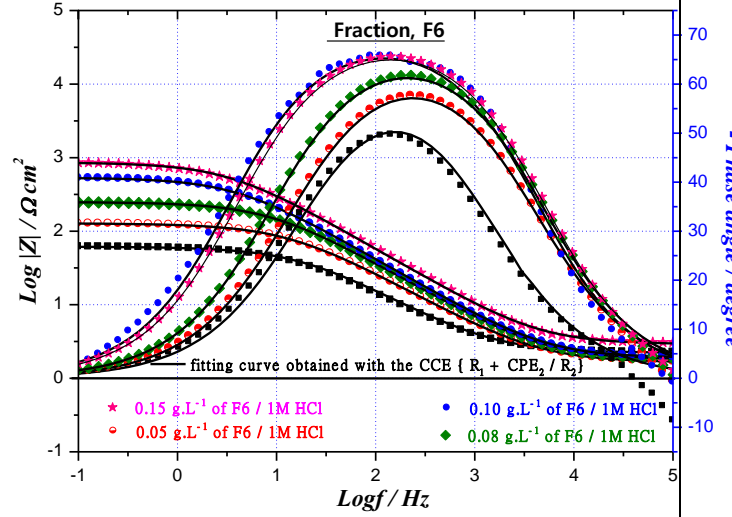
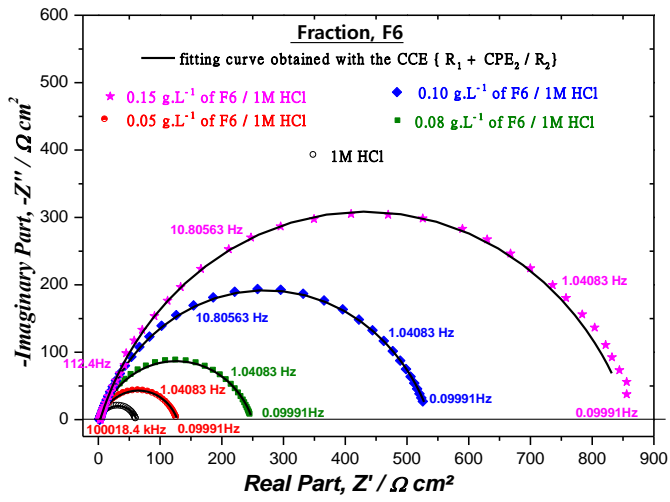
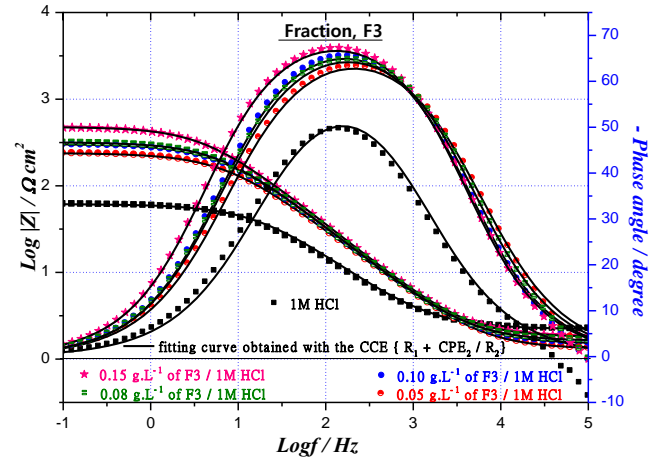
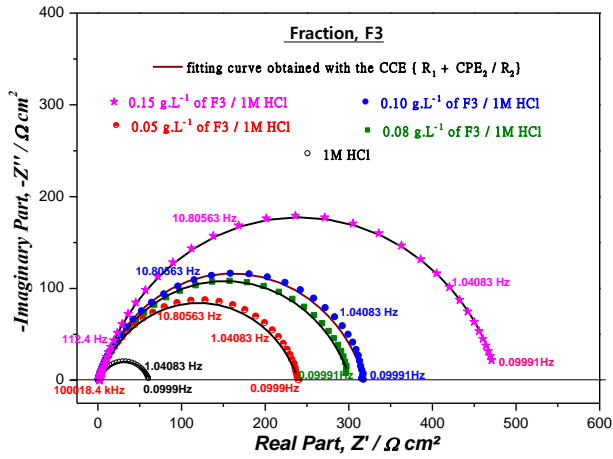
The polarization resistance values R_p and the corresponding percentage inhibition efficiency values Inhibition $s\&G\%$ of mild steel in 1 M HCl, in the absence and presence of various concentrations of fractions and standards, which are determined from Stern&Geary[68], are also listed in Table 12. It can be seen from Table 12 that Inhibition $s\&G\%$ increases with rise of F6, F3 and *catechin* and achieved a maximum value of 87.9, 77.0 and 86.2 % at 0.15 gL^{-1} and $10 \times 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$, respectively. In the opposite, for *quercetin*, the polarization resistance decreases when compared to the blank, which confirms the accelerator effect of *quercetin*.

The difference recorded between the two methods resulting from stationary polarization, takes part at the level of the different approximations on which each of them are based. Indeed, the Tafel method implies a strong polarization of the electrode while the S&G method remains in the immediate vicinity of E_{corr} (weak polarization). In addition, the inhibiting efficiencies derived from the S&G method are in the same trend as those obtained from Tafel method.

V.2. EIS measurements

Fig.7 shows the Nyquist diagrams of mild steel in the absence and presence of inhibitors. The curves represent single capacitive loops indicating the single charge transfer mechanism of corrosion [69]. Increase in the diameter of the Nyquist curves is attributed to increase in magnitude of the charge transfer resistance [70]. The single charge transfer method was further confirmed by single maxima in Bode curves. The higher phase angle values of inhibited Bode curves than that of uninhibited one is attributed due to increase surface smoothness. Increase charge resistance values indicated that studied species inhibit corrosion by adsorption on the metallic surface.

Chapitre III : Effet du solvant et du procédé d'extraction, sur les activités antioxydante et inhibitrice de la corrosion d'un acier doux dans HCl 1M, des extraits de *Ammi visnaga* et de ses fractions phénoliques



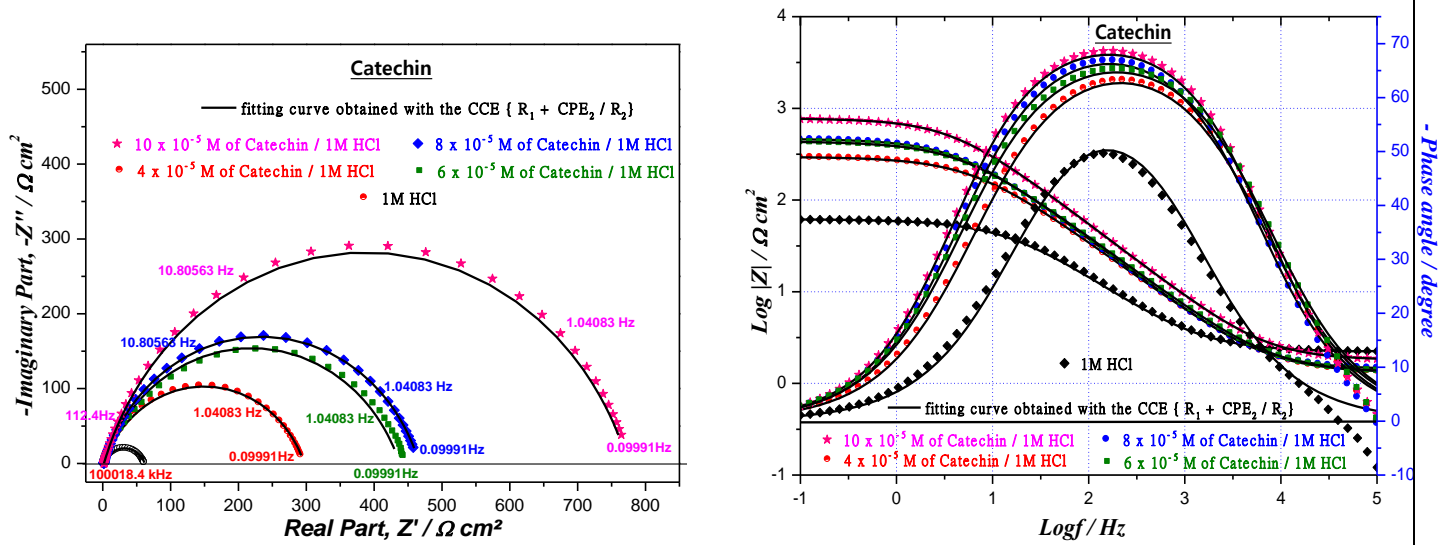


Fig. 7 Nyquist and Bode diagrams of mild steel in 1 M HCl without and with different concentrations of F3, F6 and *catechin* at 298 K

The imperfection in the Nyquist curves from perfect semicircle is due to surface imperfection [71, 72]. The equivalent circuit presented in Fig.8 was used to analyzed EIS data. Where R_1 represents the solution resistance, R_2 the charge transfer and CPE is the constant phase element.

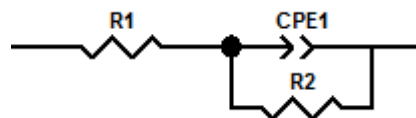


Fig. 8. Equivalent circuit model used to fit EIS experiment data for mild steel in 1 M HCl.

The impedance of CPE is defined by the following Eq.(5) [62]:

$$Z_{CPE} = \frac{1}{A(j\omega)^n} \quad (5)$$

where A is a proportional factor, n is used to estimate surface irregularity resulting from surface roughness, inhibitor adsorption and porous layer formation [62,73], $j^2 = -1$ is the imaginary number and ω is the angular frequency. The percentage inhibition efficiency was measured using the equations described before [62, 73]. The various parameters R_s , R_{ct} , C_{dl} , n , A , χ^2 , Inhibition $EIS\%$ are depicted in Table13. The chi-square χ^2 is used in the EIS method to measure the quality of fitting to the proposed equivalent circuit, in order to evaluate the precision of the fitted data.

As shown in Table 13, R_{ct} which increases with the rise of fractions concentration (F3, F6) and *catechin* standard leads to an increase in the inhibition efficiency. The most important inhibition effect 88 % for F3 and 93 % for F6 fraction are both registered at 0.15 gL^{-1} and at $10 \times 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$, the *catechin* standard solely reach 92 %. This can be explained by the fact that the total amount of adsorption and the amount of inhibitor coverage onto the steel surface increases with increasing inhibitor concentration [61]. It should be noted that the F3 generates an inhibitory action against corrosion due to presence of flavonoids family but this efficiency remains less important than that obtained by F6 too rich in condensed tannins (*catechin* major molecule). On the other hand, there is no significant difference between the inhibition efficiency obtained by F6 and *catechin*, which can stipulate that the *catechin* molecules are responsible of the corrosion inhibition caused by F6.

Table 13 EIS parameters and inhibition efficiency for mild steel in 1 M HCl at different concentrations of fractions F3, F6 and standard (*catechin*)

| | C_{inh} | R_s | R_{ct} | A | n | C_{dl} | τ | χ^2 | Inhibition $\eta_{EIS} \%$ |
|-----------------------------|---------------------|-------|----------|-------|-------|----------|--------|----------|-------------------------------|
| Blank | 1M HCl | 1.1 | 58 | 373.3 | 0.767 | 118 | 8.1 | 0.01 | - |
| F3 {gL⁻¹} | 0.05 | 1.3 | 238.3 | 204.3 | 0.783 | 88.6 | 21.1 | 0.032 | 75 |
| | 0.08 | 1.5 | 302.4 | 175.6 | 0.795 | 82.7 | 25.0 | 0.025 | 80 |
| | 0.10 | 1.6 | 317.3 | 166.0 | 0.805 | 81.5 | 25.8 | 0.023 | 81 |
| | 0.15 | 1.8 | 478.2 | 146.1 | 0.813 | 79.3 | 37.9 | 0.021 | 88 |
| F6 {gL⁻¹} | 0.05 | 1.6 | 126.4 | 265.3 | 0.763 | 92.4 | 11.6 | 0.022 | 53 |
| | 0.08 | 1.8 | 248.0 | 177.4 | 0.778 | 74.1 | 18.3 | 0.017 | 76 |
| | 0.10 | 1.9 | 536.1 | 145.1 | 0.791 | 73.9 | 39.6 | 0.014 | 89 |
| | 0.15 | 2.9 | 858.5 | 104.6 | 0.793 | 55.8 | 47.9 | 0.107 | 93 |
| Catechin | 4×10^{-5} | 1.3 | 295.9 | 193.3 | 0.773 | 83.7 | 24.7 | 0.035 | 80 |
| standard | 6×10^{-5} | 1.3 | 436.2 | 160.0 | 0.783 | 76.6 | 33.4 | 0.037 | 86 |
| {mol L⁻¹} | 8×10^{-5} | 1.4 | 465.2 | 149.6 | 0.801 | 77.3 | 35.6 | 0.032 | 87 |
| | 10×10^{-5} | 1.8 | 778.6 | 96.2 | 0.812 | 52.9 | 41.8 | 0.022 | 92 |

where R_s & R_{ct} in $\{\Omega \text{ cm}^2\}$, Q in $\{\mu\text{F s}^{-1} \text{ cm}^{-2}\}$, C_{dl} in $\{\mu\text{F cm}^{-2}\}$, τ in $\{\text{ms}\}$

The double layer capacitance C_{dl} decreases with the increase in concentration of fractions (F3, F6) and *catechin*. Therefore, higher C_{dl} value in uninhibited medium when compared to those found in the inhibited media (F3, F6, *catechin*) may be associated with a decrease in the dielectric constant and/or the increase in the thickness of the layer due to the

displacement of ions and water molecules originally adsorbed onto the surface by inhibiting molecules [59].

From Table 13, it can be seen that the values of n increase compared to the blank solution, where n is defined as a measure of surface heterogeneity, which can be explained by the formation of a greater number of uniform surface species through adsorbed inhibitors [74, 75]. In terms of several studies focused on corrosion inhibition of certain plant extracts in various acidic media for example; the ethanolic extract of *Ammi visnaga* has been studied as a source of green inhibitor for mild steel corrosion in 1 M HCl gives a maximum inhibition efficiency of 90 % at 0.3 gL⁻¹[11]. The use of *Thymus vulgaris* extract as an inhibitor gives an inhibition efficiency of 62 % at 2 gL⁻¹[76]. The highest inhibition efficiency demonstrated by *Black pepper* extract for mild steel in 1 M HCl solution has been reported as greater than 95 % at 2 gL⁻¹[16]. Therefore, based on these data and the present results, it is noted that the extract of tannins gives a good corrosion inhibition when compared to other studies {93 % at only 0.15 gL⁻¹}.

V.3. Adsorption isotherms

In this study, the most commonly used adsorption isotherms are tested to fit the experimental data, such as *Langmuir*, *Temkin*, *El-Awady* as well as *Freundlich*. The values of θ corresponding to different values of *catechin* standard at 298 K are determined from electrochemical impedance spectroscopy θ_{EIS} according to Equation (7). The conventional and linear forms of isotherms are presented in Table 14.

Table 14 Conventional and linearized forms of the most commonly adsorption isotherms.

| Isotherm | Conventional form | Linear form |
|-------------------|--|---|
| <i>Langmuir</i> | $(\theta / 1 - \theta) = K_{ads} C_{inh}$ [77] | $C_{inh} / \theta = 1 / K_{ads} + C_{inh}$ |
| <i>Temkin</i> | $\exp(-2a\theta) = K_{ads} C_{inh}$ [78] | $\theta = \{-1 / 2a\} \ln(K_{ads}) + \{-1 / 2a\} \ln(C_{inh})$ |
| <i>El-Awady</i> | $(\theta / 1 - \theta)^{1/y} = K_{ads} C_{inh}$ [79] | $\log(\theta / 1 - \theta) = y \log(K_{ads}) + y \log(C_{inh})$ |
| <i>Freundlich</i> | $\theta = K_{ads} (C_{inh}^q)$ [80] | $\ln \theta = \ln(K_{ads}) + q \ln(C_{inh})$ |

The standard free energy of adsorption, ΔG_{ads}° was calculated according to Eq.(8)[81]:

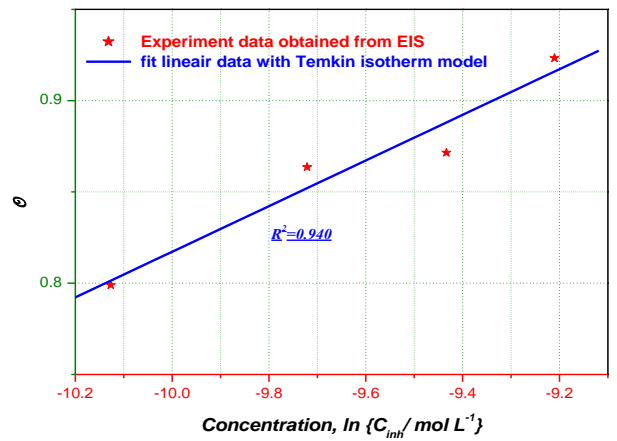
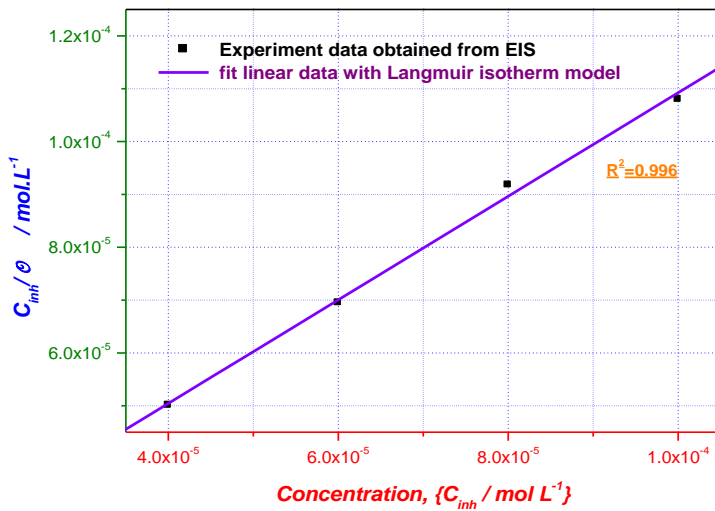
$$\Delta G_{ads}^{\circ} = -RT \ln(55.5 K_{ads}) \quad (8)$$

where R ($J K^{-1} mol^{-1}$) is the universal gas constant, $T(K)$ is the thermodynamic temperature, K_{ads} is the adsorption/desorption equilibrium constant and 55.5 molL⁻¹ is used for molar concentration of water in solution.

Figure 9 exemplifies different adsorption isotherm models using EIS technique. The adsorption parameters deduced from (*Langmuir, Temkin, El-Awady and Freundlich*) isotherms are recorded in Table 15.

Table 15 Adsorption parameters deduced from linearizing various adsorption isotherms for mild steel corrosion in 1 M HCl in the presence of *catechin* at 298 K.

| Isotherm | $K_{ads}/ \text{L.mol}^{-1}$ | $\Delta G^{\circ}_{ads}/ \text{kJ.mol}^{-1}$ | R^2 | Isotherm property | |
|------------|------------------------------|--|-------|-------------------|-------|
| Langmuir | $8.89 \cdot 10^4$ | -38.20 | 0.996 | Slope | 0.98 |
| Temkin | $1.52 \cdot 10^7$ | -50.90 | 0.940 | a | -4.00 |
| El-Awady | $8.66 \cdot 10^4$ | -38.10 | 0.904 | $1/y$ | 0.91 |
| Freundlich | 3.51 | -13.10 | 0.942 | q | 0.14 |



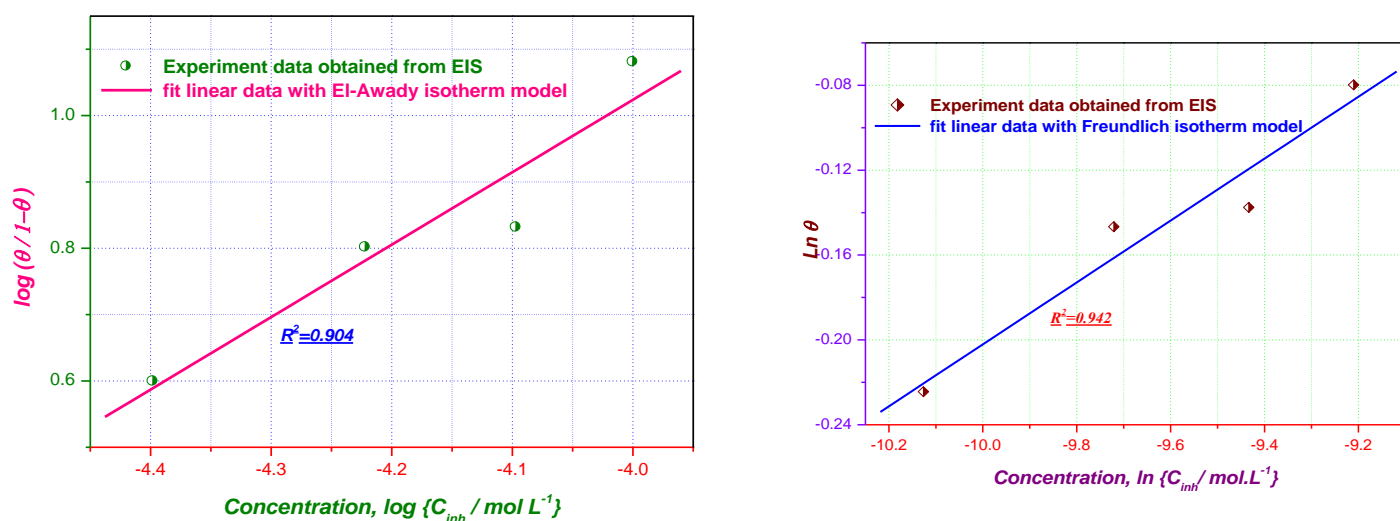


Fig. 10 Plots of the adsorption isotherm models of *catechin* for mild steel surface in 1 M HCl at 298 K obtained from EIS data

At first glance, examination of Table 15 reveals that the values of the determination coefficients R^2 are entirely acceptable for all of the four undertaken isotherms. Notwithstanding the greatest value of $\{R^2 = 0.996\}$ for the *Langmuir* isotherm with a slope very near unity, this model is ruled out [82, 81]. In fact, *Langmuir* isotherm is based on the fact that the adsorbent (mild steel) surface is uniform; that is, all adsorption sites are equivalent along with the fact that the inhibitor molecules do not interact between them and also an inhibitor molecule displaces only one water molecule from the mild steel surface.

In contrast, from EIS measurements, the values of heterogeneity coefficients n range from 0.773 to 0.812 (Table 13.); i.e., less than unity. These findings plead in favor of heterogeneity of the surface or a non-ideal mild steel/solution interface that is why it was taken into account a CPE instead of simple double layer capacitance when modeling the interface by an equivalent electrical circuit.

Table 15 exemplifies, among other parameters, the values of K_{ads} , for all isotherms except for *Freundlich* model; reflect an indication of favorable adsorption. The reciprocal value of y , taken from *El-Awady* model, is 0.91. This value is approximately unit which implies that one water molecule is substituted by one *catechin* molecule attached to one active site on the mild steel surface in the course of the inhibition process. Meanwhile, the negative

sign of the intermolecular interaction parameter in the adsorption film $\{a = -4\}$, derived from *Temkin* isotherm, specifies highly attractive lateral interactions in the adsorbed film, contrary to what the *Langmuir* isotherm suggests.

The value of q equal 0.14 is too far from the typical value of 0.6 implying that the adsorption cannot be modeled by the *Freundlich* adsorption isotherm in spite of the higher values of the determination coefficient $\{R^2 = 0.942\}$ [83]. Additionally, $\{K_{ads} = 3.51 \text{ L mol}^{-1}\}$ issued from this model is too lower when compared to the other isotherms (Table 15). This finding disagrees with the higher values of inhibiting efficiencies proving a real surface coverage. The adsorption of *catechin* follows chemisorptions mechanisms ΔG_{ads}° Was greater than 40 kJmol^{-1} [84].

V.4. Overview on antioxidant and anticorrosion activities of *Ammi visnaga*

The valorization of various extracts of *Ammi visnaga* in both antioxidant and anticorrosive activities were reported by few researchers [14-16, 85-88]. Table 16 collects the inhibiting efficiencies of extracts, derived from EIS corrosion tests, at the optimum concentration, on different materials matrix, in acidic media as well as the IC_{50} values derived from *DPPH* method.

It is apparent from Table 16 that the inhibiting efficiencies as well as the IC_{50} , reflecting the antioxidant effect, of the different *Ammi visnaga* extracts are closely related to the extraction method. It can be seen that change in the solvents and parts of the plant for extract preparation greatly affect the protection efficiency [84,16]. At the end of our last study [16], we were able to conclude that the polyphenolic compounds (flavonoids and tannins) are behind the antioxidant and anticorrosive behaviors of the ethanol extracts of *Ammi visnaga*. The extraction was achieved using solvents of different polarity in order to get maximum extraction [14]. It is important to mention that the change in the extraction method has very little effect on the inhibitory efficacy. On the other hand, with the soxhlet method the attribution of antioxidant and anticorrosive properties was summarily linked to polyphenols without any distinction between flavonoids and tannins. To assert this hypothesis, a fractionation of polyphenols, using the maceration method was undertaken to separate the flavonoids from the condensed tannins.

Table 16. Different properties of *Ammi visnaga* extracts in terms of anti-corrosion and antioxidant activities

| <i>Ammi visnaga</i> extract | Material matrix | Corrosive medium | Optimum concentration | Inhibition efficiency | Extraction method | Part of plant | IC ₅₀ | Ref. |
|-----------------------------|-----------------|------------------|------------------------|-----------------------|--------------------|---------------|--------------------------|------|
| Aqueous | SX 316 | 2 M HCl | 0.30 g L ⁻¹ | 98.27% | Steam distillation | Seed | - | [15] |
| Methanolic | Mild steel | 1 M HCl | 1.00 g L ⁻¹ | 84.00 % | Soxhlet | Seed | - | [85] |
| Ethanolic | Mild steel | 1 M HCl | 0.30 g L ⁻¹ | 90.45% | Soxhlet | Aerial part | 2.82 (BHT=0.27 mg/mL) | [16] |
| Ethanolic | Mild steel | 1 M HCl | 0.01 g L ⁻¹ | 89.13% | Ultrasound | Aerial part | 2.40 (BHT=0.27 mg/mL) | [14] |
| Aqueous | Mild steel | 1 M HCl | 0.01 g L ⁻¹ | 84.14% | Ultrasound | Aerial part | 3.05(BHT=0.27 mg/mL) | [14] |
| Hydro-ethanolic | Mild steel | 1 M HCl | 0.01 g L ⁻¹ | 91.94% | Ultrasound | Aerial part | 1.70 (BHT=0.27 mg/mL) | [14] |
| Aqueous | - | - | - | - | Decoction | Aerial part | 3.50 (BHT=0.17 mg/mL) | [86] |
| Hydro-ethanolic | - | - | - | - | Soxhlet | Aerial part | 3.19(BHT=0.17 mg/mL) | [86] |
| Methanolic | - | - | - | - | Soxhlet | Aerial plant | 0.006(Trolox=1.5µg/mL) | [87] |
| Butanolic | - | - | - | - | Soxhlet | Aerial part | 0.00877(Rutin=3.01µg/mL) | [88] |

VI. Conclusions

The objective of this study was to determine the levels of phenolic compounds {*TPC*, *FC* and *CT*} and the antioxidant activity of the different fractions and subsequently to determine the anticorrosive activity of the fractions with high phenolic compound levels as well as two standards that present the major compounds in the n-butanol and ethyl acetate fraction.

The n-butanol fraction demonstrated the highest total phenolic and flavonoids content exhibited the highest antioxidant compared to other fraction of flavonoids. The ethyl acetate fraction {fraction of tannins} showed the highest content of condensed tannins and total phenolic compared to n-butanol fraction; also the highest antioxidant activity was demonstrated by four methods.

The HPLC technique confirmed the presence of *quercetin* and *catechin* in n-butanol and ethyl acetate fraction, respectively. The highest inhibition efficiency calculated from EIS results was obtained for ethyl acetate fraction {93.2 % at 0.15 g L⁻¹}. The polarization curves indicated that *quercetin* acted as an accelerator and *catechin* was the major molecule responsible for inhibition and acted as mixed-type inhibitor with predominant control of cathodic reaction. Also, the F3 and F6 fractions were mixed-type inhibitors. The adsorption isotherm of *catechin* molecules responsible for inhibiting corrosion of the F6 fraction on the mild steel surface was found to obey to *Temkin* and *El-Awady* isotherm models with chemisorption process.

Conflicts of interest: Authors declare that there is no conflict of interest at anyway.

REFERENCES

1. Y. Chen, S. Zheng, J. Zhou, P. Wang, L. Chen, Y. Qi "Influence of H₂S interaction with prestrain on the mechanical properties of high-strength X80 steel ", *Inter. J. Hydr. Ener.*, vol. 41, pp.10412-10420, 2016.
2. F. Javidan, A. Heidarpour, X.L. Zhao, J. Minkkinen "Application of high strength and ultra-high strength steel tubes in long hybrid compressive members: Experimental and numerical investigation", *Thin-Walled Structures*, vol. 102, pp.273-285, 2016.
3. C. Verma, E.E. Eben, I. Bahadur, M.A.Quraishi "An overview on plant extracts as environmental sustainable and green corrosion inhibitors for metals and alloys in aggressive corrosive media", *J.Mol. Liq.*, vol. 266, pp. 577-590, 2018.

4. D.C. Costa, H. Costa, T.G.Albuquerque, F.Ramos, M.C.Castilho, A.Sanches-Silva, "Advances in phenolic compounds analysis of aromatic plants and their potential applications", *Trends Food Sci. & Tech.*, vol. 45, no.2, pp. 336-354,2015.
5. M. Mari, S. Bautista-Banos, D. Sivakumar, "Decay control in the postharvest system: Role of microbial and plant volatile organic compounds", *Postharvest Biol. Tec.*, vol. 122, pp.70-81, 2016.
6. R.T. Loto, C.A. Loto, O. Joseph, G. Olanrewaju, "Adsorption and corrosion inhibition properties of thiocarbanilide on the electrochemical behavior of high carbon steel in dilute acid solutions", *Results Phys.*, vol. 6, pp.305-314,2016.
7. M. Dehdab, Z. Yavari, M. Darijani, A. Bargahi, "The inhibition of carbon-steel corrosion in seawater by streptomycin and tetracycline antibiotics: An experimental and theoretical study", *Desalination*, vol.400, pp.7-17, 2016.
8. L.H. Madkour, S. Kaya, C. Kaya, G.Lei, "Quantum chemical calculations, molecular dynamics simulation and experimental studies of using some azo dyes as corrosion inhibitors for iron. Part 1: Mono-azo dye derivatives", *J. Taiwan Inst. Chem. E.*, vol. 68, pp. 461-480, 2016.
9. A. Zarrouk, H. Zarrok, Y. Ramli, M. Bouachrine, B.Hammouti, A.Sahibed-dine, F.Bentiss, "Inhibitive properties, adsorption and theoretical study of 3,7-dimethyl-1-(prop-2-yn-1-yl) quinoxalin-2(1H)-one as efficient corrosion inhibitor for carbon steel in hydrochloric acid solution", *J. Mol. Liq.*, vol.222, pp.239-252,2016.
10. D. Snihirova, S. Lamaka, P. Taheri, J.M.C.Mol, M.F.Montemor, "Comparison of the synergistic effects of inhibitor mixtures tailored for enhanced corrosion protection of bare and coated AA2024-T3", *Surf. Coat. Technol.*, vol. 303, pp. 342-351,2016.
11. M. Dahmani, A. Et-Touhami, S.S. Al-Deyab, B. Hammouti, A. Bouyanzer, "Corrosion Inhibition of C38 Steel in 1 M HCl: A Comparative Study of Black Pepper Extract and Its Isolated Piperine", *Int. J. Electro. Sci.*, vol. 5, pp. 1060-1069, 2010.
12. S. Garai, P. Jaisankar, J.Singh, A. Elango, "A comprehensive study on crude methanolic extract of *Artemisia pallens* (Asteraceae) and its active component as effective corrosion inhibitors of mild steel in acid solution", *Corros. Sci.*, vol. 60,pp. 193-204,2012.
13. L. Bammou, M. Belkhaouda, R. Salghi, B. Omar, A. Zarrouk, H. Zarrok, B. Hammouti, "Corrosion inhibition of steel in sulfuric acidic solution by the *Chenopodium Ambrosioides* Extracts", *J. Associat. Arab Univer. Basic & Appl. Sci.*, vol.16, pp.83-90, 2014.

14. S. Aourabi, M. Driouch, M. Sfaira, F. Mahjoubi, " Influence of Phenolic Compounds on Antioxidant and Anticorrosion Activities of Ammi visnaga Extracts Obtained Ultrasonically in Three Solvent Systems", *Int. J. Electrochem. Sci.*, vol.14, pp. 6376-6393,2019.
15. A. Y.El-Etre, "Khillah extract as inhibitor for acid corrosion of SX 316 steel ",*Appl. Surf. Sci.*, vol.252, pp.8521-8525, 2006.
16. S. Aourabi, M. Driouch, K. Ammor, M.Sfaira, M. EbnTouhami, F. Mahjoubi, "Evaluation of Anticorrosion and Antioxidant Activities of Ethanolic Extract of *Ammi Visnaga* ", *ANAL. BIOANAL. ELECTRO.VOL.10*, PP.912-929,2018.
17. A.N.B. Singab, "Acetylated flavonol triglycosides from *Ammi majus* L ", *Phytochem*, vol. 49, pp. 2177-2180,1998.
18. Y. Ezzoubi, F. El-Akhal, A. Farah, E.L. Abdelhakim, "Phytochemical Screening and Larvicidal Activity of Moroccan *Ammi visnaga* against Larvae West Nile Vector Mosquito *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) ", *IJPPR*, vol.8, pp.1684-1688,2016.
19. A. Mahmoud, Al-Qudah, "Inhibition of Copper Corrosion by Flavonoids in Nitric Acid ", *J. Chem.*, vol.8, pp.326-332,2011.
20. P.E. Hazlewood, P.M. Singh, J.S. Hsieh, "Role of Wood Extractives in Black Liquor Corrosiveness",*Corros.*, vol. 62,pp.911-917,2006.
21. H. MacLean, J.A.F. Gardner, "Heartwood extractives in digester corrosion ", *Pulp Paper Mag. Can*, vol.54, pp.125-130, 1953.
22. S. Kannan, R.G .Kelly, "The role of dihydroxybenzenes and oxygen on the corrosion of steel in black liquor ", *Corros. Sci.*, vol.38, pp.1051-1069, 1996.
23. P.M. Singh, A. Anaya, "Effect of wood species on corrosion behavior of carbon steel and stainless steels in black liquors ",*Corros. Sci.*, vol. 49, pp.497-509, 2007.
24. P.M. Singh, A. Anaya, K. Frey, J. Mahmood, "presented at the10th International Symposium on Corrosion in the Pulp and Paper Industry (10th ISCPPI) ", *VTT, Helsinki, Finland*, vol. 2, pp. 409-425, 2001.
25. P.M. Singh, A. Anaya, "presented at corrosion, Houston, Texas ", pp.11-16, 2001.
26. E.E.Oguzie, "Evaluation of the inhibitive effect of some plant extracts on the acid corrosion of mild steel", *Corros. Sci.*, vol.50, pp.2993-2998, 2008.
27. A.A. Rahim, E. Rocca, J. Steinmetz, M.J. Kassim, "Inhibitive action of mangrove tannins and phosphoric acid on pre-rusted steel via electrochemical methods", *Corros. Sci.*, vol.50, pp. 1546-1550, 2008.

28. I. Radojcic, K. Berkovic, S. Kovac, J. Vorkapic-Furac, "Natural honey and black radish juice as tin corrosion inhibitors ", *Corros. Sci.*, vol.50, pp. 1498-1504, 2008.
29. W.T. Kang, M.K. Jain, "A correlation study on the phenolic profiles and corrosion inhibition properties of mangrove tannins (*Rhizophora apiculata*) as affected by extraction solvents", *Corros. Sci.*, vol.53, pp. 569-574, 2011.
30. M.H. Ghahremani, F. Dashti, D. Dastan, H. Mumivand, J. Hadian , M. Esna-Ashari , "Antioxidant and antimicrobial activities of Iranian mooseer (*Allium hirtifolium* Boiss) populations", *Hortic. Environ. Biote*, vol.53, pp.116-122, 2012.
31. B.Zerga, B.Hammouti, M. EbnTouhami, R. Touir, M.Taleb, M.Sfaira, M. Bennajeh, I. Forssal, "Comparative inhibition study of new synthesized pyridazine derivatives towards mild steel corrosion in hydrochloric acid. Part-II: thermodynamic proprieties ", *Int. J. Electrochem. Sci.*, vol. 7, pp.471-481, 2012.
32. K.R. Markham, M. Chari, T.J. Mabry, "The Flavonoids-Advances in Research" (Harborne, J.B., and Mabry, T.J., eds), pp. 9-134. Chapman and Hall, London, 1982.
33. S.Y.Zhang, C.G.Zheng, X.Y.Yan, W.X. Tian, "Low concentration of condensed tannins from catechu significantly inhibits fatty acid synthase and growth of MCF-7 cells", *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol.371, pp. 654-658, 2008.
34. A.Diallo, Thèse de pharmacie. Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie (Fmpos). Université de Bamako (2005).
35. Q. Liu, H.Y.Yao, "Antioxidant activities of barley seeds extracts ", *Food Chem.*, vol.102, pp.732-737, 2007.
36. C.C.Chang, M.H.Yang, H.M.Wen, J.C. Chern, "Estimation of total flavonoids content in propolis by two complementary colorimetric methods", *J. Food Drug Anal.*, vol. 10, pp.178-182,2002.
37. B. Sun, J.M. Richardo-Da-Silvia, I. Spranger, "Critical factors of vanillin assay for catechin and proanthocyanidins ", *J. Agric. Food Chem.*, vol.46, pp.4267-4274, 1998.
38. R.G.O. Rumbaoa, D.F. Cornago, I.M. Geronimo, "Phenolic content and antioxidant capacity of Philippine potato (*Solanum tuberosum*) tubers", *J. Food Compos. Anal.*, vol.22, pp. 546-550, 2009.
39. A. Moure, D.Franco, J. Sineiro, H. Domínguez, M.J. Núñez, J.M. Lema, "Evaluation of extracts from *Gevuina avellana* hulls as antioxidants", *J. Agric. Food Chem.*, vol. 48, pp.3890-3897, 2000.

40. M. Oyaizu, "Studies on products of browning reactions: Antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine ", *Japan J. Nutr.*, vol.44, pp.307-315, 1986.
41. P. Prieto, M. Pineda, M. Aguilar, "Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E ", *Anal. Biochem.*, vol.269, pp.337-341, 1999.
42. J. Liu, C. Wang, Z. Wang, C. Zhang, S. Lu, J. Liu, "The antioxidant and free-radical scavenging activities of extract and fractions from corn silk (*Zea mays* L.) and related flavone glycosides ", *Food Chem.*, vol.126, pp.261-269, 2011.
43. K. Fadil, S. Amalich, S.K. N'dedianho, M. Bouachrine, M. Mahjoubi, F. El Hilali, T. Zair "Polyphenols content and antioxidant activity of two species from Moroccan High Atlas: *Rosmarinus officinalis* and *Thymus satureioides* ", *Inter.J.Innov. Sci.Res.*, vol.17, pp.24-33, 2015.
44. H. Baig, D. Ahmed, S. Zara, M. Ikram Aujla, M.N. Asghar, "In vitro Evaluation of Antioxidant Properties of Different Solvent Extracts of *Rumex acetosella* leaves ", *Oriental J. Chem.*, vol. 27, pp.1509-1516, 2011.
45. S.T. Chang, J.H. Wu, S.Y. Wang, P.L. Kang, N.S. Yang, L.F. Shyur, "Antioxidant activity of extracts from *Acacia confusa* bark and heartwood", *J. Agric. Food Chem.*, vol.49, pp.3420-3024, 2001.
46. S. Rahnama, Z. Rabiei, Z. Alibabaei, S. Mokhtari, M. Rafieian-Kopaei, F. Deris, "Anti-amnesic activity of *Citrus aurantium* flowers extract against scopolamine-induced memory impairments in rats ", *Neurol. Sci.*, vol.36, pp.553-560, 2015.
47. H. Shirzad, F. Taji, M. Rafieian-Kopaei, "Correlation between antioxidant activity of garlic extracts and WEHI-164 fibrosarcoma tumor growth in BALB/c mice ", *J. Med. Food*, vol.14, pp.969-974, 2011.
48. S. Rakic, S. Petrovic, J. Kukic, M. Jadranin, V. Tešević, D. Povrenović, S. Šiler-Marinković, "Influence of thermal treatment on phenolic compounds and antioxidant properties of oak acorns from Serbia ", *Food Chem.*, vol.104, pp. 830-840, 2007.
49. S. M. Nabavi, M. A. Ebrahimzadeh, S.F. Nabavi, F. Bahramian, "Pharmacognosy Magazine ", vol.4 pp.123-127, 2009.
50. S. Moein, B. Farzami, S. Khaghani, M.R. Moein, B. Larijani, "Antioxidant properties and prevention of cell cytotoxicity of *Phlomis persica* Boiss", *DARU*, vol.15, pp.83-90, 2007.

51. X. Zheng, S. Zhang, W. Li, L. Yin, J. He, J. Wu, "Investigation of 1-butyl-3-methyl-1H-benzimidazolium iodide as inhibitor for mild steel in sulfuric acid solution", *Corros. Sci.*, vol.80, pp. 383-392, 2014.
52. A.Y. Musa, A.A.H. Kadhum, A.B. Mohamad, A.S. Takrif, "Experimental and theoretical study on the inhibition performance of triazole compounds for mild steel corrosion", *Corros. Sci.*, vol.52, pp.3331-3340, 2010.
53. L. Li, X. Zhang, J. Leiet, J. He, S. Zhang, F. Pan, "Adsorption and corrosion inhibition of Osmanthus fr agran leaves extract on carbon steel", *Corros. Sci.*, vol.63, pp.82-90, 2012.
54. J. Wang, C. Cao, J. Chen, M. Zhang, "Anodic desorption of inhibitors", *J. Chinese Soc. Corros. Prot.*, vol.15, pp. 241-248, 1995.
55. Y. Feng, K.S. Siow, W.K. Teo, A.K. Hsieh, "The synergistic effects of propargyl alcohol and potassium iodide on the inhibition of mild steel in 0.5 M sulfuric acid solution", *Corros. Sci.*, vol.41, pp.829-, 852, 1999.
56. H.Y. Bentrach, A.Ch Rahali, A. Chala, "Gum arabic as an eco-friendly inhibitor for API 5L X42 pipeline steel in HCl medium", *Corros. Sci.*, vol.82, pp.426-431, 2014.
57. N.Soltani, N.Tavakkoli, M. Khayatkashani, M.Reza Jalali, A.Mosavizade, "Green approach to corrosion inhibition of 304 stainless steel in hydrochloric acid solution by the extract of Salvia of cinalis leaves", *Corros. Sci.*, vol.62, pp. 122-135, 2012.
58. O.L.J. Riggs, C.C. Nathan, "Corrosion Inhibitors", 2nd Edition, Nace, Houston, TX, 1973.
59. Z. Zhang, N. Tian, X. Li, L. Zhang, L. Wu, Y. Huang, "Synergistic inhibition behavior between indigo carmine and cetyltrim ethyl ammonium bromide on carbon steel corroded in a 0.5 M HCl solution", *Appl. Surf. Sci.*, vol.357, pp. 845-855, 2015.
60. C. Verma, A.Singh, G. Pallikonda, M. Chakravarty, E.E. Ebenso, "Arylsulfon amide methyl phosphonates as new class of green corrosion inhibitors for mild steel in 1 M HCl: Electrochemical, surface and quantum chemical investigation", *J.Mol. Liq.*, vol. 209, pp. 306-315, 2015
61. V. Rajeswari, D. Kesavan, P. Viswanathamurthi, K. Poonkuzhali, T. Palvannan, "Corrosion inhibition of *Eleus inaeegyptiaca* and *Croton rottleri leaf* extracts on cast iron surface in 1 M HCl medium", *Appl. Surf. Sci.*, vol.314, pp.537-545, 2014.
62. S.A. Umoren, Y .Li, F.H. Wang, "Electrochemical study of corrosion inhibition and adsorption behavior for pure iron by polyacrylamide in H₂SO₄: synergistic effect of iodide ions", *Corros. Sci.*, vol.52, pp. 1777-1786, 2010.

63. P.B. Raja, M.G. Sethuraman, "Inhibitive effect of black pepper extract on the sulphuric acid corrosion of mild steel", *Mater. Lett.*, vol. 62, pp.2977-2979, 2008.
64. F.Bentiss, M.Traisnel, M.Lagrenée, "The substituted 1,3,4-oxadiazoles: a new class of corrosion inhibitors of mild steel in acidic media ", *Corros. Sci.*, vol. 42, pp. 127-146, 2000.
65. K.W. Tan, M.J. Kassim, C.W .Oo, "Possible improvement of catechin as corrosion inhibitor in acidic medium", *Corros. Sci.*, vol.65, pp. 152-162, 2012.
66. P.Budni, F.C.Petronilho, V.Citadini-anette, C.Marcondes, A.N.Zoch, F.H.Reginato, F.Dal-Pizzol, "Estudos Preliminares da Atividade Antioxydante do Extrato Hidroetanólico de Folhas Jovens e Adultas de *Tabebuiaheptaphylla* (Vell.) Toledo (ipê-roxo)", *Acta Pharm. Bonaer.*, vol.26, pp.394-398, 2007.
67. R. Solmaz, G. Kardaş, M. Çulha, B. Yazıcı, M. Erbil, "Investigation of adsorption and inhibitive effect of 2-mercaptopthiazoline on corrosion of mild steel in hydrochloric acid media ", *Electrochim. Acta.*, vol.53, pp.5941-5952, 2008.
68. M.Stern, AL .Geary, "Electrochemical Polarization: I. A Theoretical Analysis of the Shape of Polarization Curves ", *J. Electrochem. Soc.*, vol.104, pp.53-56, 1957.
69. X. Li, S.Deng, H.Fu, "Inhibition of the corrosion of steel in HCl, H₂SO₄ solutions by bamboo leaf extract ", *Corros. Sci.*, vol.62, pp.163-175, 2012.
70. X. Li, S. Deng, H. Fu, X. Xie, "Synergistic inhibition effects of bamboo leaf extract/major components and iodide ion on the corrosion of steel in H₃PO₄ solution ", *Corros. Sci.*, vol.78, pp.29-42, 2014.
71. K.R. Ansari, M.A. Quraishi, "Bis-Schiff bases of isatin as new and environmentally benign corrosion inhibitor for mild steel ", *J. Ind. Eng. Chem.*, vol.20, pp.2819-2827, 2014.
72. N.Soltani, N.Tavakkoli .K. Kashani, A.Mosavizadeh, E.E.Oguzie, M.R.Jalali, "Silybum marianum extract as a natural source inhibitor for 304 stainless steel corrosion in 1 M HCl ", *J. Ind. Eng. Chem.*, vol. 20, pp.3217-3229, 2014.,
73. S.Deng, X.Li, "Inhibition by Jasmin umnudiflorum Lindl. Leaves extract of the corrosion of aluminum in HCl solution ", *Corros. Sci.* vol. 64, pp.253-262, 2012.
74. O.K. Abiola, A.O.James, "The effects of Aloe vera extract on corrosion and kinetics of corrosion process of zinc in HCl solution ", *Corros. Sci.*, vol.52, pp.661-664, 2010.
75. R.P. Bothi, A.K. Qureshi, A.A. Rahim, H. Osman, K. Awang, "Neolamarckia cadamba alkaloids as eco-friendly corrosion inhibitors for mild steel in 1M HCl media ", *Corros. Sci.*, vol. 69, pp.292-301, 2013.

76. A. Ehsani, M.G. Mahjani, M. Hosseini, R. Safari, R. Moshrefi, H.M. Shiri, “ Evaluation of *Thymus vulgaris* plant extracts as an eco-friendly corrosion inhibitor for stainless steel 304 in acidic solution by means of electrochemical impedance spectroscopy, electrochemical noise analysis and density functional theory“ , *J. Colloid. Interf. Sci.*, vol. 490, pp. 444-451, 2017.
77. Z. Bensouda, M. Driouch, R. Belakhmima, M.Sfaira, M .EbnTouhami, A. Farah , “Thymus Sahraouian Essential Oil as Corrosion Eco-friendly Inhibitor for Mild Steel in a Molar Hydrochloric Acid Solution“, *Port. Electrochim.Acta*, vol.36, pp. 339-364, 2018.
78. K. Boumhara, M. Tabyaoui, C.Jama, F.Bentiss, ‘Artemisia Mesatlantica essential oil as green inhibitor for carbon steel corrosion in 1 M HCl solution: electrochemical and XPS investigations’’. *J Ind Eng Chem.*,vol. 29, pp.146, 2015.
79. M.C. Elbouchtaoui, A. Anejjar, R.Salghi, ‘Inhibition of steel corrosion in 1 M HCl by the essential oil of *Thymus pallidus*’’,*Der Pharma Chem.*,vol. 6,pp.406,2014.
80. Z. Bensouda, El.H. El Assiri, M.Sfaira, M. Ebn Touhami, A. Farah, B. Hammouti , “Extraction, Characterization and Anticorrosion Potential of an Essential Oil from Orange Zest as Eco-friendly Inhibitor for Mild Steel in Acidic Solution “,*J. Bio. Tribo. Corros*, vol.5, pp. 84, 2018.
81. J. Halambek, K. Berković, J. Vorkapić-Furać, ”The influence of *Lavandula angustifolia* L. oil on corrosion of Al-3 Mg alloy’’. *CorrosSci*, vol.52, pp: 3978, 2010.
82. N. Patel, A. Rawat, S. Jauhari, G. Mehta, “Inhibitive action of *brideliaretusa* leaves extract on corrosion of mild steel in acidic media“, *Eur.J.Chem.*, vol.1, pp.129-133, 2010.
83. A. Clark, “The Theory of Adsorption and catalyst“, New York,1970.
84. M. Beniken, M. Driouch, M.Sfaira, B.Hammouti, M. EbnTouhami, M.Mohsin, “Kinetic–Thermodynamic Properties of a Polyacrylamide on Corrosion Inhibition for C-Steel in 1.0 M HCl Medium: Part 2“, *J. Bio. Tribo. Corros.*, vol. 4, pp.34, 2018.
85. A. Zaher, A. Chaouiki, R. Salghi, A. Boukhraz, B. Bourkhiss, M.Ouhssine, ”Inhibition of Mild Steel Corrosion in 1M Hydrochloric Medium by the Methanolic Extract of *Ammi visnaga*L. Lam Seeds’’, *Inter.J.Corros.*,vol.1, pp.1-10,2020.
86. K. Ammor, D. Bousta, S. Jennan, A. Chaqroune, F. Mahjoubi, “Total Polyphenol Content and Antioxidant Power of *Ammi visnaga* from Morocco’’, *Der Pharma Chemica*, vol.9, pp.73-78, 2017.

87. N.A. Jaradat, A. Murad, A. Motasem, S.R. Ibrahim, J.M. Ass'ad, A.M. Ayed, "Phytochemical Screening and In-vitro Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Activities of the Entire Khella Plant (*Ammi visnaga* L.) A member of Palestinian Flora", *IJPPR.*, vol.7, pp. 137-143, 2015.
88. R. Bencheraiet, H. Kherrab, A. Kabouche, Z. Kabouche, M. Jay, "Flavonols and antioxidant activity of *Ammi visnaga* L. (Apiaceae)". *Rec. Nat. Prod.*, vol. 5, pp. 52–55, 2011.

Chapitre IV :

Valorisation des extraits des biodéchets de *Zea mays* comme antioxydants et inhibiteurs de corrosion d'un acier doux dans HCl 1 M

Contenu du chapitre

L'objectif de ce travail concerne la valorisation d'un biodéchet de *Zea mays* dans le but d'étudier son activité antioxydante et anticorrosion. Pour cela, des extraits polyphénoliques réalisés à partir des stigmates de *Zea mays* ont été obtenus en utilisant la méthode d'extraction aux ultrasons et par soxhlet ainsi que trois solvants de polarité croissante. De même, des analyses qualitatives par screening phytochimique et quantitatives par dosage des phénols totaux (TP) et des flavonoïdes (TF) ont été réalisées. Afin d'identifier les familles de composés responsables de l'action inhibitrice des extraits étudiés, nous avons réalisé le fractionnement des flavonoïdes à partir de l'extrait hydro-éthanolique. Les propriétés antioxydantes de différents extraits ont été également étudiées par DPPH', par le pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP) et par la capacité antioxydante totale (CAT).. L'activité anticorrosive de l'extrait hydro-éthanolique obtenu aux ultrasons, de la fraction n-butanolique et de l'étalon (flavone) a été étudiée par des mesures électrochimiques (courbes de polarisation et spectroscopie d'impédance). Afin de, confirmer ou infirmer la relation entre l'activité antioxydante et l'activité anticorrosion nous avons, étudié l'action inhibitrice de l'acide ascorbique par la méthode transitoire.

Les résultats ont montré que tous les extraits étudiés sont riches en polyphénols et que l'analyse des TP et TF a montré que l'extrait hydro-éthanolique obtenu aux ultrasons est caractérisé par une quantité significative en phénols totaux et en flavonoïdes. Les résultats indiquent également que la fraction n-butanolique est caractérisée par une très grande capacité antioxydante. Les courbes de polarisation ont indiqué que l'extrait hydro-éthanolique (HE) et la fraction n-butanolique (FB) agissent comme des inhibiteurs de type mixte avec un contrôle prédominant de la réaction anodique et que la molécule de flavone agi comme un inhibiteur de type mixte avec un contrôle prédominant de la réaction cathodique. Les paramètres électrochimiques (méthode de Tafel) montrent que l'efficacité inhibitrice de l'extrait hydro-éthanolique, FB et flavone est respectivement de d'ordre de 89.97 %, 83.00 % et 81.01 %. Ce résultat indique que l'action inhibitrice de l'extrait hydro-éthanolique est due à la famille des flavonoïdes et principalement le flavones. Les diagrammes de Nyquist et de Bode pour HE et FB sont modélisés par le modèle $R_s + CPE_{dl} / (R_{ct} + CPE_f / R_f)$, alors que la molécule de flavone les diagrammes sont modélisés par le modèle simple $(R_s + CPE_{dl} / R_{ct})$. Les résultats montrent l'existence d'une bonne corrélation entre l'activité antioxydante de la FB obtenue par la méthode DPPH' et de FRAP et l'activité anticorrosion (Tafel, Stern & Geary). Cette corrélation, a été confirmée par l'étude de l'action inhibitrice de l'acide ascorbique qui est de l'ordre de

86.01 % à 0.15 mg/L. L'étude thermodynamique de FB montre que l'efficacité inhibitrice diminue avec l'augmentation de la température et que l'adsorption des flavonoïdes (flavone) se fait selon le mécanisme de chimisorption. L'adsorption de la molécule majoritaire 'flavone n'obéit à aucune isotherme d'adsorption examinée.

Valorization of *Zea mays* hairs waste extracts for antioxidant and anticorrosive activities of mild steel in 1M HCl environment

S. Aourabi^{1,}, M. Driouch¹, M. Kadiri¹, F. Mahjoubi¹, M. Sfaira¹, B. Hammouti², K.M. Emran^{3,*}*

¹ Laboratory of Engineering, Modeling and Systems Analysis (LIMAS). University Sidi Mohamed Ben Abdellah (USMBA), Faculty of Sciences PO Box 1796-30000, Fez-Atlas, Morocco.

²Laboratory of Applied Chemistry and Environment, Faculty of Sciences, Mohammed the 1stUniversity, PO Box 4808 Oujda, Morocco.

³ Department of Chemistry, College of Science, Taibah University, Al-Madinah Al-Monawarah, PO Box 4050, Saudi Arabia

*Corresponding authors: kabdalsamad@taibahu.edu.sa & sarra.aourabi@gmail.com

Received 29 May 2020, Accepted 2 August 2020, Available online 10 August 2020.

Abstract

The extraction of *Zea mays* hairs (*Z.mays*) was carried out by soxhlet and ultrasound techniques and through three solvents. Phytochemical tests and quantitative analysis of total phenols content (TPC) and flavonoids content (FC) for all extracts were also determined. The antioxidant activity, for different fractions, was determined by using three methods; DPPH^{*}, FRAP and TAC. All extracts were rich in polyphenols and the analysis of TPC and FC showed that the hydro-ethanolic extract obtained by ultrasound was characterized by a significant amount of TPC and FC. The n-butanolic fraction was rich in FC and also had a very high antioxidant capacity. On the other hand, the inhibiting effect of hydro-ethanolic extract, n-butanolic fraction and standard (*flavone*) on mild steel corrosion in 1 M HCl solution was investigated by electrochemical measurements. The polarization curves along with EIS diagrams indicated that *flavone* was the major molecule responsible for inhibition and acted as mixed-type inhibitor with predominant control of cathodic reaction. The antioxidant activity of BF was well correlated to corrosion inhibition efficiency.

Keywords: *Zea mays* hairs, extracts, phenolic fraction, total phenolic, flavonoids, antioxidant activity, corrosion inhibition, mild steel.

I. Introduction

Aromatic and medicinal plants have a considerable content of bioactive compounds with specific biochemical or organoleptic properties, allowing their use in pharmaceutical, cosmetic and food industries [1]. Currently, the recovery of bio-waste is mainly studied in the field of green chemistry because of a great interest as a source of high value-added compounds. Over the last decades, the various extracts and essential oils of plants have been of great interest because they have been sources of natural products. *Z. mays* hairs (Corn silk) is a collection of the stigmas (fine, soft, yellowish threads) from the female flowers of the maize plant contains proteins, vitamins, carbohydrates, Ca^{2+} , K^+ , Mg^{2+} and Na^+ salts, volatile oils, and steroids, alkaloids, saponins, tannins, and flavonoids, *flavones*, *flavones glycosides*[2-6]. The phenolic molecules particularly quercetin, rutin and *flavone glycosides* have a strong antioxidant activity [7,6]. Various researchers have found a positive correlation between the total phenols content, flavonoids content and antioxidant tests [8]. The obtaining phenolic molecules often require many long and costly steps; the most important of which is extraction. One of the major challenges of analytical chemistry consists of technological innovation and development of new extraction methodologies [9]. Currently, the use of plants as a source of corrosion inhibitors is widely recognized for their acceptable environmental and ecological properties. Consequently, to prevent or to delay the corrosion of metals [1]. This corrosion is generally inhibited by the interaction of functional groups having oxygen, nitrogen, aromatic resins and sulphur with lone pair of electrons to interact with metal surface [10] by forming a protective film onto the mild steel surface. These protective films are formed by chemical and/or physical adsorption which slows down reduction and/or oxidation reactions occurring during corrosion. Most of the synthetic compounds used as inhibitors, have good anti-corrosive action, but most of them are highly toxic to human beings and to the environment [11]. The attempts to highlight environmentally friendly processes are reoriented to the use of natural products. These bioactive compounds are extracted from aromatic herbs, spices and medicinal plants. The inhibitors are organic or inorganic in nature, some act as cathodic and anodic inhibitors to reduce or prevent corrosion [12-15]. This work includes some research studies that have used natural substances; extract of *Chamaemelum mixtum* [16], ethanolic extract of *Ammi visnaga* [17], different extract of *Ammi visnaga*[18], extract of *Black Pepper*[19]. The objective of this article was to apply ultrasound extraction method known for its effectiveness in extracting phenolic molecules, and to compare it with conventional

technique (Soxhlet). Hence, to determine the phenolic compounds responsible for the inhibitory action of *Z. mays* hairs, we proposed to study the phenolic fraction, and to identify the presence of major molecule in flavonoids fraction. In addition, the antioxidant property of different extracts was also studied by DPPH^{*}, Ferric-reducing Antioxidant power (FRAP) and Total Antioxidant Capacity (TAC) for the purpose to correlate the antioxidant capacity with anticorrosive activity. The anticorrosive activity of hydro-ethanolic extract elaborated by ultrasound, n-butanolic fraction and standard (*flavone*) and ascorbic acid for antioxidant activity were investigated by electrochemical measurements (polarization curves and impedance spectroscopy).

II. Materials and methods

II.1. Materials

II.1.1. Vegetal material

Z. mays hairs, *Poaceae* female used for this investigation was collected in September 2018 at Taounate region. The botanical identification of species was carried in Laboratory of Biotechnology and Preservation of Natural Resources (BPNR), University Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fez, Morocco. The *Z. mays* hairs were dried at room temperature.

II.1.2. Metallic matrix and corrosive solution

The material, used in this study, is mild steel, the composition of which is given elsewhere [17]. The acid solution was prepared by dilution of an analytical reagent grade 37 % HCl with doubly distilled water. Appropriate concentrations of different inhibitors were prepared with 1M HCl addition.

II.2. Methods

II.2.1. Methods of extraction

The extraction methods used, in this work, are based on Soxhlet and ultrasound techniques. For soxhlet method, dried *Z.mays* hairs powder was successively extracted with different solvents such as pure ethanol and 70 % ethanol by soxhlet for 12 h. For the extraction, 40 g of dried powdered sample was extracted with 400 mL of the solvent (pure ethanol and 70 % ethanol). The obtained extracts were collected separately and kept for further analysis. On the other hand, the extraction, via the ultrasonic method, of *Z.mays* hairs were obtained by ultrasound (45 Hz, 50 W, 25 °C), mixing the dry powder (40 g) with 400 mL of different solvents (water, ethanol and ethanol/water 70:30) for 45 min. The extracts were filtered concentrated under reduced pressure. Then, we carried out the fractionation of flavonoids from the hydro-ethanolic extract obtained by ultrasound method. The HE was dissolved in warm water and then partitioned sequentially with petroleum ether (PF), ethyl acetate

(AF), n-butanol (BF) and water (WF). The different fractions were collected separately and concentrated using a rotary flash evaporator to remove the solvent. All fractions (PF, AF, BF and WF) were stored at 4°C for subsequent analyses.

II.2.2. Quantitative and qualitative analyses of extracts

The different extracts obtained by two methods of extraction were subjected to preliminary screening of phytochemical constituents. The procedures were described by [20-22]. The total phenolic and the flavonoids content was determined according to [23, 24].

II.2.3. Electrochemical methods of analysis

The electrochemical measurements were determined following the same operating protocol described in reference [18].

II.2.4. Antioxidant activity

The antioxidant analysis was monitored using three of the most recognized methods in literature. Firstly, DPPH[•] radical scavenging activity was determined according to [25]. Secondly, ferric-reducing Antioxidant power (FRAP). In fact, the reductive potential has been examined by the transformation of Fe^{3+} to Fe^{2+} in the presence of an antioxidant this test is realized according to [26]. Thirdly, the determination of total antioxidant capacity (TAC) of the extracts was evaluated by Phosphomolybdenum method [27].

In addition, we used the HPLC technique for identification of flavonoids. Indeed, the analysis of the presence of phenolic compounds (*flavone*) in the n-butanolic (BF) was carried out by HPLC (reverse phase) and the type of waters 600E coupled to a fluorescence detector equipped with an injection loop with a C18 column (length = 150 mm; diameter = 4.6 mm, 5 μm particle size). The analysis was carried out in *Laboratory of Agricultural & Food Industry, IAV HASSAN II*. The flow rate of the mobile phase was 1.5 mL/min. Detection was performed at two wavelengths: the excitation wavelength was 254 nm and the detection wavelength was 348 nm. The mobile phase was Acetic acid: Methanol (5:95 v/v). The HPLC conditions are listed in Table 1.

Table 1. Conditions of HPLC

| Sample | Mobile phase | Column | Injection volume | Flow rate | Detection / Fluorescence |
|----------------|-------------------------------------|--------|------------------|------------|---|
| <i>Flavone</i> | Acetic acid: Methanol (5:95 v/v) | C18 | 5 μL | 1.3 mL /mn | Excitation at 254nm and detection at 348nm |

III. Resultants and discussion

III.1. Phytochemical screening

The preliminary phytochemical screening for different extracts obtained by two methods of extraction showed the presence important of phyto-constituents such as flavonoids, phenols and glycoside in ethanolic and hydro-ethanolic extracts, respectively. On the other hand, the presence low of flavonoids, phenols and glycoside were observed in aqueous extract, also the presence low of alkaloids and tannins in three extracts, hence the presence of steroids and terpenoids only in ethanolic and hydro-ethanolic extracts, these results are in agreement with [28,29]. The objective of this section is to determine the polyphenols existing in the various extracts, following the example of the used extraction methods, in order to develop the main molecules that can be determined and fraction acted. Table 2 shows the results of phytochemical analysis of various extracts of *Z. mays* hairs.

Table 2. Screening phytochemical of *Z. mays* hairs extracts by soxhlet and ultrasound techniques

| Composition | Ethanolic extract | Aqueous extract | Hydro-ethanolic extract |
|-------------|-------------------|-----------------|-------------------------|
| Alkaloids | + | + | + |
| Flavonoids | ++ | + | ++ |
| Glycoside | ++ | + | ++ |
| Steroids | + | - | + |
| Tannins | + | + | + |
| Terpenoids | + | - | + |
| Phenols | ++ | + | ++ |

where ++: Important presence, -: Absence, +: Low presence

III.2. Extraction yields of TPC and FC issued from soxhlet and ultrasound techniques

In order to compare the performance of the two extraction techniques studied, we first compared the yields obtained by each technique; then, the concentrations of polyphenols and flavonoids contained in the different extracts (Ethanolic, Aqueous and Hydro-ethanolic) from each extraction method were evaluated. The different results obtained are grouped in Table 3.

Table3. Yield of extraction, TPC and FC of *Z. mays* hairs extracts by soxhlet and ultrasound

| | Technique | Ethanolic | Aqueous | Hydro-ethanolic |
|-------------------|-------------------------|-----------|-----------|-----------------|
| Soxhlet | Extraction yield % | 27.73 | - | 32.35 |
| | TPC (mg EGA/g extract) | 45.50±2.4 | - | 95.47±2.2 |
| | FC (mg EQ/g extract) | 19.58±1.3 | - | 28.42±1.7 |
| Ultrasound | Extraction yield % | 20.10 | 18.3 | 22.6 |
| | TPC (mg EGA/ g extract) | 93.43±3.4 | 35.34±4.4 | 230.94±3.2 |
| | FC(mg EQ/ g extract) | 18.4±2.6 | 7.33±2.6 | 57.22±3.5 |

The values are expressed as means±SD

It is noted that the technique of extraction of *Z. Mays* hairs by ultrasound with three solvents gives a yield varying between 18.3 and 22.6 %. The highest yield is obtained by the mixed solvent (70:30) more than the pure solvent [28, 29]. Soxhlet extraction allowed the highest efficiency compared to ultrasound extraction, which can be explained by the heating applied during the operation as well as the long extraction time [28]. These two parameters (heating and time) have the main disadvantage of conventional soxhlet extraction by exposing the heat-labile compounds contained in the plant to partial or total degradation[30,31]. Therefore, it can be said that ultrasonic extraction is the most efficient in terms of time and conservation of heat-labile products [32-34].

The concentration of total phenols in the various extracts produced by ultrasound are higher than those obtained by soxhlet. So, the phenol content in different extracts obtained by ultrasound varies from 35.34 to 230.94 mg EGA/g extract. The total phenolic content is in the following order: Hydro-ethanolic >Ethanol>Aqueous. In another hand, the total phenolic content in different extracts obtained by soxhlet is in the following order: Hydro-ethanolic >Ethanol. The finding results show that ethanol/water mixture is a good solvent for phenolic extraction from *Z. mays* hairs is in agreement with previous investigations [18, 35, 36]. Sultana et al.[35] revealed that the addition of 20 % water in ethanol has increased the extraction of total phenolic compounds of medicinal plant materials up to 54 %. In addition, Thoo et al.[36]found that the amount of total phenolic and flavonoids compounds extracted from *Andrographis paniculata* powder was observed higher when a mixture of ethanol and water was used as the extracting solvent rather than single solvent of pure ethanol or water. The FC content in different extracts was in the following order: Hydro-ethanolic>Ethanol >Aqueous. We notice that the ethanol extract therefore contains higher flavonoids than the aqueous extracts because the flavonoids can be diffused more in

ethanol pure than the water [37]. According to these results, one conclude that the hydro-alcoholic extract obtained by ultrasound is characterized by the highest content of FC and TPC compared to the other extracts obtained by the soxhlet method. For this reason, we were interested in the fraction of flavonoids from the hydro-ethanolic extract using ultrasound method.

III.3. Extraction yields of TPC and FC issued from fractionation of flavonoids

Table 4 shows the extraction yield, TPC and FC of each fraction from *Z. mays* hairs. The extraction yield of all fractions vary from 1 to 10 %. Among all the fractions, BF obtains the highest extraction yield (10 %) while PF yielded the lowest (1 %). The TPC of all fractions from *Z.mays* hairs vary from 23.59 to 296.20 mg EGA/g extract. The highest FC is detected in BF, whereas the lowest content was found in PF.TPC of *Z. mays* hairs extracts is found to be arranged in the following descending order: BF > AF >WF > PF. Based on these results, the FC of all fractions from *Z. mays* hairs has the same descending order as with the TPC. The FC of *Z. mays* hairs extracts is in good correspondence with the TPC ($R^2=0.977$), so it can be presumed that the flavonoids are the major phenolic compounds present in *Z. mays* hair [38].

Table 4.Comparative analysis of extraction yield of TPC and FC derived from *Z. mays* hairs fractions obtained using different solvents.

| Fraction | Yield extraction % | TPC (mg GAE/g extract) | FC (mg QE/g extract) |
|----------|--------------------|------------------------|----------------------|
| PF | 1.00 | 23.59 ± 3.21 | 11.41 ± 1.21 |
| AF | 8.00 | 196.74 ± 4.42 | 163.86 ± 1.70 |
| BF | 10.00 | 296.20 ± 5.82 | 200.35 ± 2.11 |
| WF | 3.00 | 47.91 ± 2.43 | 27.73 ± 2.82 |

The values are expressed as means ± SD.

where: PF: Petroleum ether fraction; AF: Ethyl acetate fraction; BF: n-butanolic fraction; WF: water fraction

III.4. Antioxidant activity

III.4.1. DPPH' method

Antioxidant activity of *Z. mays* hairs extracts is conducted by using the DPPH' free radical method. The scavenging activities of the different fraction are shown in Table 5. The BF extract exhibited higher level of scavenging activity followed by AF when compared to the other fractions. In the BF fraction, the IC_{50} of inhibition is of 58.7 $\mu\text{g/mL}$ and PF is characterized by the lowest inhibition ($IC_{50}=100.4 \mu\text{g/mL}$) compared to BHT (49.6 $\mu\text{g/mL}$) respectively. Meanwhile, the DPPH' scavenging activity of all fractions shows similar

trend with the content of total phenolic compounds ($R^2=0.9213$) and total flavonoids ($R^2 = 0.9417$), in all the fractions, indicates that the phenolic compounds, particularly flavonoids that present in all fractions of *Z. mays* hairs are the major constituents which can scavenge the DPPH[•] radical, due to the presence of the hydroxyl groups in their structure and their electron donating ability [6,39]. The flavonoids are believed to reside in their free radical-scavenging capacity and their antioxidant activity increases with an increase in the number of hydroxyl groups [40]. It has been suggested that higher level of flavonoids content in BF fraction contribute to the strong scavenging activity. This phenomenon is also observed in other plants [18, 39, 41-43].

III.4.2. FRAP method

The potassium ferricyanide reduction method is used to evaluate the reducing power of polyphenols, which constitutes a widely used method in measuring antioxidant activity of phenolic compounds. In this way, the antioxidants present in the test solution can reduce the Fe^{3+} ferricyanide complex to ferrous form by donating an electron according to the following mechanism (Fig.1).

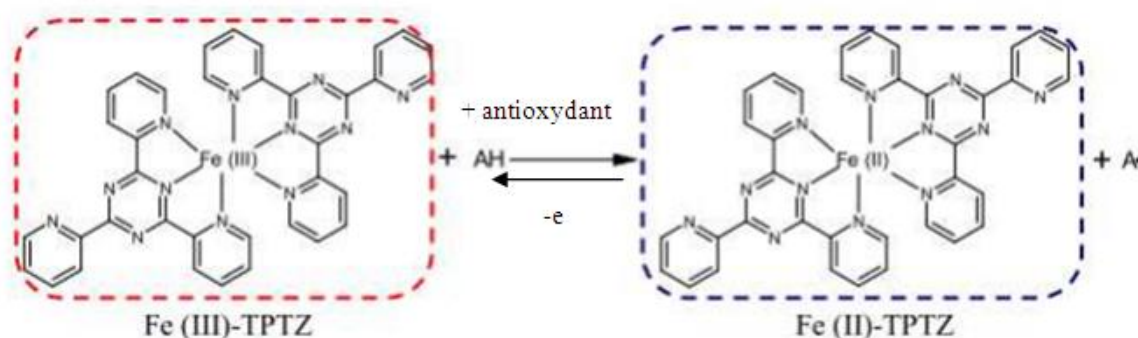


Figure 1: Reaction mechanism of the FRAP test

In the present study, as shown in Table 5, the BF derived from *Z. mays* hairs exhibits the strongest reducing power ($25.8 \mu\text{g/mL}$) and has no significant difference when compared to BHT ($18.4 \mu\text{g/mL}$), while PF yield remains the lowest ($66.3 \mu\text{g/mL}$). The reducing power of all fractions can be presented in the following order: BHT > BF > AF > WF > PF. Significant correlation has been found between the FRAP activity and the TFC ($R^2 = 0.847$), indicating that the reducing power of all the fractions is highly related to the amount of phenolic compounds especially flavonoids that present in the fractions, which can serve as electron donor to achieve the radical chain reaction.

III.4.3. TAC method

The total antioxidant activity of fractions is measured by monitoring the absorbance of the reaction mixture at 695 nm. A high absorbance value of the reaction mixture indicates a stronger total antioxidant activity. Table 5 shows the total antioxidant activities of all fractions and the positive standard of BHT. All the fractions show a potent total antioxidant activity, which is concentration-dependent. The BF, at a concentration of 100 µg/mL, exhibits the strongest total antioxidant activity while PF yield is the lowest. The values of all the fractions (PF, AF, BF, WF and BHT) through total antioxidant activity test are arranged in the following descending order: BHT > BF > AF > WF > PF. Significant correlation has been found between the total antioxidant activity and the TPC ($R^2 = 0.909$) and FC ($R^2 = 0.920$) of all fractions. The results obtained in this investigation reveal that the total antioxidant activity may be attributed to the presence of phenolic and flavonoids constituents in all fractions [44].

Table 5. Antioxidant activity IC_{50} (µg/mL) of all fractions of *Z. mays* hairs obtained from DPPH', FRAP and TAC methods

| Fraction | DPPH' | FRAP | TAC |
|----------|-------|------|------|
| PF | 100.4 | 95.7 | 93.4 |
| AF | 62.4 | 30.3 | 56.8 |
| BF | 58.7 | 25.6 | 43.5 |
| WF | 95.2 | 85.6 | 73.8 |
| BHT | 49.6 | 18.4 | 34.7 |

III.4.4. HPLC for n-butanolic fraction

According to HPLC analysis, the n-butanolic fraction is rich in flavonoids, especially flavones, this result is in agreement with Liu et al.[6] showing that the n-butanolic fraction of *Z. mays* (China) is rich in two flavone glycoside.

III.5. Electrochemical tests

The objective of this part is to determine the family of molecules or major molecule responsible for the inhibiting action of *Z. mays*. To do so, we studied the corrosion inhibiting effect of hydro-ethanolic extract (HE), n-butanolic fraction (BF) and standard (flavone).

III.5.1. Potentiodynamic polarization study

The typical potentiodynamic polarization curves for mild steel in 1M HCl in the absence and presence of different concentrations of HE and BF ($0.05-0.15 \text{ g L}^{-1}$), respectively, as well as flavone ($8 \times 10^{-3} - 1.5 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$), have been carried out, in order to gain information about the kinetics of the cathodic and anodic reactions as shown in Fig.2. The choice of concentrations of flavone molecule is determined from the percentage of flavone in the fraction n-butanolic (HPLC) and molecular weight of the molecule as well as the mass concentration of HE and BF for the quantity of the standard treated which is compatible with the quantity of flavone in the fraction.

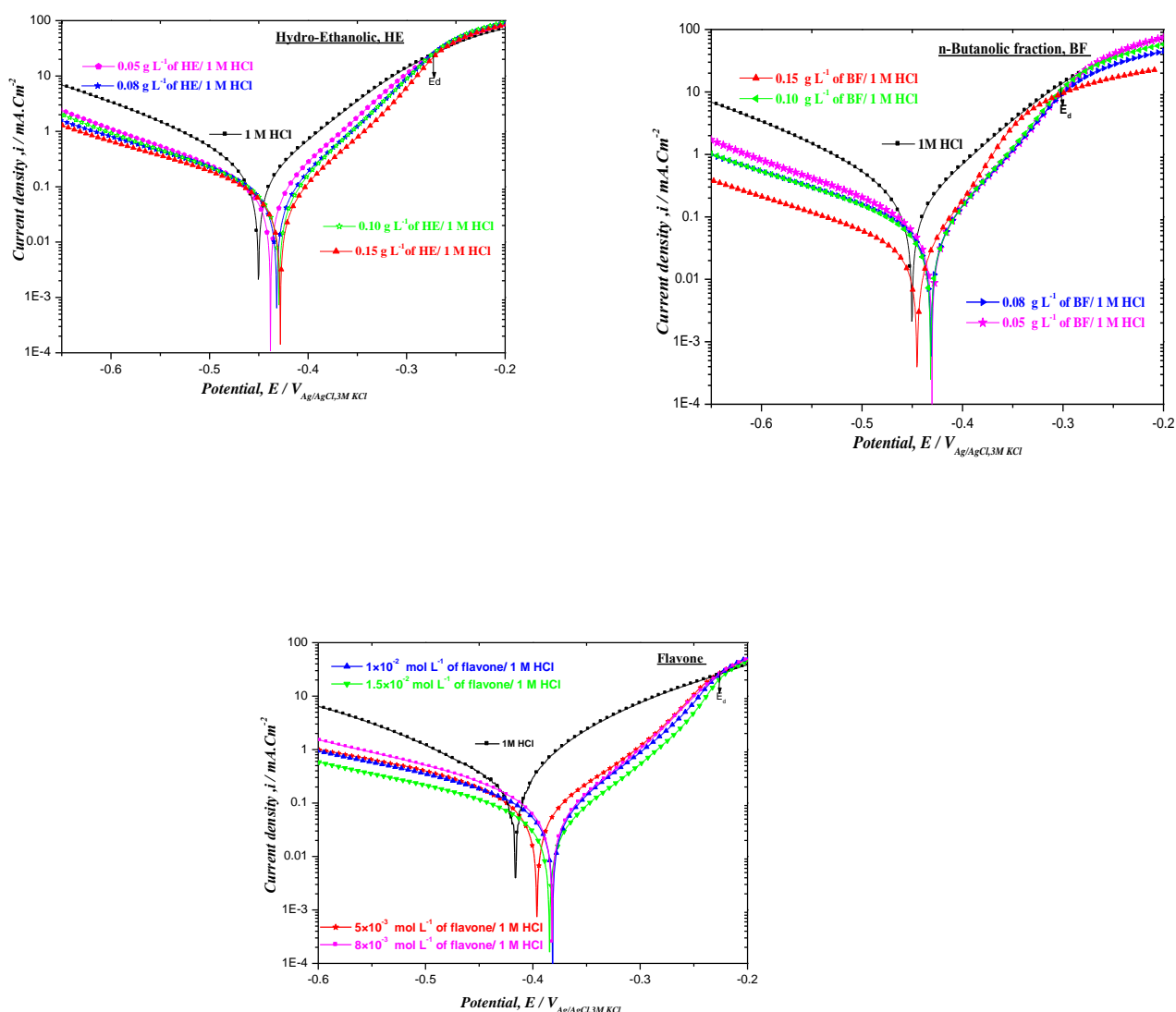


Figure 2. Polarization curves of mild steel in 1 M HCl at different concentrations of HE, BF and flavone at 298 K

Analysis of the polarization curves shows that in the presence of the different inhibitors, the anodic region does not exhibit Tafelian behavior. Only cathodic regions have a wide range of linearity, indicating that Tafel law is well verified in the cathode domain and that hydrogen reduction is controlled by pure activation kinetics [45]. Corrosion current densities can then be estimated by extrapolating only the right-hand side of Tafel cathodic to the corrosion potential. Also, it can be seen that the addition of these three inhibitors causes a decrease in anodic and cathodic current densities; this decrease is proportional to the inhibitor contents. The polarization curves for the HE inhibitor show a decrease in partial current densities, which is all the more remarkable in the anodic domain than in the cathode region. In addition, a slight shift, in corrosion potential, is registered towards more noble values. As a result, inhibitor HE can be classified as a mixed type inhibitor with a slight anodic predominance.

However, in the presence of BF and *flavone* inhibitors, the appearance of the curves ($\log i = f(E)$) is almost identical. On note a decrease in current densities in both cathodic and anodic branches, the corrosion potentials are shifted towards less noble values. Then, these two inhibitors can be considered as mixed type with a slight anodic predominance.

In addition, in the anodic region, inhibition of BF and HE as well as *flavone* depend on the applied potential. Indeed, HE, BF and *flavone* act as corrosion inhibitors only at low anodic overvoltage below $E_d \approx 0.275$, $E_d \approx 0.295$, $E_d \approx 0.235$ V_{SCE} , respectively. Therefore, current densities increase significantly in the presence of HE, BF and *flavone* with higher potential than E_d [46,47]. This can be interpreted by the desorption of inhibiting molecules due to a high polarization of the working electrode, and consequently the mechanism of the metallic dissolution reaction is modified leading to the removal and/or deformation of the HE, BF and *flavone* film on the surface of the mild steel. This potential is generally defined as the desorption potential. The electrochemical parameters extrapolated from Tafel and Stern & Geary are given in Table 6.

Table 6. Electrochemical parameters obtained from potentiodynamic polarization curve of the mild steel immersed in 1 M HCl at different concentrations HE, BF and *flavone* at 298 K.

| | Data Tafel | | | | Data $s\&G$ | | |
|------------------------------------|----------------------|------------|------------|-------------|---------------|-------|-----------------|
| | C_{inh} | E_{corr} | i_{corr} | $ \beta_c $ | $\eta_{pp}\%$ | R_p | $\eta_{s\&G}\%$ |
| Blank | 1M HCl | -416.2 | 337.1 | 147.1 | - | 82 | - |
| HE ($g L^{-1}$) | 0.05 | -445.5 | 82.5 | 170.4 | 75.52 | 249 | 67.06 |
| | 0.08 | -431.3 | 73.2 | 193.9 | 78.28 | 407 | 79.85 |
| | 0.10 | -432.1 | 70.9 | 190.6 | 78.96 | 416 | 80.28 |
| | 0.15 | -430.3 | 33.8 | 193.5 | 89.97 | 679 | 87.92 |
| BF ($g L^{-1}$) | 0.05 | -437.9 | 101.1 | 162.1 | 70.00 | 218 | 62.38 |
| | 0.08 | -440.1 | 63.4 | 174.7 | 81.19 | 373 | 78.01 |
| | 0.10 | -438.6 | 59.8 | 158.5 | 82.26 | 415 | 80.24 |
| | 0.15 | -436.6 | 57.3 | 159.7 | 83.00 | 438 | 81.27 |
| Flavone ($mol L^{-1}$) | 8×10^{-3} | -395.47 | 145.2 | 238.3 | 56.92 | 178 | 53.93 |
| | 5×10^{-3} | -382.92 | 128.1 | 200.7 | 61.99 | 205 | 60.00 |
| | 1×10^{-2} | -384.52 | 101.1 | 223.7 | 70.08 | 260 | 68.46 |
| | 1.5×10^{-2} | -381.26 | 63.8 | 227.1 | 81.01 | 420 | 80.47 |

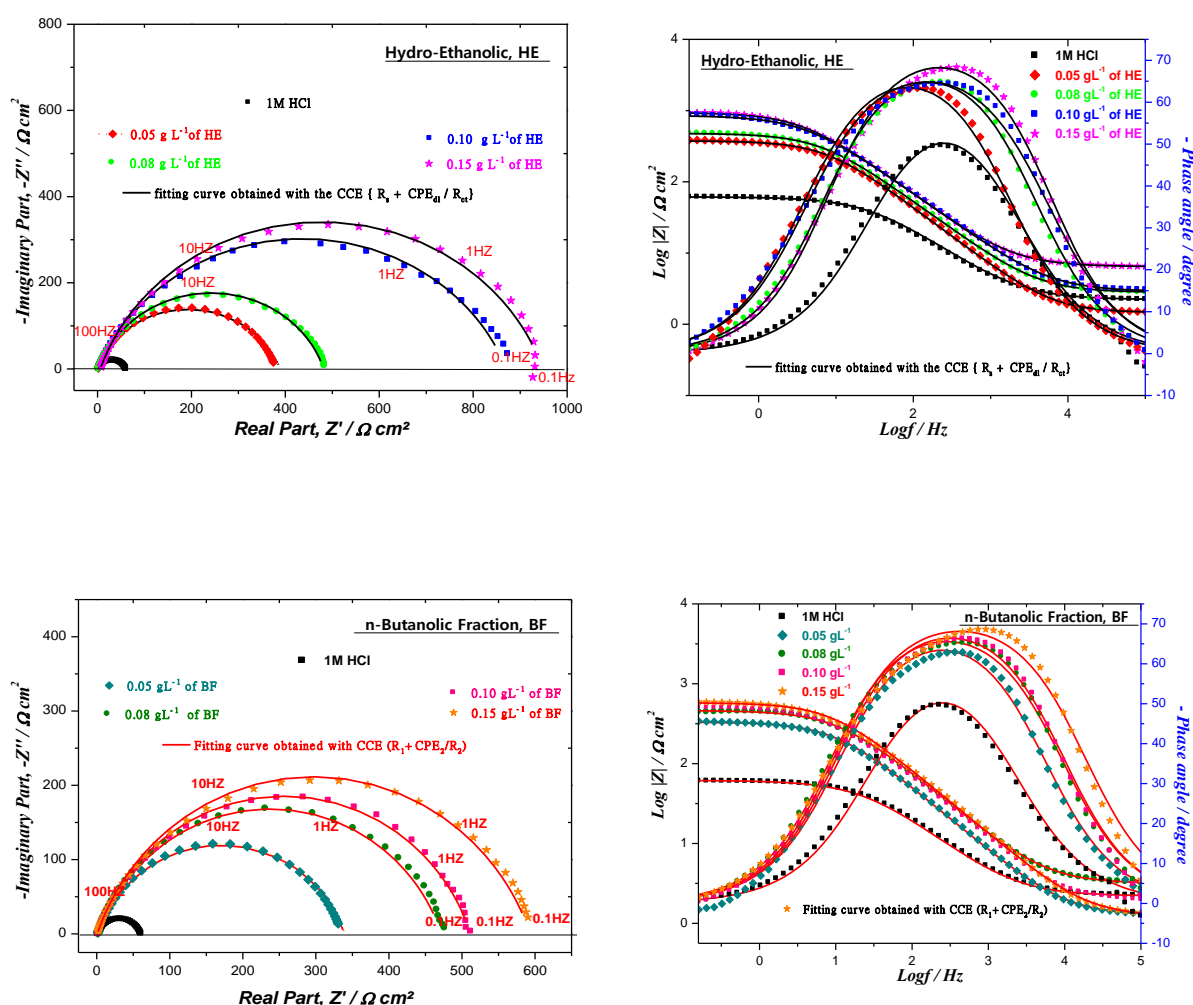
where, E_{corr} : $mV_{Ag/AgCl}$, i_{corr} : $\mu A cm^{-2}$, β_c : $mV dec^{-1}$, R_p : Ωcm^2

It is clear from Table 6 that HE addition noticeably decreases i_{corr} and $\eta_{pp}\%$ considerably increases from 75.52 to 89.97 %. This suggests that the corrosion rate is reduced due to the formation of a barrier film onto the mild steel surface by adsorption of polyphenolic molecules. For the n-butanolic fraction obtained by fractionation of the hydro-alcoholic extract, it is noted that after the addition of BF, the current density decreases and therefore the percentage of corrosion inhibition increases to 83.00 % at 0.15 $g L^{-1}$. So, at the same concentration the hydro-ethanolic extract has a corrosion inhibition difference of 6.97 % when compared to n-butanolic fraction rich in flavonoids essentially the *flavone*. Then, the inhibition action of HE is due to the intense presence of flavonoids especially *flavone* (HPLC with a percentage of 22.4 %) confirmed by the electrochemical study which shows that the *flavone* standard gives an inhibiting efficiency of 81.01 % at $1.5 \times 10^{-2} mol L^{-1}$. The plot, in the linear scale of potential variation as a function of current, in the immediate vicinity of the corrosion potential; $E_{corr} \pm 25 mV$, allows the determination of R_p which is equal to the slope $|\Delta E/\Delta I|$. In addition, it can be observed that the inhibiting efficiencies calculated by Stern&Geary method show the same trend as those determined by

extrapolating the straight line of cathodic Tafel to corrosion potentials. Hence, the results collected by this technique bear witness to those obtained by Tafel method.

III.5.2. EIS study

To confirm the results extracted from the potentiodynamic polarization measurements and to acquire more information on the inhibition mechanism, EIS measurements are performed. The Nyquist and Bode diagrams (to reveal the phenomena that occur at high frequencies masked in the Nyquist representation) for the mild steel in 1 M HCl solutions in the absence and presence of HE, BF and *flavone* after 30 min of immersion at the corrosion potential are shown in Fig. 3.



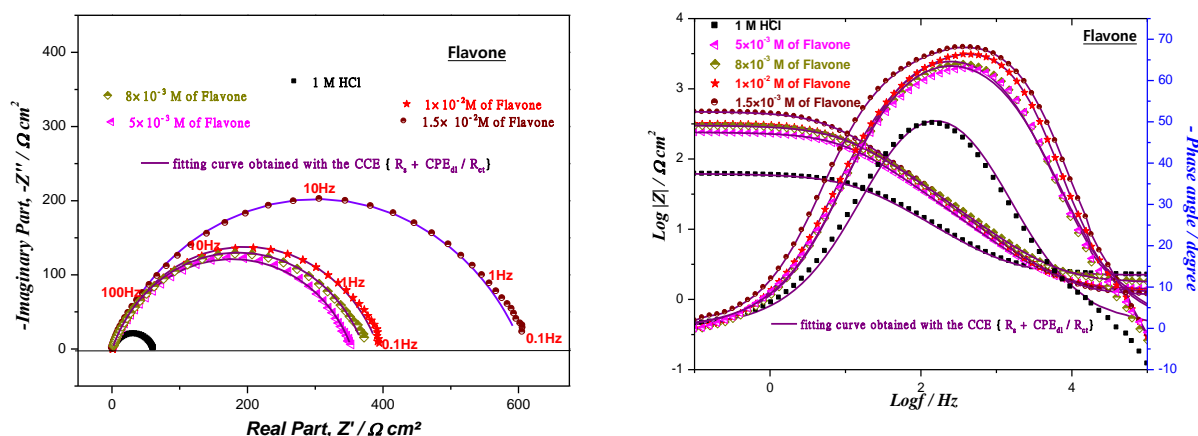


Figure 3. Nyquist and Bode plots of the mild steel in 1 M HCl without and with different concentrations of HE, BF and *flavone* at 298 K ($R_s + CPE_{dl}/R_{ct}$).

The presence of a single loop in the representation of Nyquist led us to first choose the $R_s + CPE_{dl}/R_{ct}$ circuit shown in Fig.4 to model the electrochemical interface and the behavior of HE, BF and *flavone* inhibitors in 1 M HCl medium. However, this model does not allow a good fit of the measured data for HE and BF inhibitors.

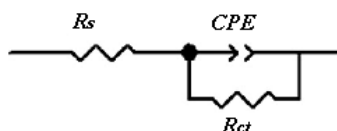


Figure 4. Equivalent electrical circuit used to fit the impedance data for mild steel in 1 M HCl with or without HE, BF and *flavone*

According to Fig. 3, we observe a better superposition of the experimental and simulated spectrum in the representation of Nyquist and Bode for the *flavone* standard which shows that $R_s + CPE_{dl}/R_{ct}$ is a better circuit to model the behavior of the electrochemical interface in the presence of *flavone*. On the other hand, for the HE and BF inhibitors, there is clearly a poor superposition of the experimental and simulated spectra in Bode representation, which certainly indicates the presence of a second time constant, attributed to an extra phenomenon that takes place. Several equivalent circuit models were tested using the EC-Lab (V11.20) software, only the $R_e + CPE_{dl}/(R_{ct} + CPE_f/R_f)$ model shown in Fig.5 allows a perfect match between experimental and theoretical data. Generally, the adjustment of impedance spectra by an equivalent electrical circuit can be ambiguous.

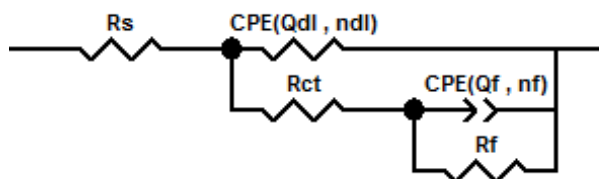
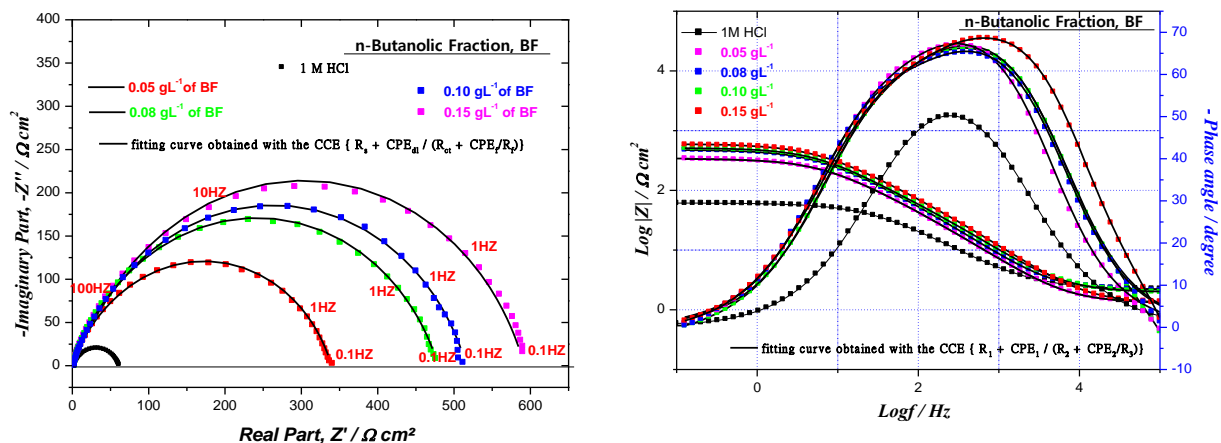


Figure 5.Equivalent circuit used to fit the impedance data for mild steel in 1M HCl with or without HE and BF

Indeed, it is sometimes possible to obtain several sets of parameters that are mathematically satisfactory but whose physical meaning may be meaningless [48]. Moreover, the only loop observed on the Nyquist diagrams (Fig.6) in the presence of the studied inhibitors could be explained by two time constants badly separated. The time constant located at high frequencies (CPE_{dl}) could be attributed to the adsorption of inhibiting molecules onto the metal surface simultaneously with charge transfer, while the low frequency loop (CPE_f) could be linked to the relaxation of inhibition process [49,50]. Note that the improvement in protective power is characterized on the Nyquist diagram by an increase in the size of the loops.



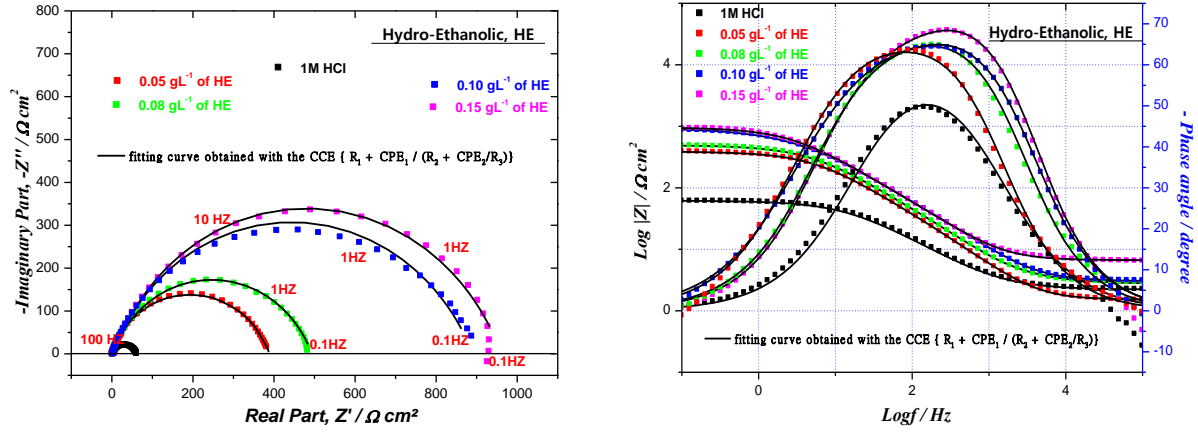


Figure 6. Nyquist and Bode plots of the mild steel in 1 M HCl without and with different concentrations of HE, BF at 298 K by $(R_s + CPE_{dl} / (R_s + CPE_f / R_f))$

The electrochemical impedance parameters for mild steel in 1M HCl in the presence of HE, BF and *flavones* inhibitors are reported in Table 7. The resistance values are estimated directly from the adjusted impedance diagrams, while the values of the pseudo-capacitances (C_{dl} , C_f) are determined by the following Equations (1,2) according to [5, 49]:

$$C_{dl} = (Q_{dl} R_{ct}^{1-n_{dl}})^{1/n_{dl}} \quad (1)$$

$$C_f = (Q_f R_f^{1-n_f})^{1/n_f} \quad (2)$$

The inhibition efficiency is calculated as follows by Equation (3):

$$\eta_{EIS} \% = \left(\frac{R_p - R_p^0}{R_p} \right) \times 100 \quad (3)$$

In uninhibited medium, the total resistance corresponds to the charge transfer resistance ($R_p = R_{ct}$), while in inhibited solution, the value of R_p is given by the sum of two resistances: ($R_p = R_{ct} + R_f$). R_p^0 is the total resistance for the blank which corresponds only to charge transfer.

Table 7. EIS parameters and inhibition efficiency for mild steel in 1M HCl in the absence and presence of different concentrations of HE, BF and flavone at 298 K

| | C_{inh} | R_s | R_{ct} | Q_{dl} | n_{dl} | C_{dl} | R_f | Q_f | n_f | C_f | R_P | $\eta_{EIS}\%$ |
|---|----------------------|-------|----------|----------|----------|----------|-------|-------|-------|-------|-------|----------------|
| Blank | 1M HCl | 1.14 | 58 | 373.3 | 0.767 | 118.80 | - | - | - | - | 59 | |
| HE g L⁻¹ | 0.05 | 1.51 | 85 | 71.17 | 0.894 | - | 302 | 157 | 0.669 | 34.97 | 387 | 85.01 |
| | 0.08 | 2.89 | 90 | 62.93 | 0.882 | - | 401 | 130 | 0.670 | 30.35 | 491 | 88.18 |
| | 0.10 | 3.04 | 94 | 50.86 | 0.886 | - | 795 | 90 | 0.672 | 24.69 | 888 | 93.46 |
| | 0.15 | 6.63 | 144 | 51.73 | 0.881 | - | 811 | 86 | 0.676 | 24.00 | 955 | 93.92 |
| BF g L⁻¹ | 0.05 | 1.31 | 135 | 101 | 0.854 | - | 203 | 186 | 0.712 | 49.94 | 439 | 86.62 |
| | 0.08 | 2.15 | 142 | 72 | 0.877 | - | 336 | 148 | 0.720 | 34.04 | 478 | 87.71 |
| | 0.10 | 1.97 | 145 | 71 | 0.855 | - | 368 | 98 | 0.735 | 29.91 | 513 | 88.55 |
| | 0.15 | 1.31 | 150 | 50 | 0.876 | - | 440 | 90 | 0.743 | 29.62 | 590 | 90.05 |
| Flavone mol L⁻¹ | 5×10^{-3} | 0.88 | 347 | 104 | 0.783 | 50.21 | - | - | - | - | 347 | 83.06 |
| | 8×10^{-3} | 0.89 | 367 | 115 | 0.791 | 41.60 | - | - | - | - | 367 | 83.98 |
| | 1×10^{-2} | 1.11 | 393 | 102 | 0.794 | 40.23 | - | - | - | - | 393 | 85.04 |
| | 1.5×10^{-2} | 1.71 | 586 | 52 | 0.799 | 20.68 | - | - | - | - | 586 | 89.52 |

where R_f, R_{ct}, R_P and R_s in Ωcm^2 , Q_f and Q_{dl} in $\mu F s^{n-1} cm^2$, C_{dl} in $\mu F cm^2$

As shown in Table 7, R_{ct} and R_f increase with rise of HE and BF concentration as well as flavone. It should be noted that the n-butanolic fraction generates an inhibitory action against corrosion due to presence of flavonoids family especially flavone. On the other hand, there is no significant difference between the inhibitions obtained by BF and molecule flavone which shows that the flavone molecules are responsible for the inhibition effect of BF, and consequently, for the hydro-ethanolic extracts of *Z. mays* hairs. In parallel, it is observed a decrease in pseudo-capacities related to the electrochemical double layer and the adsorption of inhibitory molecules onto the metallic surface in conjunction with the increase in inhibiting efficiency. This shows a progressive adsorption of the inhibiting molecules forming a protective film that prevents the infiltration of aggressive species through the inhibitor film. Indeed, we observe an increase in the values n_{dl} with rise of inhibitor concentration associated with a certain decrease in the heterogeneity of the surface resulting from the adsorption of inhibitors on the active centers [51]. Therefore, based on these data and the present results, it is noted that the hydro-ethanolic extract of *Z. mays* hairs plant gives better inhibition when compared to other studies [16-19]. It should be noted that the inhibiting efficiencies calculated by EIS

method follow the same trend as those obtained from Tafel and LPR method, with some differences indicating the different approximations on which each of them are based.

The adsorption is influenced by various factors such as nature and surface charge of the metal, the number of adsorption sites and the chemical composition of the used inhibitor. BF is rich in flavonoids especially *flavone*. The *flavonoids* components can absorb on metallic surface based on donor–acceptor interactions between π -electrons of aromatic ring and vacant d-orbits of *Fe* [52]. The large number of *flavone* in BF may react with iron, which adsorb on the metal surface, forming organo-metallic complex, such as *Fe–flavone* according to the reported mechanism [53].

III.5.3. Correlation between inhibition efficiency and antioxidant activity

The relationships between the percentage activity of DPPH[•] and FRAP as well as inhibition efficiency $\eta\%$ (calculated from Tafel, EIS and LPR) are analyzed by comparing the trends of percentage activity (%) and those of inhibition efficiency by *Origin 6.0*. The correlation between percentage activity (%) and inhibition efficiency of BF are plotted in Fig. 7.

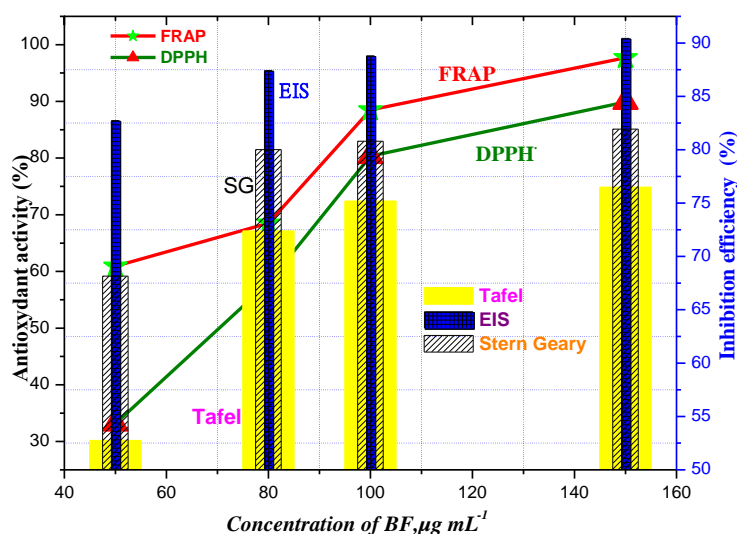


Figure 7. The trends of antioxidant activity and inhibition efficiency calculated by Tafel, EIS and S&G methods

Fig.7 shows the evolution of antioxidant activity measured by two methods (DPPH[•] and FRAP) and the anticorrosive activity as a function of the concentrations of n-butanol fraction. It is noted that the percentage of antioxidant activity of BF derived from the FRAP method is higher than that obtained by DPPH[•] method. Otherwise, one observe that

when the percentage of antioxidant activity increases, the inhibiting efficiency calculated by Tafel, EIS and LPR increases as well with concentration. Accordingly, the correlation between antioxidant and anticorrosion activities of n-butanolic fraction may be imputed to the presence of flavonoids. These last are responsible for both reduction of Fe^{3+} to Fe^{2+} and scavenging of free radicals as well as the corrosion inhibition through the presence of functional (O-H, C-O, C=O) and aromatic ring groups [54] in their main structure. These results are in agreement with those reported in references [55, 56]. In order to confirm the highlighted correlation, we have set ourselves the consideration of a pure antioxidant agent. Our choice was ascorbic acid. Corrosion inhibition was investigated by electrochemical impedance measurement.

III.5.4. EIS study for ascorbic acid

The EIS measurement is used to gather the information related to kinetics and adsorption mechanism of ascorbic acid on the mild steel surface at 298 K.

The Nyquist plots without and with the presence of various concentrations of ascorbic acid are shown in Fig. 8. In order to extract qualitative information, the impedance spectra are fitted using the modified Randles equivalent circuit presented in Fig. 4. According to the above mentioned equivalent circuit, an excellent agreement between the experimental and simulated curves is obtained for all impedance spectra with $\chi^2=0.05$.

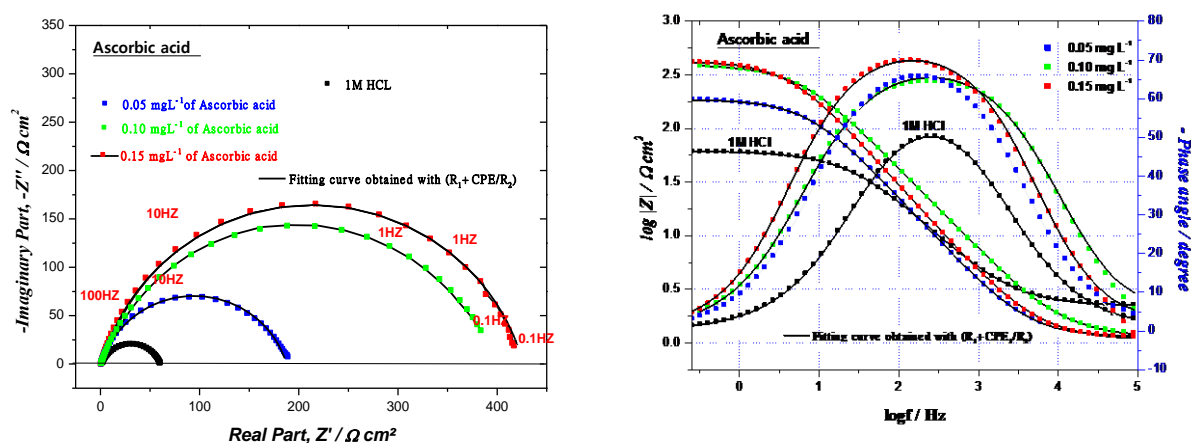


Figure 8. Nyquist and Bode plots of the mild steel in *1M HCl* without and with different concentrations of ascorbic acid at 298 K by $R_s + CPE/R_{ct}$

As shown in Fig. 8, the impedance spectra of mild steel recorded in uninhibited as well as in inhibited media show only one depressed capacitive loop, which is generally associated to the charge transfer process. The depression in the impedance plots is characteristic of

solid electrodes and is usually ascribed to frequency dispersion which is attributed to the heterogeneity of the metal surface, which results from surface roughness due to the corrosion process, impurities, and dislocations and also from the adsorption of inhibitors [57]. As a consequence, in this case the impedance behavior of the electric double layer is better described by a constant phase element (CPE) instead of a pure double layer capacitor C_{dl} for more accurately fit of the experimental data set. Moreover, the addition of ascorbic acid to the corrosion medium leads to an increase in size of the semicircle with increase of the inhibitor concentration indicating an increase in corrosion resistance, accordingly the inhibiting effect increases as well. The corresponding EIS parameters such as R_s , R_{ct} , C_{dl} , n and $\eta_{EIS}\%$ obtained by fitting the experimental data are illustrated in Table 8.

Table 8. Impedance parameters of mild steel in 1 M HCl in the absence and presence of ascorbic acid at 298K

| | C_{inh} | R_s | R_{ct} | Q_{dl} | n_{dl} | C_{dl} | χ^2 | $\eta_{EIS}\%$ |
|----------------------|-----------|-------|----------|----------|----------|----------|----------|----------------|
| Blank | 1M HCl | 1.14 | 58.7 | 373.3 | 0.767 | 118.8 | 0.011 | - |
| Ascorbic acid | 0.05 | 1.13 | 186.5 | 261.2 | 0.790 | 136.8 | 0.05 | 68.11 |
| | 0.10 | 1.14 | 398.3 | 181.7 | 0.823 | 110.8 | 0.08 | 85.06 |
| | 0.15 | 1.11 | 425.3 | 167.7 | 0.838 | 82.2 | 0.07 | 86.01 |

where C_{inh} in ($mg L^{-1}$), R_s & R_{ct} in (Ωcm^2), Q in ($\mu F s^{n-1} cm^2$), C_{dl} in ($\mu F cm^2$)

It can be seen from Table 8 that the addition of ascorbic acid increases the values of charge transfer resistance ($425 \Omega cm^2$ at $0.15 mg L^{-1}$). This behavior can be due to the formation of a protective layer on the metal surface which prevents further corrosion of mild steel. Furthermore, the adsorption of inhibitor onto the mild steel surface leads to a decrease in its double layer capacitance C_{dl} values, which can be attributed to an increase in thickness of the double layer [58]. Also, it is to be noted that the addition of ascorbic acid leads to decrease in n values when compared to that obtained in uninhibited solution; which can be explained by an increase of the initial surface heterogeneity resulting from the adsorption of inhibitor molecules on the metal surface.

Thus the presence of a pure antioxidant leads to an increase in the resistance of the metal against corrosion and consequently the inhibiting efficiency increases thanks to the presence of heteroatoms and functional groups which facilitate adsorption onto the metal surface. Several authors have studied the inhibiting effect of ascorbic acid [59-62]. This study confirms the correlation obtained between the antioxidant activity of the n-butanolic

fraction and the inhibition efficiency of the same fraction mainly due to flavonoids and especially *flavone*.

III.6. Effect of temperature

The temperature is an important kinetic factor that impacts the inhibition efficiency and can modify the adsorption of inhibitor onto the electrode surface. In order to study the effect of this parameter on corrosion inhibition characteristics, the experiments are conducted by EIS in the range of temperature 298–333K in the absence and the presence of BF at 0.15 gL^{-1} in 1 M HCl as shown in Fig. 9(a,b). It should be noted that a good correlation between the experimental and simulated data is obtained by the circuit ($R_e + CPE_1 / (R_f + CPE_2 / R_{ct})$) previously adopted for BF inhibitor, which perfectly attests to the existence of two relaxation phenomena in the operated frequency domain.

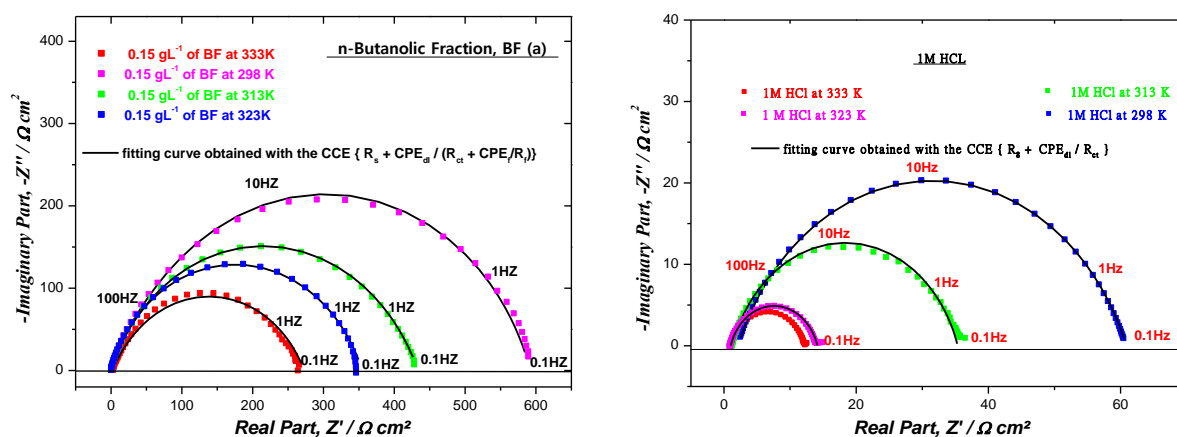


Figure 9. Nyquist (a, b) diagrams for mild steel in 1 M HCl solution at different temperatures in the presence (a) and absence (b) of 0.15 g L^{-1} of BF

The electrochemical parameters deduced from the impedance spectra are summarized in Table 9.

Table 9. Electrochemical impedance parameters for mild steel in *1M HCl* in the absence and presence of 0.15 g L^{-1} BF at different temperatures

| | C_{inh} | R_s | R_{ct} | Q_{dl} | n_{dl} | C_{dl} | R_f | Q_f | n_f | C_f | R_P | $\eta_{EIS}\%$ |
|--------------|-----------|-------|----------|----------|----------|----------|-------|-------|-------|-------|-------|----------------|
| Blank | 298 | 1.14 | 58 | 373 | 0.769 | 118.8 | - | - | - | - | 58 | - |
| | 313 | 1.28 | 34 | 450 | 0.760 | 120.2 | - | - | - | - | 34 | - |
| | 323 | 1.01 | 13 | 604 | 0.757 | 127.8 | - | - | - | - | 13 | - |
| | 333 | 1.23 | 11 | 690 | 0.752 | 138.4 | - | - | - | - | 11 | - |
| BF | 298 | 1.31 | 150 | 50 | 0.876 | - | 440 | 90 | 0.743 | 29.62 | 590 | 90.05 |
| | 313 | 1.27 | 66 | 41 | 0.861 | - | 388 | 136 | 0.672 | 31.71 | 454 | 87.22 |
| | 323 | 1.10 | 55 | 65 | 0.849 | - | 299 | 148 | 0.670 | 32.17 | 354 | 83.61 |
| | 333 | 3.39 | 45 | 65 | 0.843 | - | 224 | 185 | 0.666 | 37.59 | 269 | 78.43 |

where R_f, R_{ct}, R_P and R_s in $\Omega\text{ cm}^{-2}$, Q_f and Q_{dl} in $\mu\text{F s}^{n-1}\text{ cm}^{-2}$, C_{dl} in $\mu\text{F cm}^{-2}$

From these results, we note the important diminution of ($R_{ct}=R_P$) and R_f values when the temperature of blank solution increases and enhances the C_{dl} , Q_f and Q_{dl} values both in uninhibited and inhibited solutions. In the presence of the tested inhibitor, the dissolution of mild steel is extensively retarded. The inhibition efficiencies are found to decrease with increasing solution temperature from 298 to 323 K. This behavior can be interpreted on the basis of inhibitor desorption from the mild steel surface.

The values of activation energy E_a are estimated using Arrhenius Equation (4):

$$\frac{1}{R_p} = A \exp\left(\frac{-E_a}{RT}\right) \quad (4)$$

where E_a is the apparent effective activation energy, R is the general as constant, T is the absolute temperature, and A is the frequency factor.

Since the corrosion rate is inversely proportional to R_p , the values of $\ln(1/R_p)$ and $\ln(R_p * T)^{-1}$ are plotted as a function of $1000/T$ in Fig. 10 (a, b) for the mild steel corrosion in *1M HCl* solutions in the absence and presence of BF at 0.15 gL^{-1} .

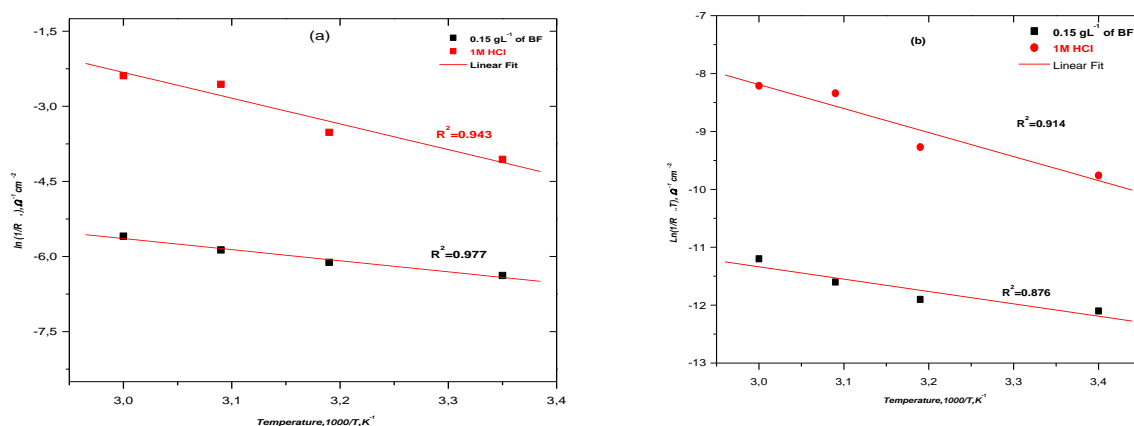


Figure 10. Arrhenius plots of mild steel obtained in *1 M HCl* in the absence (a) and presence of 0.15 g L^{-1} of BF (b)

The kinetic parameters such as enthalpy and entropy of dissolution process may also be evaluated from the temperature effect as well as E_a which are listed in Table 10. An alternative formulation of Arrhenius equation is called transition state, given by Equation (5):

$$\frac{1}{R_p T} = \frac{R}{Nh} \exp\left(\frac{\Delta S_a^*}{R}\right) \exp\left(-\frac{\Delta H_a^*}{RT}\right) \quad (5)$$

where h is Planck's constant ($h = 6.6252 \cdot 10^{-34} \text{ J s}$), N is Avogadro's number ($N = 6.023 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}$), ΔS_a^* is the entropy of activation and ΔH_a^* is the enthalpy of activation.

Table 10. Activation parameters for mild steel in *1M HCl* in the presence and the absence of 0.15 g L^{-1} of BF

| Inhibitor | $E_a / \text{kJ mol}^{-1}$ | $\Delta H_a^* / \text{kJ mol}^{-1}$ | $\Delta S_a^* / \text{J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ |
|-----------|----------------------------|-------------------------------------|---|
| Blank | 42.6 | 34.40 | -162.07 |
| BF | 18.4 | 17.70 | -238.40 |

The activation energy value in the presence of 0.15 g L^{-1} of BF is lower than the one in uninhibited solution. The decrease of E_a in the presence of BF indicates the easier adsorption of flavonoids especially *flavone* on mild steel surface. Indeed, the lowered E_a in inhibited systems when compared to the blank has been reported to be indicative of chemical adsorption mechanism [63].

Moreover, the positive sign of the enthalpy ΔH_a^* in the absence and presence of inhibitor reflects the endothermic nature of the metal dissolution process, which suggests the slow dissolution of mild steel. The entropy of activation ΔS_a^* in the absence and presence of the

inhibitor are largely negative. This indicates that the activated complex in the rate determining step represents an association rather than a dissociation step, meaning that, a decrease in disordering is taking place on going from reactants to the activated complex.

III.7. Adsorption isotherms

The study of isotherms describing the type of adsorption of a corrosion inhibitor is of paramount importance, as it can provide important clues about the nature of the metal-inhibitor interaction, the *Langmuir*, *Temkin*, *El-Awady* and *Freundlich* models were then tested to select the most suitable isotherm to model the adsorption of inhibitor on mild steel. The linearized equation of the above models is described in Table 11.

Table 11. Conventional and linearized forms of the most commonly adsorption isotherms.

| <i>Isotherm</i> | <i>Conventional form</i> | <i>Linearized form</i> |
|-------------------|---|---|
| <i>Langmuir</i> | $(\theta / 1 - \theta) = K_{\text{ads}} C_{\text{inh}}$ | $C_{\text{inh}} / \theta = 1 / K_{\text{ads}} + C_{\text{inh}}$ |
| <i>Temkin</i> | $\exp(-2a\theta) = K_{\text{ads}} C_{\text{inh}}$ | $\theta = \{-1 / 2a\} \ln(K_{\text{ads}}) + \{-1 / 2a\} \ln(C_{\text{inh}})$ |
| <i>El-Awady</i> | $(\theta / 1 - \theta)^{1/y} = K_{\text{ads}} C_{\text{inh}}$ | $\log(\theta / 1 - \theta) = y \log(K_{\text{ads}}) + y \log(C_{\text{inh}})$ |
| <i>Freundlich</i> | $\theta = K_{\text{ads}} (C_{\text{inh}}^q)$ | $\ln \theta = \ln(K_{\text{ads}}) + q \ln(C_{\text{inh}})$ |

The values of θ corresponding to different values of *flavone* at 298 K are determined from electrochemical impedance spectroscopy θ_{EIS} according to Equation (6).

$$\theta_{EIS} = \frac{\eta_{EIS} \%}{100} \quad (6)$$

The standard free energy of adsorption, $\Delta G_{\text{ads}}^{\circ}$ was calculated according to Equation (7):

$$\Delta G_{\text{ads}}^{\circ} = -RT \ln(55.5 K_{\text{ads}}) \quad (7)$$

where R is the universal gas constant ($J K^{-1} mol^{-1}$), $T(K)$ is the thermodynamic temperature and K_{ads} is the adsorption/desorption equilibrium constant and 55.5 molL^{-1} is used for molar concentration of water in solution.

Figure 11 illustrates the graphical representation of the linear equations of the different isotherms tested and their correlation factors.

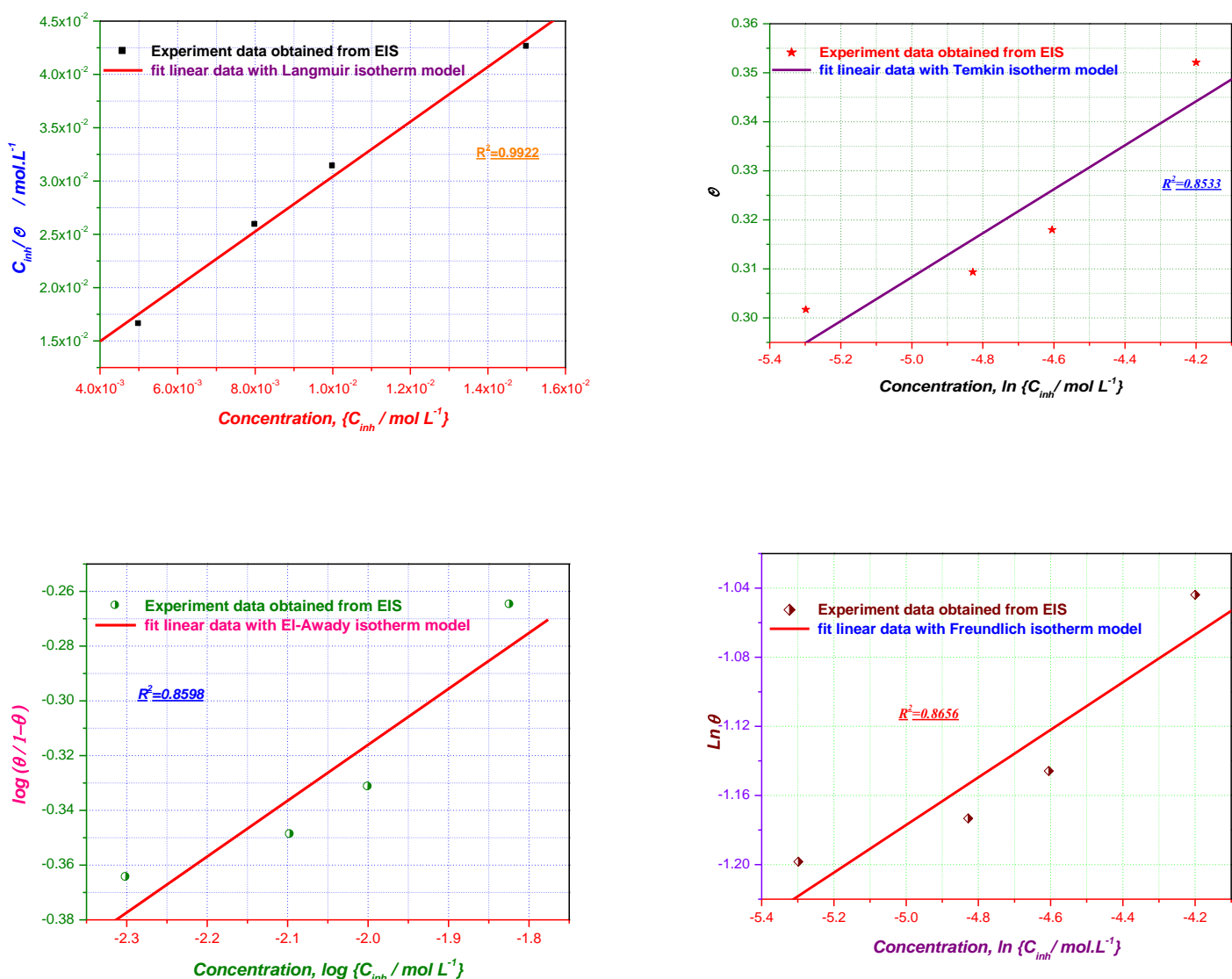


Figure 11. Plots of the adsorption isotherm models of *flavone* for mild steel surface in 1M HCl at 298 K obtained from EIS data

The adsorption parameters deduced from the undertaken isotherms are recorded in Table 12.

Examination of Table 12 shows that both the R^2 coefficient of determination and the p -value are acceptable and it appears that the Langmuir isotherm is suitable to explain the mode of adsorption of *flavone* molecules. Nevertheless, the slope of the corresponding curve is far from being unitary. Therefore, the Langmuir model cannot be used to explain the mode of adsorption.

Table 12. Adsorption parameters deduced from various adsorption isotherms for mild steel corrosion in 1M HCl in the presence of *flavone* at 298 K.

| <i>Isotherm</i> | $K_{ads}/ L mol^{-1}$ | $\Delta G^*_{ads}/ kJ mol^{-1}$ | R^2 | <i>p-value</i> | <i>Isotherm property</i> | |
|-------------------|-----------------------|---------------------------------|--------|----------------|--------------------------|--------|
| <i>Langmuir</i> | $2.14 \cdot 10^2$ | -23.20 | 0.9922 | 0.0038 | Slope | 2.57 |
| <i>Temkin</i> | $1.44 \cdot 10^5$ | -39.40 | 0.8533 | 0.0762 | <i>a</i> | -11.20 |
| <i>El-Awady</i> | $2.84 \cdot 10^0$ | -38.10 | 0.8598 | 0.0727 | 1/y | 4.90 |
| <i>Freundlich</i> | $6.13 \cdot 10^{-1}$ | -8.74 | 0.8656 | 0.0696 | <i>q</i> | 0.13 |

Moreover, the statistical parameters resulting from the application of the Temkin, El Awady and Freundlich models (R^2 , *p-value*) are respectively of the order of 0.85 and > to 0.05. Thus, any interpretation of thermodynamic quantities such as these isotherms is automatically meaningless. As a result, the different isotherms considered in the present study are unable to describe the mechanism of adsorption of flavone molecules on the mild steel surface.

III.8. Overview on antioxidant and anticorrosion activities of *Zea mays*

The valorization of various extracts of *Z.mays* hairs in both antioxidant and anticorrosive activities has been undertaken by several researchers [64-70]. However, neither fractionation of phenolic compounds issued from *Z.mays* plant nor study of the behavior of the major component, as corrosion inhibitor, were reported in the literature. Table 13 collects the inhibiting efficiencies of extracts, derived from weight loss corrosion tests, at the optimum concentration, on different materials matrix, in acidic media as well as the IC_{50} values derived from *DPPH*^{*} method.

Table 13 Different properties of *Z. mays* hair extract in terms of anticorrosion and

| <i>Extract</i> | <i>Metal Matrix</i> | <i>Studied Method</i> | <i>Factor</i> | <i>Corrosive medium</i> | <i>Optimum concentration</i> | <i>Inhibition efficiency</i> | <i>Extraction method</i> | <i>Part of plant</i> | <i>IC₅₀</i> | <i>Ref.</i> |
|--|---------------------|----------------------------|--|-------------------------|------------------------------|------------------------------|--------------------------|----------------------|------------------------|-------------|
| <i>Electrolyte of Maize</i> | CAEL and NULUX | - | pH, Mass loss | - | - | - | - | - | - | [64] |
| <i>Hexane Ethyl acetate fraction</i> | - | - | Temperature, Solvent to material ratio, Solvent, Extraction time | - | - | - | Ultrasound | - | 12.86 % 83.89% | [65] |
| <i>Methanolic Aqueous Water extract</i> | Mild steel | Weight loss | Temperature | 0.5M HCl | 0.5(w/v) | 95.07 % 79.43 % | Soxhlet Decoction | Aerial | - | [66] |
| | Mild steel | Weight loss (AAS) Analysis | Temperature Immersion time | 0.1M HCl | 20%(v/v) | 77.7 % | Decoction | Aerial | - | [67] |
| <i>Polysaccharides derivatives (ETAPS-EMPZPS-CPPD)</i> | Mild steel | Weight loss PP EIS | Temperature | 1M HCl | 2g/L | 48.8% 64.7% 59.1 % | Synthesis | - | - | [68] |
| <i>Water extract</i> | Steel | Weight loss | | NaCl | - | - | - | Leaves | - | [69] |

| | | |
|----------------------------|---------|------|
| <i>(date palm, phoenix</i> | Aluminu | NaOH |
| <i>dactylifera, henna,</i> | m, | |
| <i>Lawsonia inermis ,</i> | Copper | |
| <i>and corn, Zea mays)</i> | Brass | |

The study brought by [64], treats the corrosion rate of the two plates named CAEL, and NULUX in an electrolyte prepared from *Maize* with *pH* variation. The results show that the average corrosion rate was higher in CAEL than in NULUX during the exposure period and that the corrosion rate is influenced by the *pH* variation. However, in the present study, the effect of mild steel corrosion is undertaken in 1M HCl immersed for 30 min in a solution of hydro-ethanolic, n-butanolic and flavone extracts.

The study provided by [65] aims to optimize the phenolic extraction of corn silk and to identify the phenolic compounds issued from fractionation by experimental design. The results show that the optimal conditions were 30 min extraction time, an extraction temperature of 50 °C, a solid-solvent ratio of 1:10 and 40 % ethanol). In this study the ethyl acetate fraction was found to be richer in flavonoids and had the highest free radical scavenging activity and the highest amount of phenolic compounds. However, in this study, we are interested by the determination of the antioxidant activity of different fractions and to define the family of molecules responsible for the inhibiting action on mild steel.

The study developed by [66], shows that the methanolic and aqueous extracts have a maximum efficiency of 95.07 % and 79.43 % at a concentration of 0.5 (w/v) at 313 K. Adsorption on the metallic surface is done by the physisorption mechanism. While, our study shows that the maximum efficiency of the n-butanolic fraction was reached at a temperature of 298K and that the inhibitory efficiency decreases with increasing temperature as well as the adsorption of the active molecules follows the chemisorption mechanism.

Orubite et al. [67], have studied the inhibiting efficiency of the water extract of *Z.mays*, extracted by the decoction method on the corrosion of mild steel in a 0.5 M HCl solution. The results show that the maximum of inhibition reached only 77.7 % and was achieved at a concentration of 20 % (v/v) at 303 K by the weight loss method. The thermodynamic parameters show that the adsorption of molecules on the metal surface followed the Langmuir isotherm. Indeed, no study has been carried out on the extraction yields and biological activity of the aqueous extract as well as the anticorrosion activity of the molecules responsible for corrosion. On the other hand, this study treats the anticorrosion activity of the hydro-ethanolic extract, the n-butanolic fraction and a synthesized molecule (flavone) in order to determine the molecules responsible for the corrosion inhibition of mild steel in a 1M HCl solution. Therefore, the present study presents a comparative study

between the two extraction methods, a fractionation of the polyphenols and then an analysis of the antioxidant activity of the different fractions.

Zhang et al.[68], studied polysaccharide derivatives synthesized as corrosion inhibitors for mild steel in 1M HCl. The results suggest that the inhibitors were mixed inhibitors with predominantly anodic inhibition and that the adsorption process followed the Langmuir isotherm adsorption model. However, in this work, we studied the inhibitory effect of a synthesized molecule (flavone) to determine the family of molecules responsible for the inhibitory action of the hydro-ethanolic extract of *Z.mays*. Bani Hani [69], has studied the recovery of agricultural waste in several areas e.g. cement brick manufacture, energy production, use in water and wastewater treatment as adsorbent, fertilizers, animal feed stocks, and extraction of industrial chemicals for huge and important applications such as corrosion inhibitors. This study aims to value *Z.mays* hair as a mild steel corrosion inhibitor and as an antioxidant. Rehan [70], was interested by the inhibitory effect of the aqueous extract of several plants on the corrosion of four metals in sodium chloride and hydroxide. The results show that the aqueous extract of *Z.mays* has minimal efficiency when compared to other plants. Whereas, in this study, we presented an in-depth study on corrosion inhibition by the hydro-ethanolic extract.

In summary, this study aimed to make a comparative study between two extraction methods (Soxhlet and ultrasounds) of *Z.mays* hair by three solvents and then to target the solvent that extracts polyphenols well to make the fractionation of polyphenols (flavonoids). Then we performed a quantitative analysis and antioxidant activity for different fractions to determine which one is rich by active molecules. Then, the study of the corrosion inhibiting effect was carried out on the hydro-ethanolic, n-butanolic and flavone extracts for mild steel in 1 M HCl medium by electrochemical methods (PP,EIS). We studied the inhibitory effect of n-butanolic to determine the family of molecules responsible for the inhibitory action of the hydro-ethanolic extract of *Z.mays*, while the study of the effect of flavone aims to determine the adsorption mechanism on the mild steel surface. The thermodynamic study showed that the adsorption occurs according to the chemisorption mechanism and that the adsorption mechanism does not follow any isotherm model. Finally, this study aimed to correlate the antioxidant activity with the anticorrosion activity while the other studies did not address this issue.

IV. Conclusion

In this study, we proved that ultrasound extraction allows a better extraction of phenolic compounds when compared to soxhlet extraction. Furthermore, the solvent ethanol:water (70:30) remains the best solvent to extract phenolic compounds compared to the other tested solvents. The process of fractionation of flavonoids from the hydro-ethanolic extract (ultrasound) shows that the n-butanolic fraction is rich of polyphenols, especially *flavone* according to HPLC, and that only ensures a better antioxidant activity compared to the other fractions. Electrochemical studies of the hydro-ethanolic extract (ultrasound) show that the inhibiting efficiency increases with rise of concentration, and that this inhibiting action is due to flavonoids, especially *flavone*. Also the results showed that there is a correlation between antioxidant and anticorrosive activities of n-butanolic fraction. Neither Langmuir's ideal hypothetical model nor the chosen non-ideal models (Temkin, El Awady, Freundlich) are able to explain the mode of adsorption of flavone molecules on the matrix surface of mild steel.

REFERENCES

1. Z. Khiya, M. Hayani, A. Gamar, *J. King. Saud. Univ. Sci.*, 31 (2019) 322.
2. C.A. Newal, L.A. Anderson, J.D. Phillipson, *Pharmaceutical Press*. London; 1996.
3. S. Panizza, *Soã Paulo*; 1997.
4. M. Pedretti, *Studio Editorial, Milan*; 1980.
5. D.V.O. Velazquez, H.S. Xavier, J.E.M. Batista, *Phytomedicine*, 12 (2005) 363.
6. J. Liu, C. Wang, Z. Wang, *Food Chem.*, 126 (2011) 261.
7. M.I. Azevedo, A.F. Pereira, *Mol Pain*, 9(2013) 53.
8. G. Piluzza, S. Bullitta. *Pharm. Biol.*, 49(2011) 240.
9. F. Chemat, M.A. Vian, G. Cravotto, *Int. J. Mol. Sci.*, 13(2012) 8615.
10. Ill-M. Chung, S.H. Kim, V. Hemapriya, K. Kalaiselvi, M. Prabakaran, *Chin. J. Chem. Eng.*, 27 (2019) 717.
11. A. Ostovari, S.M. Hoseinieh, M. Peikari, *Corros. Sci.*, 51 (2009) 1935.
12. D. Dwivedi, K. Lepkova, T. Becker, *RSC Adv.*, 7 (2017) 4580.
13. C.G. Dariva, A.F. Galio, *Mechanisms and Applications*, Chapter 16, 365.
14. P. Singh, V. Srivastava, M.A. Quraishi, *J. Mol. Liq.*, 216 (2016) 164.
15. A. Dutta, S.K. Saha, P. Banerjee, D. Sukul, *Corros. Sci.*, 98 (2015) 541.
16. D. Ben Hmamou, R. Salghi, A. Zarrouk, *Der Pharma Chem.*, 4 (2012) 1496.
17. S. Aourabi, M. Driouch, K. Ammor, M. Sfaira, F. Mahjoubi, *Anal. Bioanal. Electrochem.*, 10 (2018) 912.

18. S. Aourabi, M. Driouch, M. Sfaira, F. Mahjoubi, *Int. J. Electrochem. Sci.*, 14 (2019) 6376.
19. M. Dahmani, A. Et-Touhami, S.S. Al-Deyab, *Int. J. Electrochem. Sci.*, 5 (2010) 1060.
20. M.D. Judith, Thèse de doctorat en pharmacie, Université de BAMAKO, (2005) 57.
21. N. Dohou, K. Yamni, S. Tahrouch, *Bull. Soc. Pharm.*, 142 (2003) 61.
22. A. Diallo, Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université BAMAKO, (2005) 38.
23. Q. Liu, H.Y. Yao, *FoodChem.*, 102(2007) 732.
24. C.C.Chang, M.H.Yang, H.M.Wen, J.C.Chern, *J.Food Drug Anal.*, 10 (2002)178.
25. R.G.O. Rumbaoa, D.F. Cornago, I.M. Geronimo, *J.Food Comp. Anal.*, 22 (2009) 546.
26. M. Oyaizu, *Jpn.J.Nutr.*, 44 (1986) 307.
27. P. Prieto, M. Pineda, M. Aguilar, *Anal. Biochem*, 269 (1999) 337.
28. M. Markom, M. Hasan, W. Ramli, W. Daud, S. Singh, J.M. Jahim, *Sep.Puri.Tech.*, 52 (2007) 487.
29. T.I. Lafka, V. Sinanoglou, E.S .Lazos, *Food Chem.*, 104 (2007) 1214.
30. S. Jennan, Thèse de doctorat en chimie, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah - Fez Morocco, (2015).
31. E.C. Schinor, M.J. Salvador, C.C .Turatti, O.L.A.D. Zucchi, D.A. Dias,*Ultrason.Sonochem*, 11 (2004) 415.
32. M. Biesaga , *J.Chrom A.*, 1218 (2011) 2505.
33. R. Sanghi, S.S. Kannamkumarath, *J. Anal.Chem.* 59 (2004) 1032.
34. H.F. Zhang, X.H. Yang, L.D. Zhao, Y. Wang, *Innov. Food Sci.Emerg. Techn.* 10 (2009) 54.
35. M.A. Solihah, W.I. Wan Rosli, A.R. Nurhanan, *Int. Food Res. J.*, 19 (2012) 1533.
36. T. Bhaigyabati, T. Kirithika, J. Ramya, K. Usha, *RJPBCS*, 2 (2011) 986.
37. B.C.B.S. Mello, J.C.C. Petrus, M.D. Hubinger, *J. Food Eng.*, 96 (2010) 533.
38. Z.A. Maksimovic, N. Kovacevic, *Fitoterapia*, 74 (2003) 44.
39. A. Ardestani, R.Yazdanparast, *Food Chem.*, 104 (2007) 21.
40. B. Sultana, F. Anwar, M. Ashraf, *Molecules*, 14 (2009) 2167.
41. H. Li, X. Wang, P. Li, Y. Li, H. Wang, *J. Food Drug Anal.*, 16(2008) 73.
42. B. Bozan, G. Tosun, D. Özcan, *Food Chem.*, 109 (2008) 426.
43. A. Saleem, M. Ahotupa, K. Pihlaja, *Z Naturforsch.* 56 (2001) 973.
44. Y.Y. Thoo, S.Y. Ng, M.Z. Khoo, W.M.W. Aida, C.W. Hoo, *Int. Food Res. J.*, 20(2013) 1103.
45. C.A.R. Evens, N.J. Miller, G. Paganga, *Free Radic. Biol. Med.*, 20 (1996) 933.

46. G.K. Jayaprakasha, B. Girenavar, B.S. Patil, *Bioresour. Technol.*, 99 (2008) 4484.
47. A. Chetouani, M. Daoudi, B. Hammouti, T.B. Hadda, M. Benkaddour, *Corros. Sci.*, 48 (2006) 2987.
48. B. Qian, J. Wang, M. Zheng, *Corros. Sci.*, 75 (2013) 184.
49. F. Bentiss, M. Traisnel, H. Vezin, *Corros. Sci.*, 46 (2004) 2781.
50. W. Li, Q. He, S. Zhang, C. Pei, B. Hou, *J. Appl. Electrochem.*, 38 (2008) 289.
51. A. Popova, *Corros. Sci.*, 49 (2007) 2144.
52. A. Krilov, R. Gref, S. Australia, *Wood Sci. Technol.*, 20 (1986) 369.
53. D.A. Lopez, S.N. Simison, S.R. De Sanchez, *Electrochem. Acta*, 48 (2003) 845.
54. G.J. Brug, A.L.G. Van Den Eeden, M. Sluyters-Rehbach, J.H. Sluyters, *J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.* 176 (1984) 275.
55. W.T. Kang, M.K. Jain, *Corros.Sci.*, 53 (2011) 569.
56. M.H. Ghahremani, F. Dashti, D. Dastan, *Hort.Envi.Biot.*53(2012) 116.
57. M. Beniken, M. Driouch, M. Sfaira, B. Hammouti, M. Ebn Touhami, M. Mohsin, *J. Bio. Tribo. Corros.* 4 (2018) 34.
58. F.Bentiss, M. Lebrini, M.Lagrenée, *Corros. Sci.*, 47 (2005) 2915.
59. I. Sekine, Y. Nakahata, H. Tanabe, *Corros.Sci.*, 28 (1988) 987.
60. I.A. Fuadi, Suhendrayatna, IOP Conf. Series: *Materi.Sci.Eng.*, 536 (2019) 012108.
61. A. Anejjar, O.Id El Mouden, A. Batah, A. Bouskri, A. Rjoub, *Appl. J. Envi. Eng. Sci.*, 3(2017), ISSN: 2509-2065.
62. E.S. Ferreira, C. Giacomelli, F.C. Giacomelli, A. Spinelli, *Mater. Chem. Phys.*, 83 (2004) 129.
63. A.M. Abdel-Gaber, B.A. Abd-El-Nabey, I.M. Sidahmed, A.M. El-Zayady, M. Saadawy, *Corros. Sci.*, 48 (2006) 2765.
64. A. Andrews, S. Kwofie, *Leonardo El J Pract Technol*, 7(2010) 97.
65. H. Nurraihana, W.I. Wan Rosli, S. Sabreena, N.A. Norfarizan-Hanoon, *J. Food Meas Charact*, 2018, <https://doi.org/10.1007/s11694-018-9799-z>
66. E. Ayah, K.O. Okorosaye, A.O. James, *J. Appl. Sci. Environ. Manage*, 22 (2018) 439.
67. K.O. Orubite, N.C. Ngobiri, *IOSR J.Appl.Chem*, 10, (2017) 51.
68. H. Zhang, D. Wang, F. Wang, X. Jin, T. Yang, Z. Cai, J. Zhang, *Desalination*, 372 (2015) 57.
69. E. Bani-Hani, *J. Ind. Pol. Cont*, 33(2017) 1622.
70. H. Rehan, *Materialwissenschaft und Werkstofftechnik*, 34 (2003) 232.

Chapitre V :

Optimisation de l'extraction assistée par ultrasons des polyphénols de *l'Ammi visnaga* et des stigmates de *Zea mays* par plan d'expérience

Contenu du chapitre

Le présent chapitre présente les résultats obtenus au cours de l'optimisation par plan d'expérience d'une méthode d'extraction assistée par ultrasons dite « verte ». Le but de cette étude est d'aboutir au meilleur rendement en extraits hydro-éthanoliques ainsi qu'en teneur en phénols totaux de la partie aérienne de *l'A.visnaga* et des stigmates de *Z. mays*. Les effets de l'influence de la concentration du solvant, du temps d'extraction et du rapport solvant / matière ont été étudiés. L'extraction ultrasonique a été réalisée à 50 KHz et à température ambiante. Les extraits ainsi obtenus ont été caractérisés quantitativement en termes de teneur en polyphénols totaux. La méthodologie de surface de réponse (MSR) a été réalisée pour optimiser le processus d'extraction et augmenter l'efficacité de l'extraction. L'efficacité du processus d'extraction a été déterminée à partir d'une analyse de variance (ANOVA). Les résultats de l'optimisation de l'extraction de *l'A.visnaga* ont montré que l'état optimal en phénols totaux (178.58 mg EAG/g d'extrait) de l'extrait hydro-éthanolique a été obtenu avec une concentration d'éthanol de 76 % pour une durée d'extraction de 36 min, et un rapport solvant/matière de 13 mL/g. Alors que le rendement d'extraction optimale (18.77 %) a été obtenu à une concentration en éthanol de 79 %, un temps d'extraction de 38 min, un rapport solvant/matière de 11 mL/g.

Les conditions optimales pour obtenir un meilleur rendement (20.95%) et une teneur en phénols totaux de 199.65 mg EAG/d'extrait pour l'extrait hydro-éthanolique a été obtenu avec la concentration en éthanol de 78%, 38 min pour la durée d'extraction et 12 mL/g pour le rapport solvant/matière.

Les résultats d'optimisation de l'extraction des stigmates *Z. mays* ont montré que l'état optimal en phénols totaux (257.88 mg EAG/g d'extrait) de l'extrait hydro-éthanolique à été obtenu pour une durée d'extraction de 40 min, une concentration en éthanol de 68% et un rapport solvant / matière de 11 mL/g. Pour obtenir un rendement maximal en extrait hydro-éthanolique (20.50%), les conditions ont été 59%, 47min et 15 mL/g pour la concentration en éthanol, le temps d'extraction et le rapport solvant/matière, respectivement. L'efficacité maximale de l'extraction hydro-éthanolique, (31.37 %) et la teneur en polyphénols (253.87 mg EAG/g d'extrait) ont été obtenues en utilisant pour une durée d'extraction de 40 min, un rapport éthanol: eau (70:30) et un rapport solvant / matière de 11 mL/g.

Les résultats de l'optimisation de l'extraction hydro-éthanolique aux ultrasons à partir de *l'A. visnaga* et des stigmates de *Z. mays* ont montré que les valeurs expérimentales obtenues sont en bon accord avec les valeurs prévues, confirmant ainsi l'adéquation du modèle utilisé et le succès de la MSR pour l'optimisation des conditions d'extraction.

Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Ammi visnaga* using response surface methodology

S. AOURABI^{1,2*}, S. JENNAN¹, M. SFAIRA² and F. MAHJOUBI¹

¹ Laboratory of Materials Engineering and Environment, Faculty of Sciences, University Sidi Mohamed Ben Abdellah (USMBA) Fez, (Morocco).

² Laboratory of Materials Engineering, Modeling and Environment, Faculty of Sciences, USMBA Fez, (Morocco).

*Address for correspondence

E-mail: sarra.aourabi1@gmail.com

Received on 02 October 2018; received in revised form, 18 December 2018; accepted, 30 December 2018; published 01 June 2019

Abstract

In this study, response surface methodology (RSM) was used to optimize ultrasound-assisted extraction (UAE) conditions for obtaining the maximum yield and content of phenolic compounds of *Ammi visnaga* extracts (EAV). Three independent variables including ethanol concentration (%), extraction time (time) and solvent-to-material ration (mL/g) were studied. The results showed that the optimal UAE condition was obtained with an ethanol concentration of 76 %, an extraction time of 36 min and a solvent-to-material ratio of 13 mL/g for total phenols. Ethanol concentration, extraction time and solvent-to-material ratio were respectively 79 %, 38 min and 11 mL/g for the maximum yield. The experimental values under optimal conditions were in good consistent with the predicted values, confirming suitability of the model employed and the success of RSM for optimization of the extraction conditions.

Keywords: *Ammi visnaga*, Optimization Ultrasound-assisted extraction, Phenolic compounds, Extraction yield, Response surface methodology.

I. Introduction

Ammi visnaga (*A. visnaga*) has many English names, including Khella, visnaga, Bisnaga and Toothpick weed. It is a member of the Apiaceae (Umbelliferae) family; widely and wildy distributed in Asia, Europe and North Africa.^[1,2]; especially in Egypt, Morocco and Islamic republic of Iran.^[3]; It has antispasmodic activity and is recommended for stomach cramps, kidney stones, kidney colic and pain in the urinary tract.^[4]; It is also used as a

remedy against asthma, angina, cardiovascular diseases, diabetes and vitiligo.^[5]; The khiline, visnagine and visnadine are the principal actives of the fruits of *A. visnaga*, they are used in the pharmaceutical industry.^[6]; The level of compounds in the dry fruits varies widely depending on genetic factors and environmental conditions.^[7]

Different methods, including refluxing, boiling, heating and Soxhlet extraction, have been used for the extraction of phenolic compounds; however, the disadvantages are the loss of phenols due to oxidation, hydrolysis and ionization during extraction as well as the long extraction time.⁸ Recently, various new extraction techniques have been developed for the extraction of the phenolic compounds from plants, including microwave-assisted extraction (MAE),^[9] ultrasound-assisted extraction (UAE),^[10] accelerated solvent extraction (ASE)^[11] and supercritical fluid extraction (SFE).^[12]; Among these, UAE is an inexpensive, simple and efficient alternative to conventional extraction technique.

The enhancement of extraction using ultrasound is mainly attributed to acoustic cavitations produced in the solvent.^[13,14]; Many factors such as solvent concentration, extraction temperature, solvent-to-solid ratio, solvent pH and pressure may significantly influence the extraction efficiency, antioxidant activity and phenolic content.^[15,16]; Hence, it is necessary to optimize the extraction conditions to obtain highest yield and phenolic content.

In order to optimize the extraction conditions, including concentration of solvent, extraction time and solvent-to-material ratio, response surface methodology (RSM) has been widely used. RSM has been applied to optimize UAE of phenolic compounds in many studies,^[11,17] to the best of our knowledge, there are no reports yet about the application of RSM on UAE optimization for the extraction of phenolic compounds from *A. visnaga*.

RSM can be used to evaluate the effects of multiple factors and their interactions with one or more response variables.^[18, 19]; Different RSM methods such as Box-Behnken design (BBD), central composite design (CCD) and three-level full factorial design (TFFD) have been widely used.^[20]; The advantage of RSM is the reduced number of experimental trials needed to evaluate multiple parameters and their interactions.

In this work, the main objective was to investigate the extraction variables (extraction time, Ethanol concentration and solvent-to-material ratio) and optimize these variables values by RSM for maximization of extraction yield and content of total phenolic.

II. Materials and methods

II.1. Vegetal material

A. visnaga was collected from the Taounate region of Morocco in July 2017. The botanical identification of the species was carried with laboratory of Biotechnology and Preservation of Natural Resources (BPNR), Sidi Mohamed Ben Abdellah University, Fez, Morocco.

II.2. Ultrasounds assisted extraction

The plant drug has been crushed and mixed with a predetermined volume of ethanol (%) and then they are placed in a 250 mL Erlenmeyer flask. The extractions were performed at different solvent percentages, amount of material and for different time periods in an ultrasonic bath (45Hz; 100W). After extraction the mixture was filtered through Whatman paper and the solvent was removed using vacuum steam rota.

II.3. Experiment design

Response surface methodology (RSM) was used for investigating the influence of three independent variables on total phenols and yield of *EAV*. The main factors affecting extraction efficiency including the ethanol concentration (% , X_1), extraction time (min, X_2) and solvent-to-material ratio (mL/g, X_3). The temperature was not considered in this present work because the sample was kept at room temperature to avoid the degradation of temperature-sensitive compounds.

In the study, the experiments were performed on the Box-Behnken Design (BBD). Three variables were used to optimize the best combination of extraction variables for *A. visnaga* yield and total phenol content.

The complete design was carried out in random order and consisted of 17 experiment including five replicates at central point (Table 1). The data from BBD were analyzed by multiple regressions to fit the following quadratic polynomial model Equation 1:

$$Y = \beta_0 + \sum b_i X_i + \sum b_{ii} X_i^2 + \sum b_{ij} X_i X_j \quad (1)$$

where Y is the predicted response, β_0 is a constant b_i , b_{ii} and b_{ij} are the linear, quadratic and interactive coefficients of the model, respectively. Accordingly, X_i and X_j represent the levels of the independent variables, respectively. The quality of the fitted model was expressed by the coefficient of determination (R^2).

II.4. Determination of the total phenolic content

The total phenols of the extract *A. visnaga* were estimated using the Folin-Ciocalteu method.^[21] This method allows knowing the total polyphenolic content of a given sample. The plant extract (100 µL), suitably diluted, is introduced into a test tube initially containing 6 mL of distilled water, then 500 µL of the Folin reagent is added and the mixture is stirred. After 5 min, a solution of 20 % Na₂CO₃ (1.5 mL) is added while stirring. The solution is adjusted to 10 mL with distilled water. After 2 h of incubation, at room temperature, the absorbance is measured with a white made from distilled water using a spectrophotometer UV-Visible kind Selecta at 760 nm. A calibration curve with different concentrations of gallic acid was plotted. The total phenol content in the extract was expressed in milligram equivalent of gallic acid per gram of extract (mg EGA/g extract), all samples were analyzed in triplicate.

Table 1: BBD experimental design with the independent variables

| Run | Ethanol | Extraction time | Solvent-to-material | Yield | TPC |
|-----|---------|-----------------|---------------------|-------|-------------------|
| | % | min | mL/g | % | mg(EGA/g extract) |
| 1 | 40 | 20 | 20 | 12.40 | 119.34 |
| 2 | 80 | 20 | 20 | 15.20 | 155.80 |
| 3 | 40 | 40 | 20 | 13.50 | 138.56 |
| 4 | 80 | 40 | 20 | 17.50 | 168.50 |
| 5 | 40 | 30 | 10 | 19.00 | 180.80 |
| 6 | 80 | 30 | 10 | 21.00 | 195.30 |
| 7 | 40 | 30 | 30 | 8.00 | 94.16 |
| 8 | 80 | 30 | 30 | 10.80 | 100.43 |
| 9 | 60 | 20 | 10 | 17.00 | 168.50 |
| 10 | 60 | 40 | 10 | 18.00 | 176.50 |
| 11 | 60 | 20 | 30 | 7.23 | 76.10 |
| 12 | 60 | 40 | 30 | 9.00 | 98.23 |
| 13 | 60 | 30 | 20 | 14.50 | 140.19 |
| 14 | 60 | 30 | 20 | 14.23 | 140.00 |
| 15 | 60 | 30 | 20 | 14.20 | 140.00 |
| 16 | 60 | 30 | 20 | 14.00 | 140.00 |
| 17 | 60 | 30 | 20 | 14.00 | 140.00 |

II.5. Statistical analysis

The experimental results of the response surface design were analyzed using Nemrowd software. *p*-value <0.05 were considered to be statistically significant. All experiments were conducted in triplicate unless otherwise noted in the text.

III. Resultants and discussion

III.1. Fitting the model

In order to obtain a more realistic mode, it was necessary to investigate the process variables. Preliminary trials enabled the range of ethanol concentrations (40–80 %), extraction time (20–40 min) and solvent-to-material ratio (10–30 mL/g) to be fixed.

As Table 2 shows, the analysis of variance (ANOVA) of extraction yield and total phenolic indicated that experimental data had a determination coefficient (R^2) of 0.994 and 0.985 respectively, which indicates that only 0.6 % of the total variations were not explained by model for extraction yield and 1.5 % for total phenolic indicating the good representation of the variability of the parameters by the models. R^2_{adj} (adjusted determination coefficient) is the correlation measure for testing the goodness-of-fit of the regression equation.^[22,23]

Table 2: Analysis of variance for the fitted quadratic polynomial model of extraction yield and total phenolic of *A. visnaga* respectively

| Source | Sum of squares | Degree of freedom | Mean square | <i>P-value</i> |
|------------|----------------|-------------------|-------------|----------------|
| Regression | 231.3150 | 9 | 25.70 | <0.001 |
| Residual | 1.4576 | 7 | 0.2082 | |
| Validity | 1.2877 | 3 | 0.4292 | 2.45 |
| Pure error | 0.1699 | 4 | 0.0425 | |
| Total | 232.77 | 16 | | |

$R^2 = 0.994; R^2_{adj} = 0.986; R^2_{pred} = 0.910$

| Source | Sum of squares | Degree of freedom | Mean square | <i>P-value</i> |
|------------|----------------|-------------------|-------------|----------------|
| Regression | 1.757E+0004 | 9 | 1.95E+0003 | <0.001*** |
| Residual | 2.75E+0002 | 7 | 3.93E+0001 | |
| Validity | 2.75E+0002 | 3 | 9.17E+0001 | <0.001*** |
| Pure error | 2.88E-0002 | 4 | 7.22E-0002 | |
| Total | 1.78E+0004 | 16 | | |

$R^2 = 0.985; R^2_{adj} = 0.965; R^2_{pred} = 0.920$

For a good statistical model, the adjusted determination coefficient (R^2_{adj}) should be close to R^2 . As shown in Table 2, R^2_{adj} (0.986 for extraction yield and 0.965 for total phenolic of *A. visnaga*) were close to R^2 . Moreover, R^2_{pred} (0.910 for extraction yield

and 0.920 for total phenolic) is in reasonable agreement with R^2_{adj} and confirms that the model is highly significant.

Table 3: Estimated regression model of relationship between response variable (yield and TPC of *A. visnaga*) and independent variables (X_1 , X_2 , X_3).

| Variable | P-value | |
|-----------|-------------|-------------|
| | Yield | TPC |
| β_0 | < 0.001 *** | < 0.001 *** |
| X_1 | < 0.001 *** | < 0.001 *** |
| X_2 | 0.0451 *** | < 0.001 *** |
| X_3 | < 0.001 *** | < 0.001 *** |
| X_1^2 | 0.0302 *** | < 0.001 *** |
| X_2^2 | 0.207 ** | < 0.001 *** |
| X_3^2 | 0.271 ** | < 0.001 *** |
| X_1X_2 | 4.36 * | < 0.001 *** |
| X_1X_3 | 12.4 | < 0.001 *** |
| X_2X_3 | 13.5 | < 0.001 *** |

It can be seen in Table 3 that extraction yield was affected most significantly by ethanol (X_1) ($p < 0.05$) and solvent to material (X_3) followed by extraction time (X_2) ($p < 0.05$). It was evident that all the quadratic parameter (X_1^2) was significant at the level of $p < 0.05$ whereas two quadratic parameter (X_2^2, X_3^2) and interaction quadratic parameters were insignificant (X_1X_2, X_2X_3, X_1X_3) ($p > 0.05$).

The ANOVA outcome shown in Table 3 revealed that the first order terms of independent variables (X_1, X_2 and X_3) quadratic terms (X_1^2, X_3^2 and X_2^2) and interaction term (X_1X_2, X_1X_3 and X_2X_3) significantly affected the content of total phenolic of *A. visnaga* ($p < 0.05$).

III.2. Analysis of response surface

III.2.1. Effect of extraction parameters on yield extraction

The regression equation was graphically represented by 2D+3D response surface. From two dimensional response surface curves shown in Fig. 1A, 1B, 1C, the effect of the independent variables and their mutual interaction on the extraction yield of *A. visnaga* can be seen. Fig.1A shows the interaction between ethanol concentration (X_1) and extraction time (X_2) on the extraction yield. Increase in ethanol concentration from 51 to 71 % with extraction time from 20 to 32 min enhanced the extraction yield. While with increase of ethanol concentration over 75 % there was a gradual decline in the response and extraction time over 32 min did not show any obvious effect on extraction yield. This could be explained by the increasing extraction time accelerating chemical decomposition of bioactive compound in extract process, resulting in lower extraction yield.^[24]

Fig. 1A show that extractions yield of *A.visnaga* could reach a peak value (16.96 %) with 71 % ethanol concentration and 32 min extraction time.

Fig. 1B indicates the effect of ethanol concentration (X_1) and solvent to material (X_3) on the extraction yield of *A.visnaga*. It can be seen in Fig. 1B that by varying the ethanol concentration from 56 to 79 % with decrease solvent to material from 29 to 10 mL/g, the extraction yield of target compounds increased with increase in ethanol concentration and decrease of solvent to material. As shown in Fig. 1B that extraction yield of *A.visnaga* could reach a peak value (18.77 %) with 79 % ethanol concentration and 11 mL/g of solvent to material.

Fig.1C presents the interaction of extraction time and the solvent-to-material ratio. It was found that maximum yield (18.30 %) was achieved when the extraction time was 38 min and the solvent-to-material ratio was 11 mL/g.

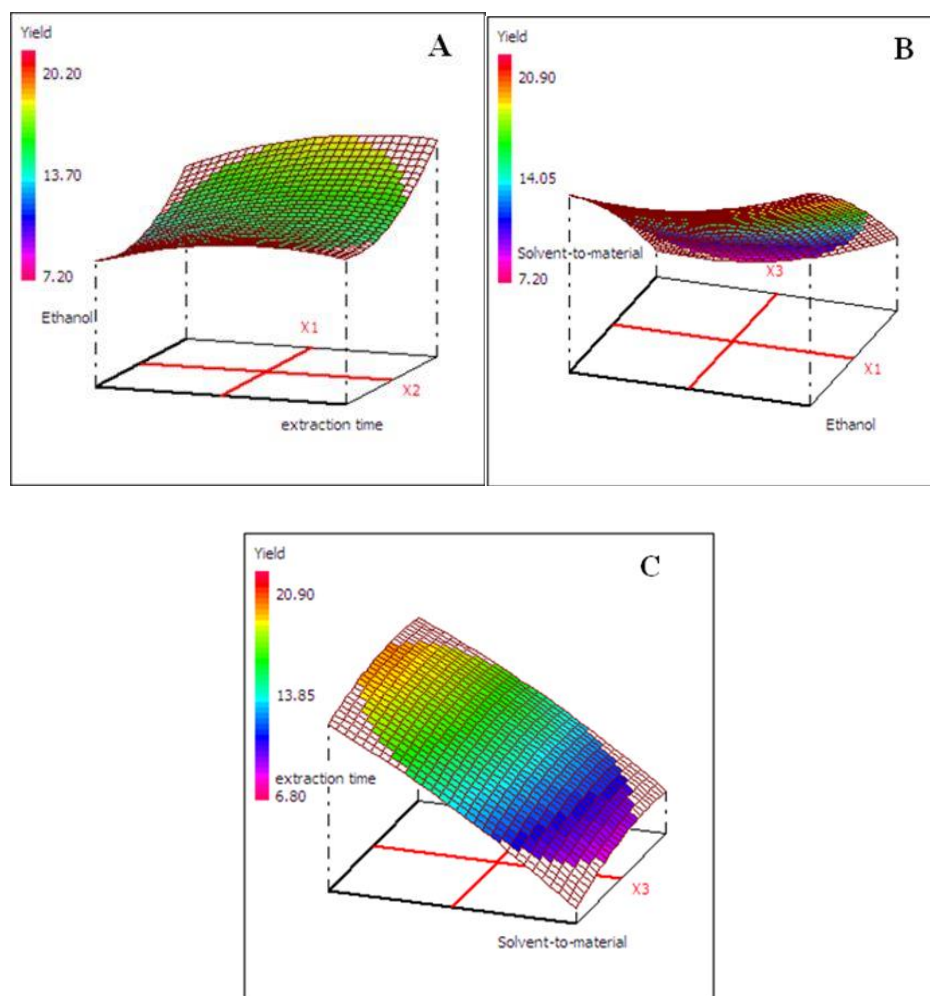


Fig.1 Response surface plot and contour plot of ethanol concentration and extraction time (A), solvent to material and ethanol concentration (B), extraction time and solvent to material (C) and their mutual interactions on the yield of *A.visnaga*.

III.2.2. Effect of extraction parameters on total phenol content

Fig. 2A, 2B and 2C present the response surface and contour plots for the influences of extraction parameters on total phenols content. As shown in Fig. 2A that maximum total phenols extraction (155.12 mg EGA/g extract) could be achieved when the ethanol concentration and extraction time 73 % and 31 min respectively. As the extraction of phenolic compounds depends largely on the polarity of solvents and compounds, a single solvent might not be effective for the extraction of a bioactive compound.

Hence, a combination of alcohol with water is more effective in extracting phenolic compounds than alcohol alone.^[25]; The total phenols yield increased with an increase in ethanol concentration from 50 % to 76 %. This is probably due to the increased solubility of phenolic compounds in the mixture of ethanol and water. The findings obtained from our study are in good agreement with.^[26, 27]; In this study, however, the total phenols yield decreased when the ethanol concentration was above 75.30 %. The total phenols yield increased with prolonged extraction time from 20 to 40 min. This observation was understandable because an extended extraction time favors the extraction of phenolic compounds.

Fig. 2B presents the interaction of ethanol concentration and solvent-to-material ratio. The increased extraction yield of total phenols was observed with a decreased solvent-to-material ratio from 20 to 10. This is probable due to the fact more solvent can enter cells while more phenolic compounds can permeate into the solvent under the low material par rapport solvent conditions.^[28]; It can be concluded from Figure 2B that maximum total phenols extraction (178.58 mg EGA/g extract) could be achieved when the ethanol concentration and solvent-to-material ratio were 76 % and 13 mL/g. Fig.2C presents the interaction of extraction time and the solvent-to-material ratio. It was found that maximum total phenols yield (174.50 mg EGA/g extract) was achieved when the extraction time was 36 min and the solvent-to-material ratio was 11 mL/g.

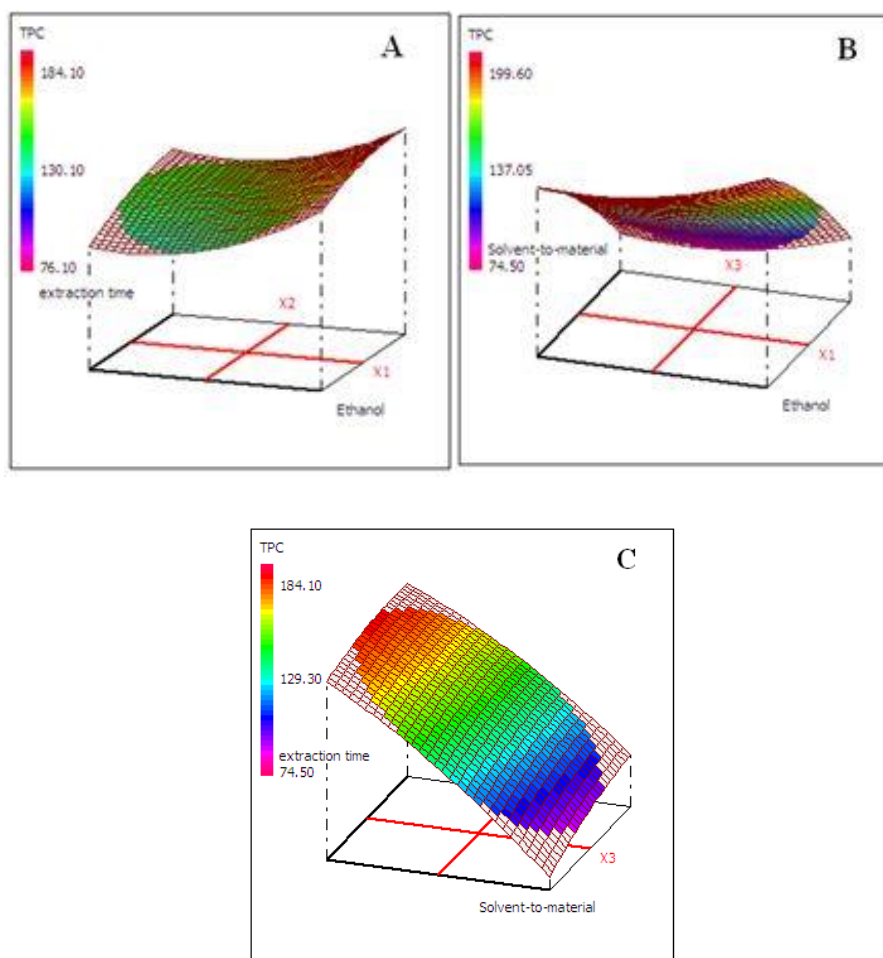


Fig.2 Response surface plot showing the combined effect of ethanol concentration and extraction time (A), solvent-to-material ratio and ethanol concentration (B) solvent-to-material ratio and extraction time (C) on total phenols content of *A.visnaga* extracts

III.2.3. Verification of predictive model

The maximum predicted and experimental values of the extraction yield and total phenolic of *A.visnaga* are shown in Table 4. Three optimal conditions were developed for the two responses, which were ethanol concentration 78 %, 38 min and 12 mL/g via the optimum conditions, the corresponding predicted responses of TPC and yield were 199.65 mg GAE/g and 20.95 %, respectively. The experiments were run in accordance with the recommended optimum conditions for two responses, to test the adequacy of the surface response model in predicting the optimum response values. The observed values for TPC and yield were 197.85 ± 0.4 mg GAE/g of extract and 20.10 ± 0.2 % respectively. The predicted extraction yield and total phenolic of *A.visnaga* were close to this experimental value which indicates that the proposed model is reliable.

Table 4: Optimum conditions and the predicted and experimental value of response at the optimum conditions

| | Ethanol X1 | Extraction time X2 | Solvent to material | Extraction Yield | TPC (mg EGA/g extract) |
|---------------------|------------|--------------------|---------------------|------------------|------------------------|
| Optimum conditions | 78% | 38min | 12 | 20.95±0.5 | 199.65±0.03 |
| Modified conditions | 78% | 38min | 12 | 20.10±0.3 | 197.85±0.05 |

IV. Conclusion

A UAE method was employed to extract the phenolic compounds of *A.visnaga*. In this study, RSM was first utilized to estimate and optimize three variables (ratio of solvent to raw material, extraction time and ethanol %) for obtaining maximum yield and content total phenolic with less experimental trials. The optimal extraction conditions for the maximum yield and content of total phenolic were as follows: 12mL/g ratio of solvent to raw material, 38min extraction time and 78 % ethanol. Under these conditions, the predicted yield and content of total phenolic by model was 20.95 % and 199.65 (mg EGA/g extract) respectively, whereas the actual yield of *A.visnaga* was 20.10 % and values of total phenolic was 197.85 (mg EGA/g extract) in adjusted optimal conditions.

Acknowledgement

This work was supported by Laboratory of Materials Engineering and Environment, Faculty of Sciences, University Sidi Mohamed Ben Abdellah (USMBA) Fez.

Conflict of interest

We declare that we have no conflict of interest.

REFERENCES

1. Raskin I, Ribnicky DM, Komarnytsky S, Ilic N, Poulev A, Borisjuk N, *et al.* Plants and human health in the twenty-first century. *TRENDS in Biotechnology*.2002;20(12):522-31
2. Erdemoglu N, Küpeli E, Yeşilada E. Anti inflammatory and antinociceptive activity assessment of plants used as remedy in Turkish folk medicine, *J. Ethnopharmacol.* (2003); 89(1):123-129.
3. Bhagavathula AS, Mahmoud Al-Khatib AJ, Elnour AA, *et al.* *Ammi visnaga* in treatment of urolithiasis and hypertriglyceridemia, *Pharmacognosy Res.* 2014;7(4): 397-400.

4. Vanachayangkula, P, Byerb K, Khanb S. An aqueous extract of *Ammi visnaga* fruits and its constituent's khellin and visnagin prevent cell damage caused by oxalate in renal epithelial cells, *Phytomedicine*. 2010; 17(8-9):653–8.
5. Anrep GV MD, Kenawy MR MD, Barsoum GS D M. The coronary vasodilator of Khellin. *American Heart J*. 1949; 37(4):531-549
6. Sittig M. 2nded. Noyes Publications. *Pharmaceutical Manufacturing Encyclopedia. Handbook of Toxic and Hazardous Chemicals and Carcinogens*; 1988.
7. Gynayd K, Erim B. Determination of khellin and visnagin in *Ammi visnaga* fruits by capillary electrophoresis. *J Chromatogr A*. 2002; 954(1-2):291- 294.
8. Li H, Chen B, Yao SZ. Application of ultrasonic technique for extracting chlorogenic acid from *Eucommia ulmoides* Oliv. (*E. ulmoides*). *Ultrason Sonochem*. 2005; 12(4): 295–300.
9. Yang Z, ZhaiW. Optimization of microwave-assisted extraction of anthocyanins from purple corn (*Zea mays* L.) cob and identification with HPLC–MS. *Innov. Food Sci Emerg Techno*. 2010;11(3): 70–476.
10. Pan GY, Yu GY, Zhu CH, Qiao JL. Optimization of ultrasound-assisted extraction (UAE) of flavonoids compounds (FC) from hawthorn seed (HS), *Ultrason Sonochem*. 2012; 19(3):486–490.
11. Skalicka-Woźniak K, Szypowski J, Glowniak K. HPLC analysis of kaempherol and quercetin derivatives isolated by different extraction techniques from plant matrix, *J.AOAC International*. 2011; 94(1): 17–21.
12. Liu j, Lin Sy, Wang Zz, Wang Cn, *et al*. Supercritical fluid extraction of flavonoids from *maydis stigma* and its nitrite scavenging ability. *Food bio-products pro*. 2011; 89(4): 333–339.
13. Ma Y, Ye XQ, Hao YB, Xu GN, Xu G.H, Liu DH. Ultrasound-assisted extraction of hesperidin from Penggan (*Citrus reticulata*) peel. *Ultrason Sonochem*. 2008; 15(3): 227-232.
14. Velickovic DT, Milenovic DM, Ristic MS, Veljkovic VB. Ultrasonic extraction of waste solid residues from the *Salvia sp.* essential oil hydro-distillation. *Biochem Eng J*. 2008; 42(1): 97-104.
15. Gan c, latiff aa. Optimisation of the solvent extraction of bioactive compounds from *parkia speciosa* pod using response surface methodology. *Food chem*. 2011; 124(3): 1277-1283.

16. Kiassos E, Mylonaki S, Makris DP, Kefalas P. Implementation of response surface methodology to optimize extraction of onion (*Alliumcepa*) solid waste phenolics. *Innov. Food Sci Emerg Technol.* 2009; 10(2): 246-252
17. Hossain MB, Brunton NP, Patras A, Tiwari B, O'Donnell CP. Optimization of ultrasound assisted extraction of antioxidant compounds from marjoram (*Origanum majorana* L.) using response surface methodology. *Ultrason Sonochem.* 2012; 19(3): 582–590.
18. Xu Q, Shen YY, Wang HF, Zhang NP, Xu S, Zhang L. Application of response surface methodology to optimize extraction of flavonoids from *fructus sophorae*. *Food Chem.* 2013; 138(4): 2122-2129.
19. Azmir J, Zaidul IS, M Rahman MM, Sharif KM, Sahena F, *et al.* Optimization of oil yield of *Phaleria macrocarpa* seed using response surface methodology and its fatty acids constituents. *Ind Crops Prod.* 2014; 52: 405-412.
20. Li HZ, Zhang ZJ, Xue J, Cui LX, Hou TY, LI XJ, Chen T. Optimization of ultrasound assisted extraction of phenolic compounds, antioxidants and rosmarinic acid from *perilla* leaves using response surface methodology. *Food Sci Technol.* 2016; 36: ISSN 0101-2061.
21. Akkol EK, Goger F, Koşar, M, Başer KH. Phenolic composition and biological activities of *Salvia halophila* and *Salvia virgata* from Turkey. *Food Chem.* 2008; 108(3): 942 – 949.
22. Rodrigues S, Pinto GA, Fernandes FA. Optimization of ultrasound extraction of phenolic compounds from coconut (*Cocos nucifera*) shell powder by response surface methodology. *Ultrason Sonochem.* 2008; 15 (1): 95–100.
23. Yang L, Jiang JG, Li WF, Chen J, Wang DY, Zhu L. Optimum extraction Process of polyphenols from the bark of *Phyllanthus emblica* L based on the response surface methodology. *J Sep Sci.* 2009; 32(9): 1437–1444.
24. Wang L, Li D, Bao C, You J, Wang Z, *et al.* Ultrasonic extraction and separation of anthraquinones from *Rheum palmatum* L. *Ultrason Sonochem.* (2008); 15(5): 738–746.
25. Markom M, Hasan M, Ramli W, Daud W, Singh S, Jahim JM. Extraction of hydrosable tannins from *Phyllanthus niruri* L. Effect of solvents and extraction methods. *Sep Purif Technol.* 2007; 52(3): 487–496.

26. Ana BK, Mirela P, Srećko T, Stela J, brahim M, *et al.* Effect of extraction conditions on the extractability of phenolic compounds from lyophilized fig fruits (*Ficus Carica* L.). *Pol J Food Nutr Sci.* 2011; 61(3): 195–199.
27. Jennan S, Farah A, Mahjoubi F. Optimisation of ultrasound assisted extraction of *T. hyemalis* using the response surface methodology. *J Mater Environ Sci.* 2015; 6(3): 773-778.
28. Prasad NK, Chun Y, En Y, Zhao M, Jiang Y. Effects of high pressure on the extraction yield, total phenolic content and antioxidant activity of *longan* fruit pericarp. *Innov Food Sci Emerg Technol.* 2009; 10(2): 155–159.

All©2013 are reserved by International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. This Journal licensed under a Creative Commons Attribution-Non Commercial-Share Alike 3.0 Unported License.

This article can be downloaded to Android OS based mobile. Scan QR Code using Code/Bar Scanner from your mobile. (Scanners are available on Google Playstore)

Optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenols content from *Zea mays* hairs (waste)

S.Aourabi^{1,2*}, M.Sfaira² and F.Mahjoubi¹

¹Laboratory of Materials Engineering and Environment, Faculty of Sciences, University Sidi Mohamed Ben Abdellah (USMBA) Fez, (Morocco).

²Laboratory of Materials Engineering, Modeling and Environment, Faculty of Sciences, USMBA Fez, (Morocco).

*sarra.aourabi@gmail.com

Abstract

The aim of this study was to achieve the best extraction efficiency of the hydro-ethanolic extract of *Zea mays* hairs. The impacts of ethanol concentration, extraction time and solvent / material ratio were studied in relation to the performance of *Zea mays* extractives by ultrasonic extraction at 50 kHz and room temperature. All extracts were quantitatively characterized in terms of polyphenol content. Response surface methodology (RSM) was carried out to optimize the extraction process and increase extraction efficiency. In the experiments, different concentrations of ethanol: water was used. The efficiency of the extraction process was determined from an analysis of variance (ANOVA). The maximum extraction efficiency of the hydro-ethanolic extraction (31.37 %) and the quantitative value of the polyphenol content (253.87 mg EAG/g extract) were obtained using a treatment time of 40 min, an ethanol:water ratio (70:30) and a solvent / material ratio (11 mL/g). The results obtained indicate that ultrasonic assisted extraction is an effective method for extracting natural compounds from *Zea mays*, thus allowing the full use of this abundant and inexpensive industrial waste.

Key words: Optimization, RSM, *Zea mays* hairs, polyphenols content.

I. Introduction

Zea mays hairs (*Z.mays*, Corn silk) are a collection of the stigmas (fine, soft, yellowish threads) from the female flowers of the maize plant contains proteins, vitamins, carbohydrates, Ca^{2+} , K^+ , Mg^{2+} and Na^+ salts, volatile oils, and steroids, alkaloids, saponins, tannins, and flavonoids, flavones, flavones glycosides [1,2]. Also, *Z.mays* hairs, as an essential part of maize, has high pharmaceutical values, for example, it is a urinary emulsifier, which passes stones and gravel from the kidneys and bladder; these hairs work against benign prostatic hyperplasia, cystitis, gout, chronic nephritis, and other similar diseases [3]. In previous studies, a series of phenolic compounds such as rutin, quercetin, epicatechin, vanillic acid, gallic acid and flavone have been identified and isolated from *Z. mays* hairs [4-6]. Polyphenols (containing at least two phenolic groups (Hydroxybenzenes)) are present in most plant foods and have been considered as "anti-nutrients" [7,8]. Pharmacological studies have shown that phenolic compounds have an important function in human health [9], including anti-cancer actions [10, 11], and antioxidant activity [12]. Conventional extraction methods such as maceration, decoction, infusion, reflux, heating and Soxhlet extraction are used to extract biologically active polyphenols from various plants. However, these conventional extraction methods are generally many disadvantages like large amount of solvent utilization, long extraction time and lower extraction yield [13, 14]. In recent years, new extraction techniques such as ultrasonic assisted extraction (UAE) [15], microwave assisted extraction (MAE) [16], accelerated solvent extraction (ASE) [17] have been developed to increase the efficiency of the extraction process in terms of time, solvent consumption and energy consumption [18-21]. Among these methods, the UAE method is advantageous for polyphenol extraction because of the simplicity of the process, low working temperatures (35 °C to 45 °C, low solvent consumption rate, high recovery of polyphenolic compounds, low energy loss [22]. Polyphenols are highly soluble in various solvents. Methanol and acetone have toxic effects on the human body, in addition, the cost of production is high, so ethanol is still used as an extraction solvent because of its non-toxicity and low cost availability. The Response Surface Methodology (RSM), especially the Box-Behnken Design method is a modeling tool used to optimize extraction conditions by evaluating multiple parameters and their interaction effects from quantitative data. As a result, RSM can not only statistically optimize complex extraction procedures, but also reduce the number of experimental trials [23]. RSM has often been used to optimize the extraction of phenolic

compounds from different plant sources [24]. In this work, three factors were used to study the effects of certain parameters on extraction efficiency and the level of polyphenols contained in *Z.mays* hairs (waste), namely: ethanol concentration, extraction time and solid/liquid ratio.

II. Experimental

II.1. Vegetal material

Zea mays hairs, *Poaceae* female used for this investigation was collected in September 2018 at region of Taounate. The botanical identification of the species was carried in Laboratory of Biotechnology and Preservation of Natural Resources (BPNR), University Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fez, Morocco. The *Zea mays* hairs were dried at room temperature.

II.2. Method of extraction

The extracts of the *Z.mays* hairs were obtained by ultrasounds (45 Hz, 50 W, 308 K). The extraction was performed at different ethanol/water percentages, the amount of material and for different periods. The extracts were filtered, concentrated under reduced pressure.

II.3. Effect of operating parameters on extraction yield

The fixed extraction conditions are as follows: ultrasonic time 45 min, solvent to material ratio 10:1, ethanol concentration 70 %, ultrasonic temperature 35° C and ultrasonic power 50 W. After that, we keep one variable fixed and change the others. The range of variance for each variable is (35 min, 40 min, 45 min ,50 min,55 min) for the extraction time, (5:1, 10:1, 15:1, 20:1 and 25:1) for the liquid material ratio and (40, 50 ,60,70 ,80 %) for the ethanol concentration. Their impact on the extraction efficiency of the materials was tested separately.

II.4. Experiment design for optimization of extraction method

The RSM is a statistical method that uses quantitative data from an appropriate experimental design to determine the optimal conditions for extraction, first of all the factors that influence extraction yields and total phenol content were determined and variance ranges of each independent variable were obtained. The results showed that three main factors influence ,the extraction efficiency, including ethanol concentration (% , X1), solvent/material ratio (mL/g, X2) and extraction time (W, X3), and these factors were used as independent variables to optimize extraction conditions. We determined the factors and their ranges of variables based on the experiments on the single factors and found that the range of variance for each factor was as follows: ethanol concentration (50 % to 70 %) and solvent/material ratio (10 mL/g to 20 mL/g). Temperature was not taken into account in

this study since the sample was treated at 35°C to avoid degradation of heat-sensitive polyphenolic compounds. In this study, the experiments were carried out on the basis of a Box-Behnken Design (BBD) plan. The coded values of the experimental factors have been indicated in Table 1. The complete design included 26 combinations, with two repetitions at the center point (Table 2). The data from BBD were analyzed by multiple regressions to fit the following quadratic polynomial model Equation1:

$$Y = \beta_0 + \sum b_i X_i + \sum b_{ii} X_i^2 + \sum b_{ij} X_i X_j \quad (1)$$

where Y is the predicted response, β_0 is a constant b_i, b_{ii} and b_{ij} are the linear, quadratic and interactive coefficients of the model, respectively. Accordingly, X_i and X_j represent the levels of the independent variables, respectively. The quality of the fitted model was expressed with the coefficient of determination (R^2).

Table 1: Levels of variables for the experimental design

| Independent variable | Symbol | Coded Levels | | |
|--------------------------------|--------|--------------|----|----|
| | | -1 | 0 | 1 |
| Ethanol/Water (%) | X1 | 50 | 60 | 70 |
| Solvent/ material ratio (mL/g) | X2 | 10 | 15 | 20 |
| Time (min) | X3 | 40 | 45 | 50 |

Table 2: Box–Behnken Design (Coded) arrangement for Extraction of *Z.mays* hairs

| N°Exp | Ethanol | Solvent to material | Time extraction | Yield | polyphenols content |
|-------|---------|---------------------|-----------------|-------|---------------------|
| | mL | mL/g | min | % | Mg EAG/g extract |
| 1 | 50 | 10 | 45 | 26.35 | 187.24 |
| 2 | 50 | 10 | 45 | 26.34 | 187.00 |
| 3 | 70 | 10 | 45 | 28.23 | 250.28 |
| 4 | 70 | 10 | 45 | 28.19 | 250.25 |
| 5 | 50 | 20 | 45 | 16.47 | 126.78 |
| 6 | 50 | 20 | 45 | 16.44 | 126.70 |
| 7 | 70 | 20 | 45 | 9.32 | 87.45 |
| 8 | 70 | 20 | 45 | 9.33 | 87.44 |
| 9 | 50 | 15 | 40 | 20.12 | 166.78 |
| 10 | 50 | 15 | 40 | 20.11 | 166.77 |
| 11 | 70 | 15 | 40 | 12.34 | 151.34 |
| 12 | 70 | 15 | 40 | 12.34 | 151.34 |
| 13 | 50 | 15 | 50 | 18.83 | 119.54 |
| 14 | 50 | 15 | 50 | 18.82 | 119.50 |
| 15 | 70 | 15 | 50 | 13.81 | 139.37 |

| | | | | | |
|----|----|----|----|-------|--------|
| 16 | 70 | 15 | 50 | 13.81 | 139.33 |
| 17 | 60 | 10 | 40 | 24.45 | 240.24 |
| 18 | 60 | 10 | 40 | 24.44 | 240.20 |
| 19 | 60 | 20 | 40 | 15.24 | 147.52 |
| 20 | 60 | 20 | 40 | 15.22 | 147.50 |
| 21 | 60 | 10 | 50 | 25.45 | 184.54 |
| 22 | 60 | 10 | 50 | 25.44 | 184.52 |
| 23 | 60 | 20 | 50 | 11.51 | 119.24 |
| 24 | 60 | 20 | 50 | 11.50 | 119.23 |
| 25 | 60 | 15 | 45 | 27.34 | 168.87 |
| 26 | 60 | 15 | 45 | 27.31 | 168.80 |

II.4. Determination of the total phenolic content

The total phenols of the *Z.mays* hairs extract were estimated using the Folin-Ciocalteu method [25].

II.5. Statistical analysis

The experimental results of the response surface design were analyzed by Nemrodw. The modeling was started with a quadratic model, including linear, squared and interaction terms. Significant terms in the model for each response were found by analysis of variance (ANOVA). The experimental data were evaluated with descriptive statistical analyses such as *p-value*. The *p-values*<0.05 were considered to be statistically significant. All experiments were conducted in triplicate unless otherwise noted in the text. The purpose of statistical analysis is to determine the different parameters (determination coefficient R² and the effects of the factors) in order to determine the statistical significance of the factors studied.

III. Results and discussion

III.1. Effect of single factor on the extraction yield of *Z.mays* hairs

III.1.1. Effect of extraction time

The results in Fig.1, indicate that the highest extraction efficiency increases with time and reaches its maximum value at 45 min, but after 45 min, the efficiency decreases. However, when the extraction time is extended, all the cells of the plant will be completely cracked due to cavitation effects, and therefore the extraction yield increases. Therefore, when plant cells decompose, various compounds such as insoluble substances are suspended in the extraction liquid, which reduces the permeability of the solvent [26]. Therefore, polyphenol yield is reduced due to the reabsorption of target components on ruptured tissue particles due to their relatively large specific surface area [27].

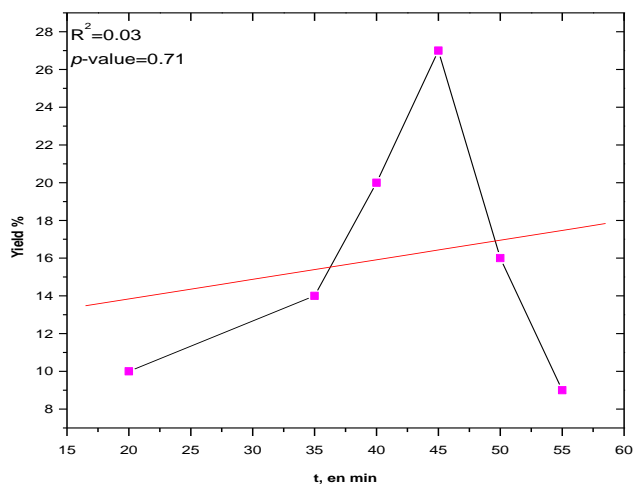


Figure 1: Effects of extraction time on yield of extraction

III.1.2. Effect of ethanol concentration

Water as a nontoxic and inexpensive solvent has widely been used for extraction of active components. It has been observed that sometimes the extraction yield could be improved by adding small percentages of water to the extraction solvent [28]. According to Fig.2, the extraction efficiency of polyphenols has gradually increased to a maximum of 70 %. Then the yield dropped sharply, due to increased volatilization with a high concentration of ethanol.

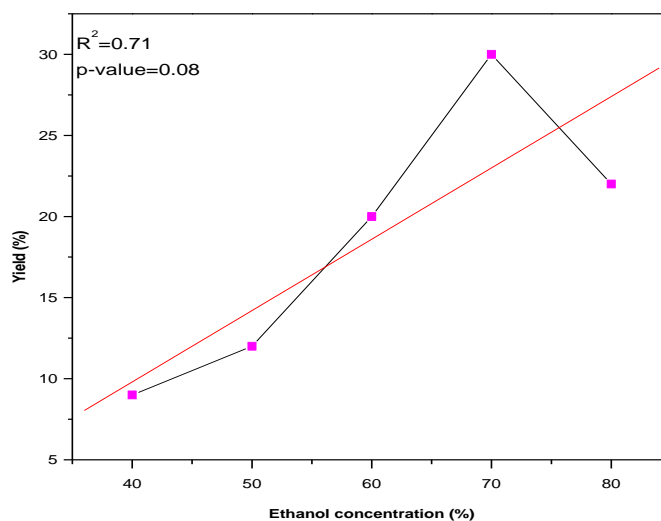


Figure 2: Effect of ethanol concentration on yield of extraction

III.1.3. Effect of solvent to material ratio

The maximum polyphenols yield was obtained at a ratio of 15:1 between liquid and material (Fig.3). This was consistent with the principle of mass transfer, according to which the driving force during mass transfer was the concentration gradient between solid and liquid, which increases when a higher solvent to sample ratio is used [29,30]. But an excessive increase in the ratio has also resulted in a decrease in extraction efficiency [31].

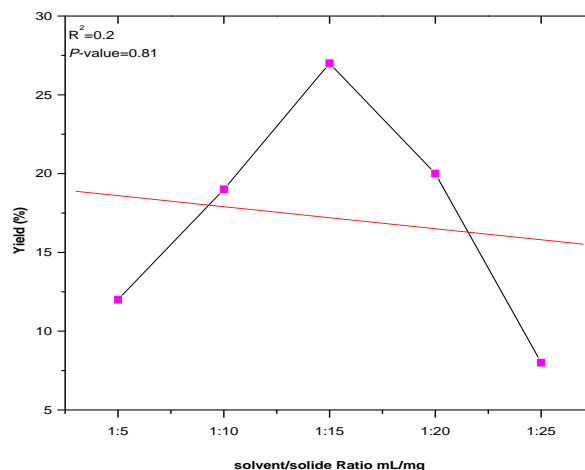


Figure 3: Effect of solvent to material ratio on yield extraction of extraction

IV. Statistical analysis and model fitting of yield extraction

The yield of extraction of the experimental design was presented in Tab. 2. The decoded values of independent variables in the experiment were also presented. Yield extraction of hydro-ethanolic extract varied from 9.31 to 27.34 % based on different extraction conditions. Multiple regression analysis of variance (ANOVA) was used to check the adequacy and fitness of the developed models. The results of ANOVA were given in Tab. 3. The results showed that the response of worth rate (Y) model was highly significant. An item ethanol concentration (X1), solvent-to-material ratio (X2) and time of extraction (X3) was significant. The second order items were reached extremely significant level (Table 4). The R^2 and R^2_{Adj} values were 0.977 and 0.964 respectively. The values are close to 1 which means that the module is validated. The R^2_{pred} which is a measure of how a particular model fits each point in the design, was 0.941, showed strong correlation with actual experimental values.

To calculate the yield of extraction (Y1) encoded by independent variable ethanol concentration (X1), solvent-to-material ratio (X2) and extraction time (X3) we used the quadratic multinomial regression equation as follows (2) :

$$Y1 = 27.32 - 2.25X1 - 6.491X2 - 0.318X3 - 2.249X1X2 + 0.690X1X3 - 1.181X2X3 - 5.062X1^2 - 2.179X2^2 - 5.990X3^2 \quad (2)$$

Table 3 : Analysis of variance (ANOVA) for the second order model correlating the content of phenolic compounds with the experimental variables

| Source | Sum of squares | Degree of freedom | Mean square | <i>p-value</i> |
|------------|----------------|-------------------|-------------|----------------|
| Regression | 1019.57 | 9 | 113.28 | < 0.01 *** |
| Residual | 24.16 | 16 | 1.51 | |
| Validity | 24.16 | 3 | 8.05 | < 0.01 *** |
| Pure error | 0.0225 | 13 | 0.00173 | |
| Total | 1043.74 | 25 | | |

$$R^2=0.977; R^2_{Adj}=0.964; R^2_{pred}=0.941$$

Table 4: Effect Estimation, Statistical Significance and Regression Coefficient Estimates for Phenolic Compounds Extraction from *Z.mays* hairs

| Source | Coefficient | Degree of freedom | <i>p-value</i> |
|--------|-------------|-------------------|----------------|
| b0 | 14.186 | | < 0.01 *** |
| X1 | 1.450 | 1 | < 0.01 *** |
| X2 | 0.771 | 1 | 0.0451 *** |
| X3 | -4.996 | 1 | < 0.01 *** |
| X1-1 | 1.178 | 1 | 0.0302 *** |
| X2-2 | -0.714 | 1 | 0.207 ** |
| X3-3 | -0.664 | 1 | 0.271 ** |
| X1-2 | 0.300 | 1 | 4.36 * |
| X1-3 | 0.200 | 1 | 12.4 |
| X2-3 | 0.192 | 1 | 13.5 |

The ANOVA results and regression coefficients were presented in Table 3 and 4, indicating that the contribution of the quadratic model was significant ($p < 0.05$).

V. Statistical analysis and model fitting of polyphenols content

The polyphenols content of hydro-ethanolic extract varied from 87.45 to 266.23 mg EAG/g extract based on different extraction conditions (Table 2). Multiple regression analyses of variance (ANOVA) were used to check the adequacy and fitness of the developed models and the results of ANOVA were given in Tab 5. The results showed that the response of worth rate (Y) model was highly significant. The R^2 value was 0.964 (Table 5), indicating that 96.4 % of the total variation in the polyphenols content was attributed to the experimental variables studied, namely ethanol concentration, extraction time and solvent

to material ratio. The independent variables, ethanol concentration (X1), solvent/material ratio (X2) and extraction time (X3) are significant ($p < 0.05$). As well as the quadratic variables (X1-1, X2-2, X3-3) and interaction variable (X1X2, X1X3, X2X3) are extremely significant ($p < 0.05$) (Table 6).

To calculate the polyphenols content in extract (Y2) encoded by independent variables ethanol concentration (X1), solvent-to-material ratio (X2) and time extraction (X3), we used the quadratic multinomial regression equation as follows (3):

$$Y2 = 168.83 + 5.53X1 - 49.531X2 - 17.60X3 - 29.61X1X2 + 8.81X1X3 + 6.65X2X3 - 15.28X1^2 + 13.34X2^2 + 9.30 \quad (3)$$

Table 5 : Analysis of variance (ANOVA) for the second order model correlating the content of phenolic compounds with the experimental variables

| Source | Sum of squares | Degree of freedom | Mean square | <i>p-value</i> |
|------------|----------------|-------------------|-------------|----------------|
| Regression | 56823.57 | 9 | 6313.73 | < 0.01 *** |
| Residual | 2115.23 | 16 | 132.20 | |
| Validity | 2115.53 | 3 | 705.06 | |
| Pure error | 0.00378 | 13 | 0.029 | |
| Total | 5893.74 | 25 | | |

$$R^2=0.964; R^2_{Adj}=0.944; R^2_{pred}=0.908$$

Table 6: Effect Estimation, Statistical Significance and Regression Coefficient Estimates for Phenolic Compounds Extraction from *Z. mays* hairs

| Nom | Coefficient | Sum of squares | Signif. % |
|------|-------------|----------------|------------|
| b0 | 27.325 | 0.009302605 | < 0.01 *** |
| b1 | -2.257 | 0.003288967 | < 0.01 *** |
| b2 | -6.491 | 0.003288967 | < 0.01 *** |
| b3 | -0.318 | 0.003288967 | < 0.01 *** |
| b1-1 | -5.062 | 0.006153094 | < 0.01 *** |
| b2-2 | -2.179 | 0.006153094 | < 0.01 *** |
| b3-3 | -5.990 | 0.006153094 | < 0.01 *** |
| b1-2 | -2.249 | 0.004651302 | < 0.01 *** |
| b1-3 | 0.690 | 0.004651302 | < 0.01 *** |
| b2-3 | -1.181 | 0.004651302 | < 0.01 *** |

IV.1. Effect of extraction parameters on polyphenols content

The response surface and contour plots, of the effects of extraction parameters on the polyphenols content were presented in Fig. 4 and Fig. 5. As shown in Fig. 4A, the efficiency of ethanol concentration on the polyphenols content was evaluated and the

results showed that the polyphenols content increased with the increase of ethanol concentration (70 %). It can be concluded that maximum polyphenols content (257.88 mg EAG/g extract) could be achieved when the ethanol concentration and solvent to material ratio were 68 and 10 mL/g, respectively, at the fixed extraction time in 40 min. The polyphenols yield increased with an increase of ethanol concentration from 68 % to 70 %, while decreased when the ethanol concentration was above 70 %. Polyphenol yield was largely dependent on the polarity content of solvents and compounds, a single solvent may not be effective for the extraction of a bioactive compound. Therefore, a combination of ethanol and water was more effective in extracting phenolic compounds than ethanol alone [32]. 70 % of the ethanol showed the highest polyphenol yield, due to lower viscosity and a modification of the plant structure by swelling the matrix, which allowed the solvent to penetrate more completely into the plant material, these results are in agreement with [33,34]. Therefore, water acts as a swelling agent for plants, while ethanol would disturb the binding between solutes and plant matrices. Therefore, the mixture of water and ethanol showed the best performance for the extraction of phenolic compounds among all the extracts used; these results are in agreement with [35]. As for the effect of solvent to material ratio of the polyphenols yield, the yield increased with increased the solvent to material ratio from 10 to 15 mL/g, and decreased after 15 mL/g. The interaction effect of extraction time and ethanol concentration on the polyphenols content was presented in Fig. 4B. It was found that maximum polyphenols content is achieved when the ethanol concentration was 70 % and the extraction time was 50 min fixed solvent to material ratio at 10 mL/g. The interaction effect of extraction time and solvent to material ratio of the polyphenols content, at fixed ethanol concentration 70 % was also presented in Fig. 4C. It was found that maximum polyphenols content is achieved when the extraction time was 41min and the solvent-to-material ratio was 10 mL/g. It concluded that the ethanol concentration, the solvent to material ration and extraction time have a significant interaction effect.

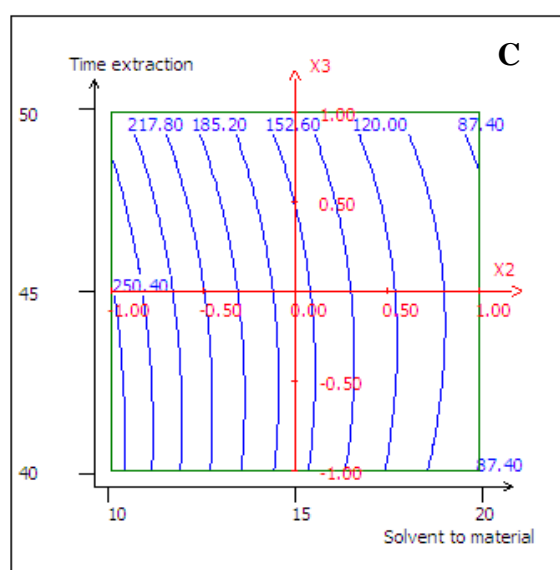
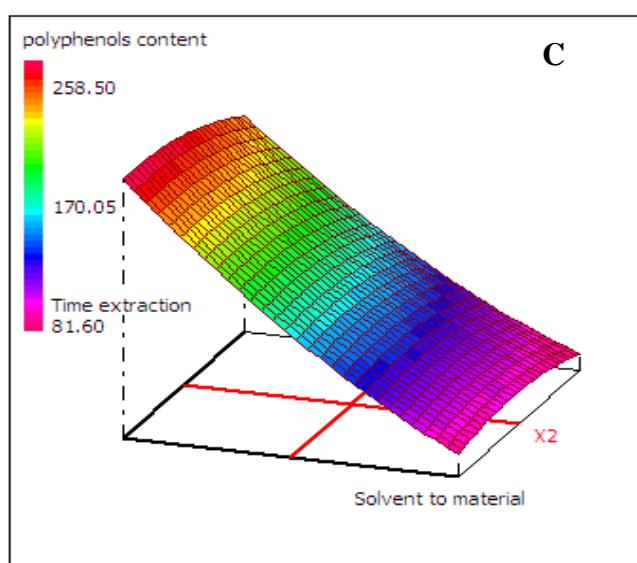
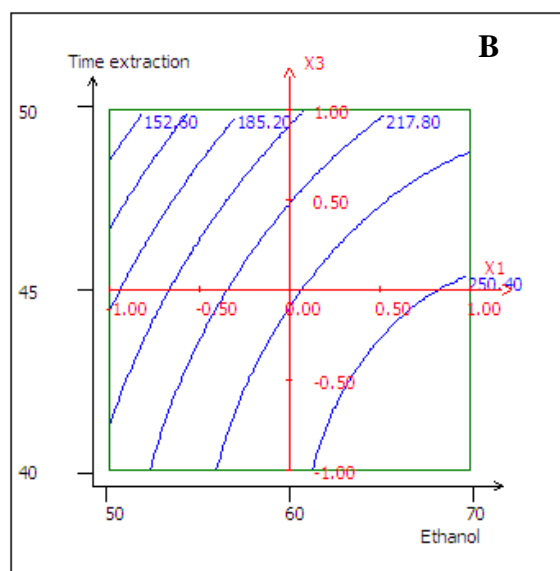
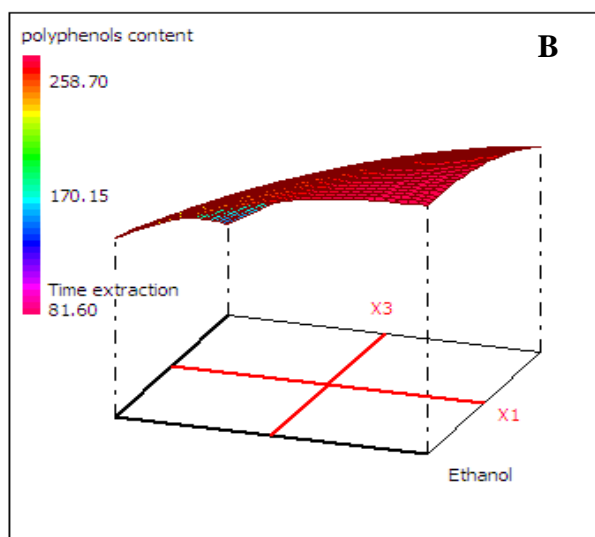
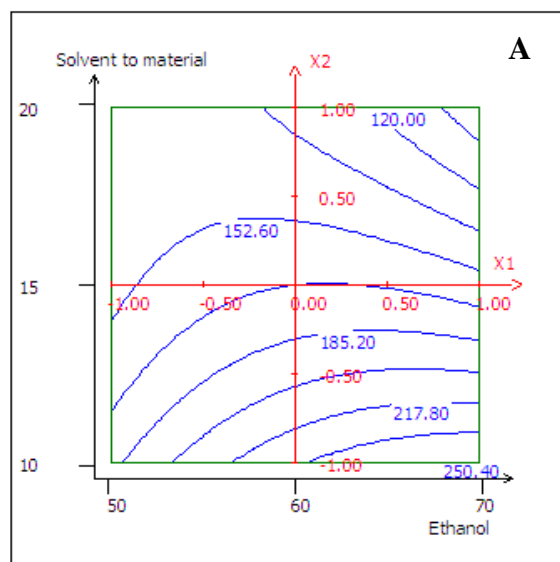
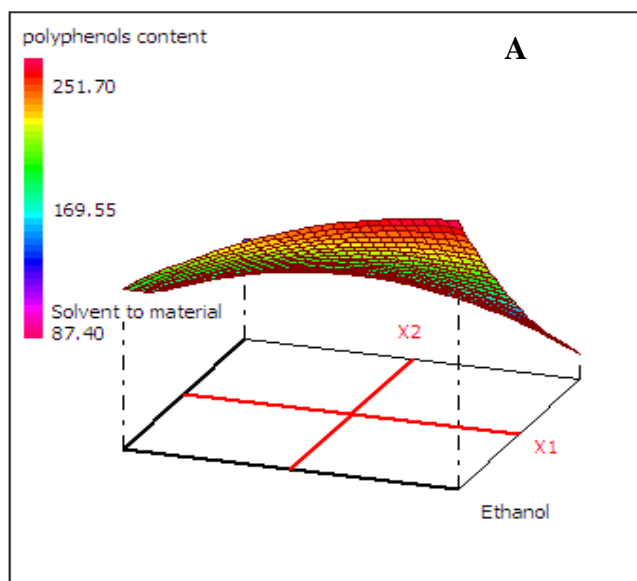


Figure 4: Response surface for the effect of independent variables on polyphenols content in hydro-ethanolic extract. (A) Response surface graph showing interaction between solvent to material ratio (X2) and ethanol concentration (X1); (B) response surface graph showing interaction between extraction time (X3) and solvent-to-material ratio (X2); (C) response surface graph showing interaction between extraction time (X3) and ethanol concentration (X1).

Figure 5: Contour plots for the effect of independent variables on polyphenols content in hydro-ethanolic extract. (A) Contour plot graph showing interaction between solvent to material ratio (X2) and ethanol concentration (X1); (B) Contour plot graph showing interaction extraction time (X3) and solvent-to-material ratio (X2); (C) Contour plot graph showing interaction between extraction time (X3) and ethanol concentration (X1).

IV.2. Effect of extraction parameters on yield extraction

In Figures 6A and 7A, when the 3D response surface plot and the contour plot were developed for the extraction yield of hydro-ethanolic extract, with varying extraction time and ethanol concentration at fixed solvent to material 15 mL/g. At a definite ethanol concentration, the yield of extraction decreased slightly with the increase of ethanol concentration and extraction time. The highest extraction yield occurred in ethanol concentration of 57 % and extraction time of 45 min [36, 37]. In Figures 6B and 7B, when the 3-D response surface plot and the contour plot were developed for the recovery of hydro-ethanolic extract with varying ethanol concentration and solvent to material ratio at fixed extraction time at 45 min, it can be seen that maximum recovery in yield of extraction can be achieved when ethanol concentration and solvent to material ratio were 59 % and 15 mL/g, respectively. Figure 6C and 7C shows the effect of the solvent to material ratio and extraction time on the extraction yield of hydro-ethanolic extract at a fixed ethanol concentration of 60 %. The yield of hydro-ethanolic extract was decreasing evidently as the increasing of solvent to material ratio and nearly reached a peak at the highest extraction time tested. It can be seen that maximum recovery of hydro-ethanolic extract can be achieved when plant material to solvent ratio and extraction time were around 10 mL/g and 47 min.

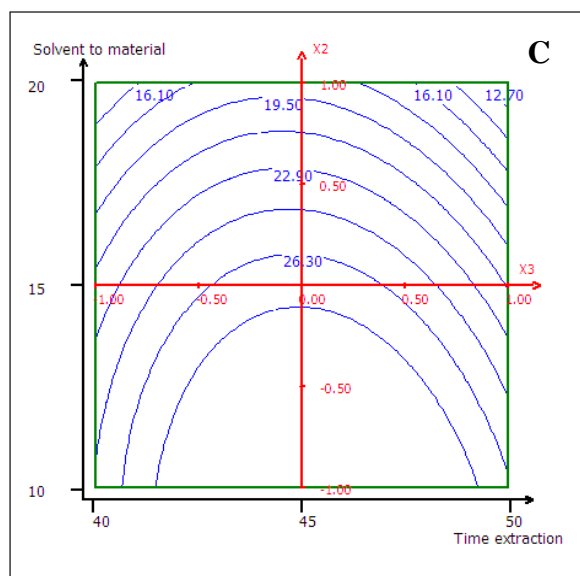
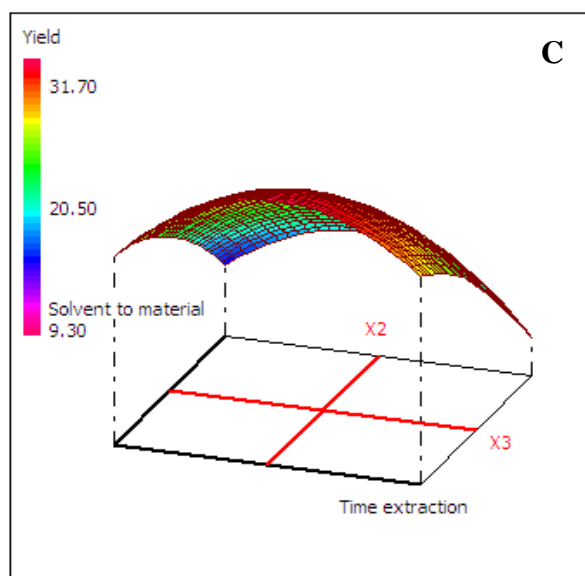
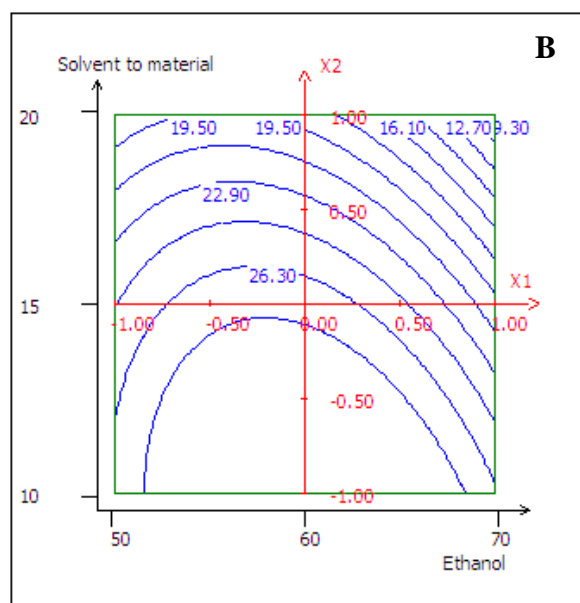
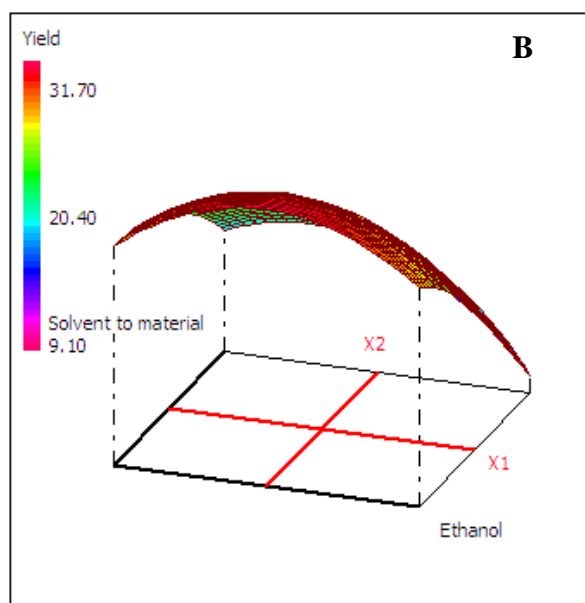
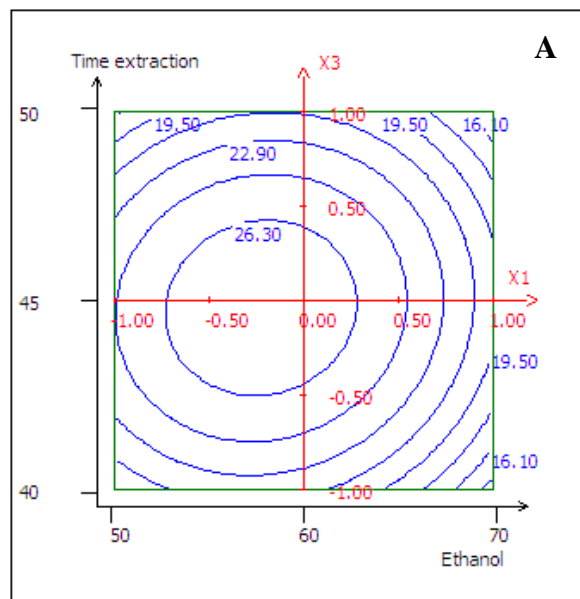
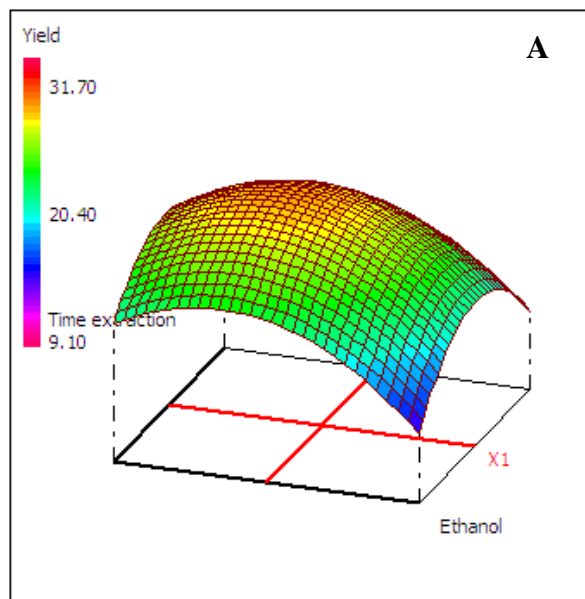


Figure 6: Response surface for the effect of independent variables on extraction yield. (A) Response surface graph showing interaction between extraction time (X3) and ethanol concentration (X1); (B) response surface graph showing interaction between solvent-to-material ratio (X2) and ethanol concentration (X1); (C) response surface graph showing interaction between extraction time (X3) and solvent to-material ratio (X2).

Figure 7: Contour plots for the effect of independent variables on extraction yield. (A) Contour plot graph showing interaction between extraction time (X3) and ethanol concentration (X1); (B) Contour plot graph showing interaction between solvent-to-material ratio (X2) and ethanol concentration (X1); (C) Contour plot graph showing interaction between extraction time (X3) and solvent to-material ratio (X2).

IV.3. Verification of predictive models

Applying the methodology of RSM, the optimum level of various parameters was obtained and it indicated that extraction time 40 min, ethanol concentration of 70 % and solvent-to-material ratio of 11 mL/g given a maximum of polyphenols content of 257.86 mg/g and yield extraction 31.37 %. These optimal conditions could be considered as optimum as well as feasible conditions. To compare the predicted result with the practical value, the rechecking experiment was performed using some extraction condition. The value obtained from real experiments, demonstrated the validity of the RSM model, since there was no significant ($p > 0.05$) differences (Table 7). The strong correlation between the real and the predicted results confirmed that the response model was adequate to reflect the expected extraction conditions.

Table 7: Predicted and experimental values of the responses at some extraction conditions

| | Ethanol X1 | Extraction time X3 | Solid-liquid ratio X2 | Extraction Yield % | TPC (mg EGA/g extract) |
|-------------------------|---------------|-----------------------|--------------------------|-----------------------|------------------------------|
| Optimum conditions | 70 % | 40 min | 11 | 31.37 | 257.86 |
| Predicted conditions | 70 % | 40 min | 11 | 30.25 | 255.34 |

V. Conclusion

In this study, the optimization of ultrasound-assisted extraction of hydro-ethanolic extract of *Z.mays* hairs and calculation of their polyphenols content were conducted. Through response surface methodology (RSM) of yield, the optimal conditions were determined as

follows: extraction time 40 min, solid-liquid ratio 11 mL/g and ethanol concentration 70 %. Under the optimum conditions, the extraction yield of hydro-ethanolic extract and polyphenols content were 31.37 %, 257.86 mg EAG/g extract, respectively, which allowed higher extraction yields with lower temperature and extraction time when compared with conventional solvent extraction methods. With stable results, this method offered a theoretical basis for industrial and experimental extraction of hydro-ethanolic extract from *Z.mays* hairs.

Acknowledgement

This work was supported by Laboratory of Engineering, Modeling and Systems Analysis (LIMAS), Faculty of Sciences, University Sidi Mohamed Ben Abdellah (USMBA) Fez.

Conflicts of Interest

Authors declare that there is no conflict of interest at anyway.

Data Availability

No data were used to support this study.

References

1. C.A Newal, L.A Anderson, J.D Phillipson, Pharmaceutical Press. London; 1996.
2. S. Panizza. Plantas Que Curam, Soã Paulo;1997.
3. D. Stagos, G.D. Amoutzias, A. Matakos, A.Spyrou, A.M.Tsatsakis and D. Kouretas, "Chemoprevention of liver cancer by plant polyphenols". Food Chem.Toxicol.,vol 50, pp. 2155-2170, 2012.
4. Z.Y. Chen, Y.J.Xu, Y.Yin, X.M.Liu and X.Q.Li, "Analysis of polyphenol composition of different parts of ear of sweet corn". Food Sci. vol, 31, pp. 235-238, 2010.
5. R. Pedreschi and L.Cisneros-Zevallos, "Phenolic profiles of Andean purple corn (*Zea mays* L.)". Food Chem. Vol, 100, pp.956-963, 2007.
6. L. Jun , W.Cuina , W.Zuozhao, Z.Cheng, L.Shuang and L.Jingbo, "The antioxidant and free-radical scavenging activities of extract and fractions from corn silk (*Zea mays* L.) and related flavone glycosides". Food Chem.,vol, 126, pp.261–269 , 2011.
7. C. Alzueta, J.Trevino and L.Ortiz, "Effect of tannin from fava beans on protein utilisation in rats". J. Sci. Food Agric. vol, 59, pp.551-553, 1992.
8. M. Longstaff and J.M. McNabb, "the inhibitory effects of hull polysaccharides and tannins of field beans (*Vicia faba* L.) on the digestion of amino acids, starch and

- lipid, and on digestive activities in young chicks". Brit. J. Nutr. vol, 65, pp.199-216, 1991.
9. C. K.R.Vijaya, D. Sreeramulu and M. Raghunath, "Antioxidant activity of fresh and dry fruits commonly consumed in India". Food Res. Int. vol, 43, pp.285-288, 2010.
 10. J.Sun, S.Wang, B.Guo and Y.H.Wei, "Flavonoids of Rhizoma Sparaganii induce S/G2 stage arrest in A549 and MCF-7 cells". Nat. Prod. Res. Dev. vol, 23, pp.224-227, 2011.
 11. D. Stagos, G.D. Amoutzias, A. Matakos, A.Spyrou, A.M.Tsatsakis and D.Kouretas, "Chemoprevention of liver cancer by plant polyphenols". Food Chem.Toxicol. vol, 50, pp. 2155-2170, 2012.
 12. X. Wang, Q. Wu, Y.Wu, G. Chen, W. Yue and Q. Liang, "Response surface optimized ultrasonic-assisted extraction of flavonoids from Sparganii rhizome and evaluation of their in vitro antioxidant activities". Molecules, vol, 17, pp.6769-6783, 2012.
 13. F. Gong L. Guocheng, P. Chaohai, L. Wenxi, W. Dingyong and L. Chunxia, "The Pharmaceutical Society of Japan Regular Article Ultrasound-Assisted Extraction of Pristimerin from Celastrus orbiculatus Using Response Surface Methodology". Biol. Pharm. Bull. vol, 39, pp. 97-103, 2016.
 14. Y.Q. Ma, J.C. Chen, D.H. Liu and X.Q. Ye, "Effect of ultrasonic treatment on the total phenolic and antioxidant activity of extracts from citrus peel". J. Food Sci. vol, 73, pp. 115-120., 2008.
 15. J.E. Wong, D.B P.M. Márquez, G.C.G Martínez Ávila, C.R.E Belmares and C.N. Aguilar "Ultrasound-assisted extraction of polyphenols from native plants in the Mexican desert". Ultrason. Sonochem., vol, 22, pp. 474-481, 2015.
 16. Z.D. Yang and W.W. Zhai, "Optimization of microwave-assisted extraction of anthocyanins from purple corn (*Zea mays* L.) cob identification with HPLC-MS". Innov. Food Sci. Emerg., vol, 11, pp. 470-476, 2010.
 17. K.S. Woźniak, J. Szykowski and K. Glowniak, "HPLC analysis of kaempferol and quercetin derivatives isolated by different extraction techniques from plant matrix". J. AOAC Int., vol, 94, pp.17-21, 2011.
 18. C. Carrera A. Ruiz-Rodríguez, M.Palma and C.G.Barroso, "Ultrasound-assisted extraction of amino acids from grapes". Ultrason. Sonochem., vol, 22, pp. 499-505, 2015.

19. F. Chemat, Z. Huma and M.K.Khan "Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction". *Ultrason. Sonochem.*, vol,18, pp.813–835, 2011.
20. Y. Tao and D.W. Sun,"Enhancement of food processes by ultrasound: a review". *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol, 55, pp. 570–594, 2015.
21. H. Bagherian F.Z. Ashtiani, A. Fouladitajar and M. Mohtashamy, "Comparisons between conventional, microwave- and ultrasound assisted methods for extraction of pectin from grape fruit". *Chem. Eng. Process.*, vol, 50, pp.1237–1243, 2011.
22. G.Y. Pan, G.Y. Yu, C.H. Zhu and J.L. Qiao, "Optimization of ultrasound-assisted extraction (UAE) of flavonoids compounds (FC) from hawthorn seed (HS)". *Ultrason. Sonochem.* vol,19, pp. 486-490 , 2012.
23. A. Brachet, L. Mateus, S. Cherkaoui, P. Christen, J.Y. Gauthier, P. Lanteri and J.L.Veuthey, "Application of central composite designs in the supercritical fluid extraction of tropane alkaloids in plant extracts". *Analisis*.vol, 27, pp.772-778, 1999.
24. C.Y. Li, Z.C. Lu, C.J. Zhao, L. Yang, Y.J. Fu, K. Shi, X. He, Z. Li and Y.G. Zu, "Ionic-liquid-based ultrasound/microwave-assisted extraction of 2,4-dihydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3-one and 6-methoxybenzoxazolin-2-one from maize (*Zea mays* L.) seedlings". *J. Sep. Sci.* vol, 38, pp. 291-300, 2015.
25. E.K.F. Göger, M.Koşar and K.H.Başer, "Phenolic composition and biological activities of *Salvia halophila* and *Salvia virgata* from Turkey". *Food Chemi.*, vol, 108, pp. 942 – 949, 2008.
26. S.N. Zhao, K. Kwok and H.H. Liang, "Investigation on ultrasound assisted extraction of saiko saponins from *Radix bupleuri*". *Separ. Purif. Tech.*, vol, 55, pp. 307–312, 2007.
27. J. Dong, Y. Liu, Z. Liang and W. Wang, "Investigation on ultrasound assisted extraction of salvianolic acid B from *Salvia miltiorrhiza* root". *Ultrason. Sonochem.*, vol,17,pp. 61–65, 2010.
28. G.F. Barbero, A.Liazid, M.Palma and C.G. Barroso, "Ultrasound-assisted extraction of capsaicinoids from peppers". *Talanta*, vol, 75, pp. 1332–1337, 2008.
29. Q.A. Zhang, Z.Q. Zhang, X.F. Yue X.H. Fan, T. Li and S.F. Chen, "Response surface optimization of ultrasound-assisted oil extraction from autoclaved almond powder". *Food Chem.*, vol, 116, pp.513–518, 2009.

30. S.S. Herodež, M. Hadolin, M. Škerget and Z. Knez, "Solvent extraction study of antioxidants from Balm (*Melissa officinalis* L.) leaves". *Food Chem.*, vol, 80,pp. 275–282,2003.
31. E.Q. Xia, X.X. Ai, S.Y. Zang T.T. Guan, X.R Xu and H.B. Li, "Ultrasound-assisted extraction of phillyrin from *Forsythia suspensa*". *Ultrason. Sonochem.*, vol,18,pp. 549–552,2011.
32. M. Markom, M. Hasan, W. Ramli, W.Daud, S.Singh and J.M.Jahim, "Extraction of hydrosable tannins from *Phyllanthusniruri* Linn. Effect of solvents and extraction methods". *Sep. Purif. Technol.*, vol, 52, pp. 487- 496, 2007.
33. C. Silva, V.A.S. Garcia, L.M. S.S. Franciscato," Ultrasound Assisted Extraction of Bioactive Compounds from *Lichia* Peels (*Litchi Chinensis*Sonn).", *Revista Ciências Exatas e Naturai*" ,vol,18,pp. 81-96,2016
34. P. A. Palsikowski, L. M. Besen, E.J. Klein, C.Silva, E. A. Silva , "Optimization of ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from *B. forficata* subsp. *Pruino sa*, *Can J Chem Eng.* Vol, 98,pp. 2214–2226,2020.:
35. S. Aourabi, S. Jennan, M.Sfaira and F. Mahjoubi, "Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Ammi visnaga* using response surface methodology", *Int. J. Pharm. Sci. Rec.*, vol, 10,pp. 2693-2699,2019.
36. A. Paula Guerra, V.A.S. Garcia, C. Silva, "Optimization of Extraction compounds phenolics from Mango peel (*Tommy Atkins*) Using ultrasound-Assisted process", *E-Xacta, Belo Horizonte*, Vol,9,pp. 103-110,2016.

Chapitre VI :

Mise au point d'un effet synergétique des extraits hydro-éthanoliques de *l'Ammi visnaga* et des stigmates *Zea mays* pour l'inhibition de la corrosion de l'acier doux dans HCl 1 M

Contenu du chapitre

Dans ce chapitre, nous nous sommes intéressés à l'étude de l'effet synergique des deux extraits hydro-éthanoliques de *A. visnaga* HE(AV) et des stigmates de *Z.mays* HE (ZM) sur la corrosion de l'acier doux dans une solution HCl 1M et ceci par les techniques électrochimiques (méthodes de polarisation potentiodynamique (Tafel et Stern&Geary) et par la spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE)). Nous avons étudié aussi les paramètres thermodynamiques qui permettent de déterminer le type d'adsorption sur la surface du métal. La morphologie de surface du matériau étudié avec et sans inhibiteur de corrosion a été examinée par microscope électronique à balayage (MEB). Les résultats obtenus montrent que le mélange HE(AV)/HE (ZM) a agi comme un inhibiteur de corrosion efficace pour le matériau étudié. Son efficacité d'inhibition a augmenté avec l'augmentation de la concentration et atteint 96.55% à $0.01\text{gL}^{-1}\text{HE (AV)}/0.2\text{gL}^{-1}\text{HE (ZM)}$. Les courbes de polarisation ont révélé que l'inhibition par cette formulation est type mixte avec une action anodique prédominante. Les études SIE ont été ajustées par le modèle de circuit équivalent ($R_s + CPE_{dl} / (R_f + CPE_{\gamma} / R_{ct})$) à 298 K. Les études thermodynamique ont montré que l'efficacité d'inhibition diminue avec la température ce qui prouve que l'adsorption à la surface de l'acier doux est de type physisorption. L'influence du temps d'immersion de ce mélange sur l'efficacité a été étudiée. Les résultats montrent que l'efficacité inhibitrice diminue avec le temps d'immersion. Les analyses par microscopie électronique à balayage (MEB/EDX) ont confirmé la formation d'un film protecteur adsorbé sur la surface de l'acier doux

Synergetic effect between phenolic extracts of *Ammi visnaga* and *Zea mays* formulation on the corrosion of mild steel in 1 m HCl solution

*S. Aourabi**, *M. Driouch*, *M. Kadiri*, *F. Mahjoubi*, *M. Sfaira*

Laboratory of Engineering, Modeling and Analysis Systems (LIMAS). University Sidi Mohamed Ben Abdellah (USMBA), Faculty of Sciences PO Box 1796-30000, Fez-Atlas, Morocco.

*Corresponding authors: sarra.aourabi1@gmail.com

Received 23 February 2021; Accepted 30 April 2021

Abstract

The synergetic effects between hydro-ethanolic extracts of *A. visnaga* HE (AV) and *Z. mays* hairs HE (ZM) on corrosion of mild steel in 1 M HCl solution was investigated at 298 K by two techniques: potentiodynamic polarization (PP) methods (Tafel and Stern&Geary) along with electrochemical impedance spectroscopy (EIS). The mixture of HE(AV)/HE (ZM) acted as an efficient corrosion inhibitor and its inhibition efficiency increased with concentration to up 96.55 % at 0.01 gL⁻¹HE (AV)/0.2 gL⁻¹HE (ZM). The polarization curves revealed that the mixture acted as a mixed type inhibitor, with anodic predominant action. The EIS studies were fitted by $(R_s + CPE_{dl}) / (R_{ct} + CPE_f / R_f)$ equivalent circuit model. The kinetic parameters were in favor of a physisorption character of HE (AV)/HE (ZM) components adsorption onto the mild steel surface. The influence of exposure time on the efficiency of mixture extract was investigated. Scanning Electron Microscopy (SEM/EDX) analyses confirmed the formation of a protective adsorbed film upon the mild steel surface.

Key words: phenolic extract, *A. visnaga*, *Z. mays* hairs, corrosion, mild steel, PP, EIS, synergistic, SEM/EDX.

I. Introduction

Corrosion of metals causes huge economic losses of billions dollars every year in several industries around the world [1]. One of the most practical and economical methods to protect industrial equipment from corrosion is the application of corrosion inhibitors [2]. Unfortunately, most of these corrosion inhibitors can present a high risk to the environment and humans [3-6]. However, plant extracts have become a more important corrosion inhibitor due to their low toxicity, high availability and simple preparation [5]. According to the literature [7], most recent contributions are those using plant extracts to inhibit corrosion of steel in acid solutions for example, *Ammi visnaga* extract [8-10], corn silk [11], mixture of *Hevea Brasiliensis* (rubber) and leaf of *Zea Mays* (corn cob) [12]. It is clear from these studies that the inhibitory properties of plant extracts are generally attributed to their variety and complex organic substances [13]. Recently, we presented electrochemical experimental evidence demonstrating that the hydro-ethanolic extract of *Ammi visnaga* [10] and the hydro-ethanolic extract of *Zea mays* hairs acted as a good corrosion inhibitor on mild steel in 1M HCl solution [14]. PP studies have shown that HE (AV) functions as a mixed type inhibitor and HE (ZM) acted as a mixed type inhibitor with anodic predominant in the hydrochloric acid system. Integrated EIS measurements with Nyquist diagrams revealed that HE (AV) and HE (ZM) have increasing corrosion inhibition efficiency with rise of concentration. In recent years, it is needed to improve the inhibitory effect of green inhibitors and therefore reduce the cost of economic loss; eventual synergism can be considered as an effective way to improve the inhibiting efficiency of extracts.

In this work, we provide an extension of an earlier study on the synergistic inhibition effect between HE (AV) and HE (ZM) on corrosion of mild steel in 1 M HCl solution by electrochemical techniques. The thermodynamic parameter allows determining the type of adsorption on metal surface. Scanning electron microscope (SEM) was used to exemplify the surface morphology of mild steel with and without inhibition intervention, in order to obtain more information on the corrosion inhibition effect of HE (AV)/HE (ZM) on mild steel in 1 M HCl solution.

II. Materials and methods

II.1. Vegetal material

Ammi visnaga (*A.visnaga*) and *Zea mays* (*Z.mays*) hairs were collected at the fruiting time in July 2019 in the Province of Taounate. The areal part was dried in the shade in a dry place and then crushed for later use. Samples were deposited at the herbarium of the Laboratory of Biotechnology and Preservation of Natural Resources of the Faculty of Sciences Dhar El Mahraz, University Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fez, Morocco.

II.2. Material

The mild steel samples (containing 0.11wt.% C, 0.24 wt.% Si, 0.47 wt.% Mn, 0.12 wt.% Cr, 0.02 wt.% Mo, 0.10 wt.% Ni, 0.03 wt.% Al, 0.14 wt.% Cu, 0.06 wt.% W, Co < 0.0012 wt.%, V < 0.003 wt.%, and bal. Fe), were obtained by the conventional method widely reported in the literature [15]. The aggressive solution of 1 M HCl was prepared by dilution of analytical grade 37% HCl with bi-distilled water. The different concentrations of mixture HE(AV)/HE(ZM) were prepared with 1M HCl addition.

III. Methods

III.1. Preparation of phenolic extracts

Phenolic extracts of *A.visnaga* and *Z.mays* hairs were obtained by ultrasounds with (45 Hz, 50 W, 308 K), mixing the dry powder with ethanol/water (70:30) for 45 min. The extracts were filtered concentrated under reduced pressure.

III.2. Electrochemical measurements

The electrochemical measurements were performed using a conventional three-electrode glass cell with a thermostat double wall conducted by potentiostat/galvanostat and controlled with analysis software (EC-Lab V11.20). The mild steel specimen was used as working electrode, (Ag/AgCl, 3M,KCl) as reference electrode and platinum as auxiliary electrode. The polarization curves acquired from potentiodynamic polarization experiments were recorded in the potential range ± 250 mV of open circuit potential E_{ocp} , with a scan rate of 1 mV s^{-1} . The corrosion parameters such as cathodic Tafel slope β_c , corrosion current density i_{corr} and corrosion potential E_{corr} were extracted by extrapolation from cathodic Tafel linear segment and were evaluated by EC-Lab V11.20 software. The (S&G) method, based on the determination of the polarization resistance R_p of mild steel in the test solutions, was applied by exploiting the linear plot in the potential range of ± 25 mV, around E_{corr} . The impedance experiments were realized using a transfer function analyzer (EC-Lab V11.20) in the frequency range domain from 10^5 to 10^{-1} Hz, with small perturbation amplitude of 10 mV peak to peak, at E_{ocp} . Before polarization and EIS

measurements the working electrode was left, in the test solution, during 30 min at E_{ocp} potential. The impedance spectra were analyzed according to an appropriate equivalent circuit.

III.3. Analyze the surface by scanning electron microscope

The surface morphologies of the samples were examined by scanning electron microscope (SEM model FEI Quanta® 250) equipped with EDX probe microanalysis of surfaces. The micrographs were taken after immersion of the samples in the corrosive solution for 24 h, without and with 0.01 g L^{-1} HE (AV) + 0.2 g L^{-1} HE (ZM).

IV. Resultats and Discussion

IV.1. Electrochemical behavior of mild steel in the presence of mixture HE (AV) + HE (ZM) extracts

IV.1.2. Potentiodynamic polarization measurements (PP)

At 298K, the PP curves of mild steel in 1 M HCl in the absence and presence of different concentrations of HE (AV) + HE (ZM) are shown in Fig.1. We have taken the best concentration of HE (AV) which gave the best inhibition effective and it was mixed with different concentrations of HE (ZM) until the inhibiting effectiveness achieved it maximum. Indeed, the objective is to recover the *Z.mays* waste which is characterized by a better yield as well as by important polyphenolic content especially flavonoids when compared to the HE (AV) extract [10]. These measurements were carried out under the same conditions as those used for HE extracts alone.

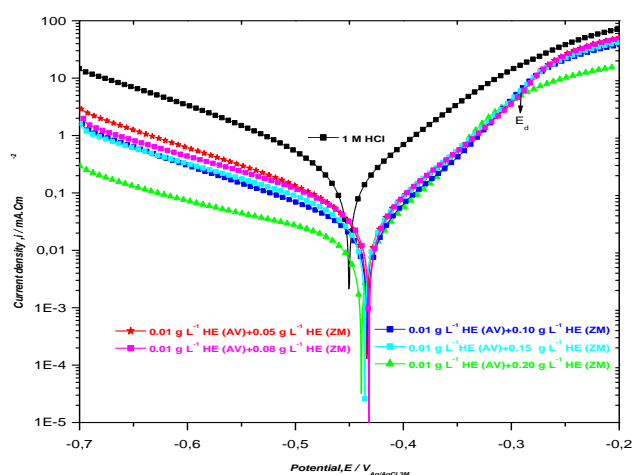


Figure 1: Polarization curves for the mixture of HE (AV) + HE (ZM) in 1 M HCl at 298

K

As shown in Fig. 1, in the presence of HE (AV) and HE (ZM) mixture, both the anodic and cathodic curves shift to lower current densities, accompanied by the emergence of lower values of current densities with the increase of concentration of HE (ZM), while the concentration of HE (AV) remains constant at 0.01 gL^{-1} . In the use of HE (AV)/HE (ZM) mixture, E_{corr} gradually shifts to positive direction which can be ascribed to adsorption of active molecule on the metal surface in acid solution [16]. Therefore, HE (AV)/HE (ZM) mixture could be classified as mixed type corrosion inhibitors with cathodic predominant control.

In the cathodic domain, the addition of different concentrations of mixture induces an important decrease of the partial cathodic current corresponding to the reduction of the proton H^+ . For the anode branch, it is noticed that the current density remains lower than that of the blank as for potentials that are lower they called desorption potential (E_d); from which the potential current curves are considerably closer to that of the blank. The sharp increases in current can be related to the marked desorption of the adsorbed inhibitor [17]. The electrochemical parameters of corrosion process are given in Table 1. Meanwhile, based on PP measurements, the inhibiting efficiency is calculated by the Equation (1) as follows:

$$\eta_{pp} \% = \left(\frac{i_{\text{corr}} - i_{\text{corr}/\text{inh}}}{i_{\text{corr}}} \right) \times 100 \quad (1)$$

where i_{corr} and $i_{\text{corr}/\text{inh}}$ are the corrosion current density values in the absence and presence of the mixture, respectively.

The inhibition efficiency $\eta_{S\&G} \%$ derived from S&G method, is calculated from the polarization resistance, using the following Equation (2):

$$\eta_{S\&G} \% = \left(\frac{R_{p/\text{inh}} - R_p}{R_{p/\text{inh}}} \right) \times 100 \quad (2)$$

where R_p and $R_{p/\text{inh}}$ are the polarization resistance values without and with different concentrations of mixture, respectively.

Table 1: Electrochemical parameters and inhibiting efficiencies obtained from PP measurements for mild steel in 1M HCl solution with different concentrations of HE(AV)+ HE(ZM) mixture at 298 K.

| C_{inh}/gL^{-1} | Tafel Data | | | S&G data | | |
|------------------------|------------|------------|-------------|---------------|-------|-----------------|
| | E_{corr} | i_{corr} | $ \beta_c $ | $\eta_{pp}\%$ | R_p | $\eta_{S\&G}\%$ |
| 1 M HCl | -416.20 | 337.10 | 147.1 | - | 82 | - |
| 0.01HE(AV)/0.05HE(ZM) | -433.79 | 56.17 | 160.1 | 83.33 | 300 | 72.66 |
| 0.01HE(AV)/0.08 HE(ZM) | -431.78 | 53.66 | 184.4 | 84.08 | 326 | 74.84 |
| 0.01HE(AV)/0.10 HE(ZM) | -435.54 | 43.11 | 187.8 | 87.21 | 421 | 80.52 |
| 0.01HE(AV)/0.15 HE(ZM) | -423.75 | 29.82 | 183.8 | 91.15 | 950 | 91.36 |
| 0.01HE(AV)/0.20 HE(ZM) | -439.35 | 14.24 | 224.4 | 95.77 | 1272 | 93.55 |

where E_{corr} in $mV_{Ag/AgCl, 3M KCl}$, i_{corr} in $\mu A cm^{-2}$, $|\beta_c|$ in $mV dec^{-1}$, R_p in Ωcm^2

From Table 1, it is demonstrated that the corrosion of mild steel is inhibited on account of i_{corr} value decrease when the mixture is added into the solution. The cathodic reaction process is retarded due to the increase of the cathodic Tafel slopes when different concentration of HE (ZM) is jointly added in the solution.

In this work, only the concentration of HE (ZM) is changed because the current density registered decreases significantly. In the opposite, when the concentration of HE (AV) is changed; the densities current does not show any remarkable variation (not reported above). In the presence of HE (AV) and HE (ZM) taken separately, the current densities are $49.81 \mu A cm^{-2}$ and $82.56 \mu A cm^{-2}$, respectively [10,14]. However, i_{corr} decreases significantly with the mixture, which means that mild steel corrosion is intensely delayed by these inhibitors mixture and a strong synergism inhibitory effect is obtained between HE (AV) and HE (ZM).

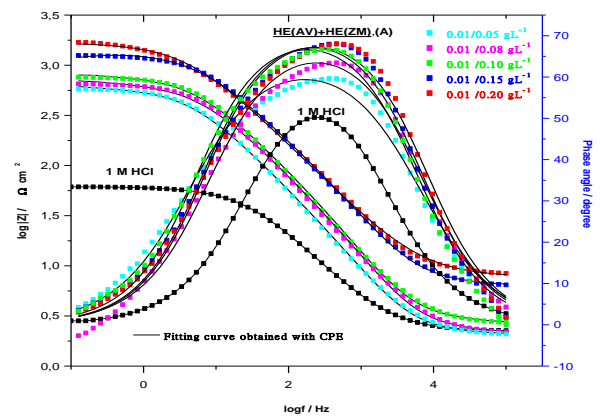
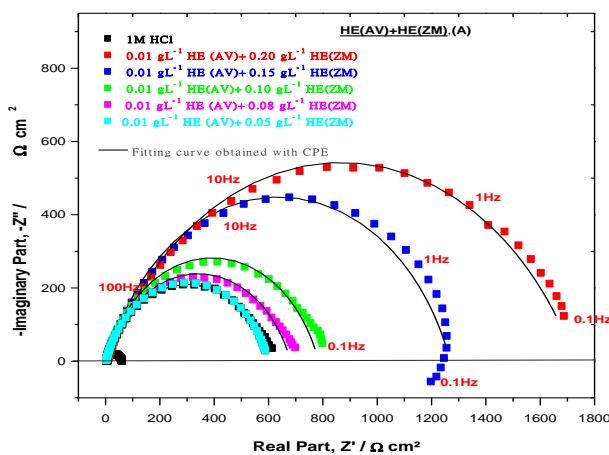
The corrosion inhibition effect gradually becomes better when the concentration of HE (ZM) in the mixture increases up to $0.2 gL^{-1}$ HE (ZM). The highest R_p values of individual HE (AV) and HE (ZM) are $738.7 \Omega cm^2$ at $0.01 gL^{-1}$ [10] and $679.00 \Omega cm^2$ at $0.15 g L^{-1}$ [14], respectively. In the presence of the mixture HE (AV)/HE (ZM), the R_p values increase up to $1272 \Omega cm^2$ indicating that the melange improves consequent resistance and acts as good corrosion inhibitor. Similarly, to the situation of individual inhibitor use, the polarization resistance values of inhibitor mixture increases with the increase of concentration HE (ZM) in the mixture [10]. It should be noted that there is a recorded difference between the two methods (Tafel, S&G) resulting from the stationary

polarization, intervenes at the level of the different approximations on which each of them is based. Otherwise, the inhibitory efficiencies derived from S&G method are in the same trend as those obtained by Tafel method.

IV.1.2. EIS measurements

The Nyquist and Bode plots for mild steel in 1M HCl at 25°C with different concentrations of inhibitors are shown in Fig 2. All Nyquist plots (A,B,C) show an increasing of loops size with increasing concentration of HE (ZM) in the mixture HE (AV)/HE (ZM) compared with that in the blank solution, indicating that the mixture slows down remarkably the corrosion process of mild steel. As seen from Fig. 2, when the mixtures of HE (AV)/HE (ZM) are added in the solution, the diameters of semicircles become larger than those obtained by HE (AV) and HE (ZM) separately [10,14], suggesting that the corrosion process is further inhibited when HE (AV) when it is jointly used with HE (ZM) when compared to the separately use of individual inhibitor.

For different mixing concentrations HE (AV)/HE (ZM), there are two separated maximum phases in the Bode diagram (Fig. 2A). To confirm this hypothesis we have simulated the experimental diagrams using the simple circuit ($R_s + CPE_{dl} / R_{ct}$ Fig.3A) and the two-time constant circuit ($R_s + CPE_{dl} / (R_{ct} + CPE_f / R_f)$ Fig. 3B).



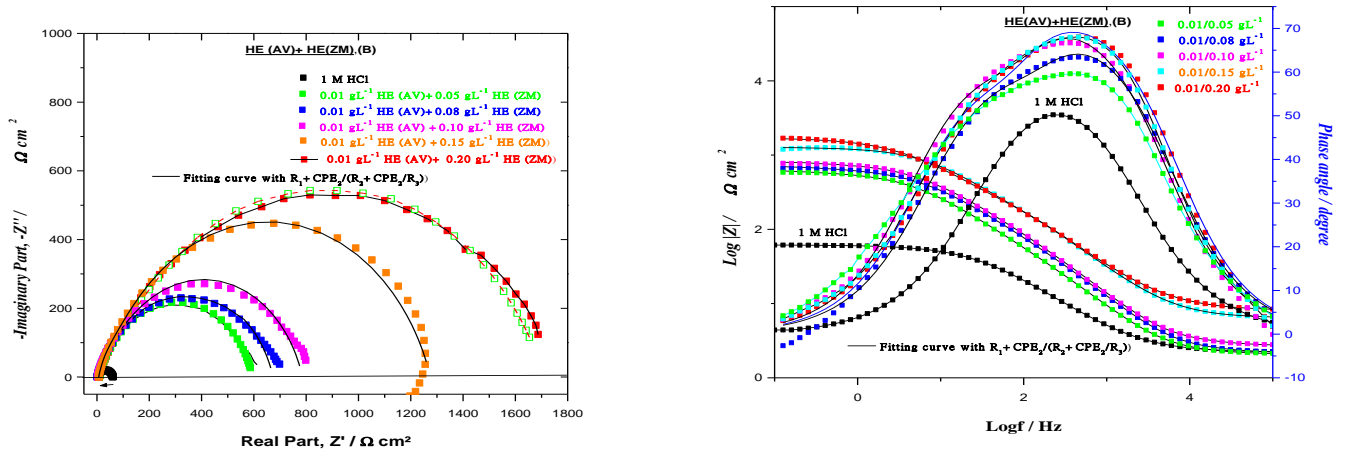


Figure 2: Nyquist and Bode diagrams of mild steel in 1 M HCl without and with different concentrations of HE (AV)/HE(ZM) at 298 K with simulation by (R_s+CPE_{dl}/R_{ct}) (A) and $(R_s+CPE_{dl}/(R_{ct}+CPE_f/R_f))$ (B)

The Bode diagram (Fig. 2A) simulated by the simple circuit shows a poor simulation of experimental and simulated spectra that indicates a second time constant that is recently fit adequately. The first phenomenon at low-frequency can also be attributed to the adsorption, and the second phenomenon at mild-frequency can be attributed to the charge transfer of inhibitor on the metal surface. For this reason, we have tried several equivalent circuits to obtain inappropriate simulation. Therefore, the circuit $(R_s+CPE_{dl}/(R_{ct}+CPE_f/R_f))$ offers a better superposition of the experimental and simulated spectra in the representation of Nyquist (A) and Bode (B) for the mixture. Therefore, the best fitting is obtained by the circuit equivalent to two time constants. The equivalent circuit employed is presented in Fig.3, where R_s represents the solution resistance, R_{ct} the charge transfer, R_f the film resistance and CPE is the constant phase element.

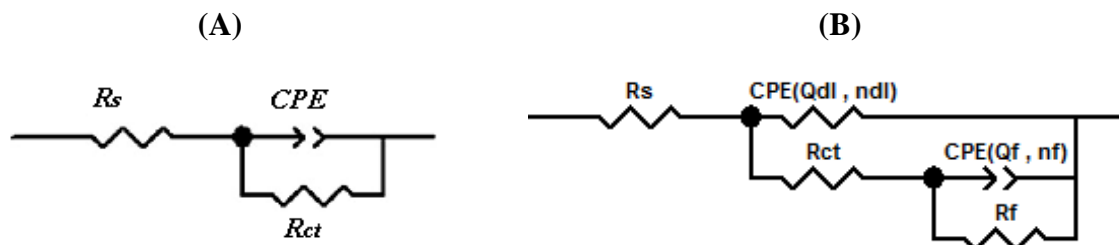


Figure 3: Equivalent circuit (A,B) used to fit the impedance data for mild steel in 1M HCl with or without HE (AV)/HE (ZM) mixture

The electrochemical impedance parameters for mild steel in 1M HCl in the presence of the formulation HE(AV)/HE (ZM) are obtained by fitting of impedance diagrams by the simple circuit RQ for the blank solution and with 2RQ (two time constants) are reported in Table 2. The values of the pseudo-capacitances (C_{dl} , C_f) are determined by the following Equations (3, 4) according to [18, 19]:

$$C_{dl} = (Q_{dl} R_{ct}^{1-n_{dl}})^{1/n_{dl}} \quad (3)$$

$$C_f = (Q_f R_f^{1-n_f})^{1/n_f} \quad (4)$$

The inhibition efficiency is calculated with the following Equation (5):

$$\eta_{EIS} \% = \left(\frac{R_p - R_p^0}{R_p} \right) \times 100 \quad (5)$$

In the absence of the formulation, the polarization resistance corresponds to the charge transfer resistance ($R_p = R_{ct}$), while in the presence of inhibitors, the value of R_p is given by the sum of two contributions: $R_p = R_{ct} + R_f$ and R_p^0 is the total resistance for blank.

Table 2: EIS parameters and inhibition efficiencies for mild steel in 1 M HCl in the absence and presence of different concentrations of HE (AV)/HE (ZM) at 298K

| C_{inh} / gL^{-1} | R_s | R_{ct} | Q_{dl} | C_{dl} | R_f | Q_f | R_p | χ^2 | $\eta_{EIS} \%$ |
|------------------------|-------|----------|----------|----------|-------|-------|--------|----------|-----------------|
| 1M HCl | 1.1 | 58.1 | 373.3 | 118.8 | - | - | 59.1 | 0.011 | - |
| 0.01HE(AV)/0.05HE(ZM) | 2.1 | 533.4 | 145.1 | 34.8 | 85.3 | 55.2 | 618.7 | 0.022 | 90.44 |
| 0.01HE(AV)/0.08 HE(ZM) | 2.2 | 598.1 | 137.2 | 27.6 | 109.9 | 45.8 | 708.1 | 0.014 | 91.65 |
| 0.01HE(AV)/0.10 HE(ZM) | 2.7 | 656.3 | 126.1 | 25.9 | 165.9 | 38.9 | 822.2 | 0.013 | 92.81 |
| 0.01HE(AV)/0.15 HE(ZM) | 6.2 | 751.5 | 37.3 | 21.6 | 510.4 | 28.6 | 1261.9 | 0.034 | 95.31 |
| 0.01HE(AV)/0.20 HE(ZM) | 6.5 | 1447 | 27.2 | 19.6 | 325.8 | 26.8 | 1703.4 | 0.004 | 96.53 |

where R_f, R_{ct} and R_s in Ωcm^2 , Q_f and Q_{dl} in $\mu F S^{n-1} cm^2$, C_{dl} and C_f in $\mu F cm^2$

It can be observed from Table 2 that the addition of different concentrations of HE (ZM) in the mixture into the solution cause an increase in R_{ct} and a decrease in C_{dl} which confirms the synergistic inhibition effect between HE (AV) and HE (ZM). The highest $\eta_{EIS} \%$ values of individual HE (AV) [10] and HE (ZM) [14] are 91.94 % and 93.97 % at 0.01 gL^{-1} and 0.15 gL^{-1} , respectively. However $\eta_{EIS} \%$ is 96.53% for the combination between 0.01 gL^{-1} HE(AV) and 0.2 gL^{-1} HE(ZM). Examining the efficiency obtained with the mixture and those using other natural products [20-22], we can conclude that the proposed formulation is very effective for the reason that we get the efficiency intense at low concentrations.

According to the results obtained from EIS and PP methods [10], we have noticed that the inhibiting efficiency obtained by HE (ZM) is due to the presence of flavonoids especially flavone. While, inhibition effect of HE (AV) is due to the presence of condensed tannins especially catechin. This observation for HE(ZM) and HE(AV) could be attributed to the presence of adsorption centers of oxygen, the heterocyclic oxygen atom, benzyl groups, O–H, C=O, C–O, and the presence of multiple bonds electron which are responsible for blocking active sites on the metal surface. In addition, when the metal is immersed in the inhibiting solution, the heteroatoms give free, non-binding electrons for the unoccupied orbits of the metal atom, which ensures strong and stable bonds (coordination bonds) between the inhibitor and the metal surface [23]. Thus, catechin and flavone were capable of forming chelates with metal cations because of the presence of an oxygen atom associated with the heterocyclic as an adsorption site and hydroxyl groups on aromatic rings [24] which promote surface protection by forming a barrier film on the surface that reduces the diffusion or movement of ions on the metal surface [25].

While, when HE (AV) + HE (ZM) are mixed, the number of active sites and the number of metal complex formation probably increase and therefore the inhibiting efficacy probably increases.

IV.1.3. Comparison between R_{ct} of HE (AV) + HE (ZM) and a commercial inhibitor

Dodecylamine ($C_{12}H_{27}N$) is a commercial inhibitor [26, 27] that has been extensively studied as a metal inhibitor in corrosive environments. Several studies have focused on the study of dodecylamine alone or mixed with other organic or green compounds as corrosion inhibitor, Zhenyuchen et al [28] studied the inhibiting efficiency of dodecylamine against corrosion of carbon steel in an acid medium of 0.3 M HCl. They found that dodecylamine results in a maximum increase in charge transfer resistance to $32.6 \Omega cm^2$ at a concentration of 125 ppm and at temperature of 30 °C during 30 min of immersion. Henriquez [21] studied the synergistic inhibition between dodecylamine, *Aloevera* (gel and *Acibar*) on the corrosion of 1 M HCl carbon steel. It is discovered that simple dodecylamine inhibits the corrosion of carbon steel which reaches $1674 \Omega cm^2$ at a concentration of 500 ppm after 15 h of immersion at 25°C with corrosion potential at $1000 \text{ tr. min}^{-1}$. On the other hand, when the immersion time is 2 hours, the resistance reaches $1180 \Omega cm^2$. After the addition of *Aleo vera* (gel and *Acibar*) on dodécylamine, the inhibition rate remains almost unchanged compared to the use of dodecylamine alone which shows that there is no synergy between these compounds. In our study the mixture provides a strength of $1702 \Omega cm^2$ at a

concentration of $0.01 \text{ gL}^{-1}(\text{AV})/0.2 \text{ gL}^{-1} \text{ HE}(\text{ZM})$ during 30 min immersion of the mild steel in 1 M HCl at a temperature of $25 \text{ }^\circ\text{C}$. Thus it appears that our mixture shows a reasonably good inhibiting efficiency compared to the synthesized inhibitor.

IV.1.4. Effect of temperature

The effect of temperature constitutes an important factor in the stability of inhibitive behavior of mixture inhibitor. In the present study, the effect of temperature from 298 to 333 K is studied at the optimum concentration of $0.01 \text{ gL}^{-1} \text{ HE}(\text{AV}) + 0.2 \text{ gL}^{-1} \text{ HE}(\text{ZM})$ by EIS. The Nyquist diagrams simulated by the equivalent circuit ($R_s + \text{CPE}_{dl} / (R_{ct} + \text{CPE}_f / R_f)$) in presence and absence the mixture at 25°C are given in Fig.4. This circuit allows a perfect fitting between the measurements obtained experimental and theoretical data. The electrochemical parameters deduced from the impedance spectra are summarized in Table 3. From these results, we note the important diminution of R_{ct} values when the temperature of blank solution increases and enhances the C_{dl} and Q_{dl} values both in uninhibited and inhibited solutions. In the presence of the tested inhibitor, the dissolution of mild steel is extensively retarded. The inhibition efficiencies are found to decrease with increasing the solution temperature from 298 to 333 K. This behavior can be interpreted from the fact that the increase in temperature cause desorption of the inhibitor from the surface of mild steel.

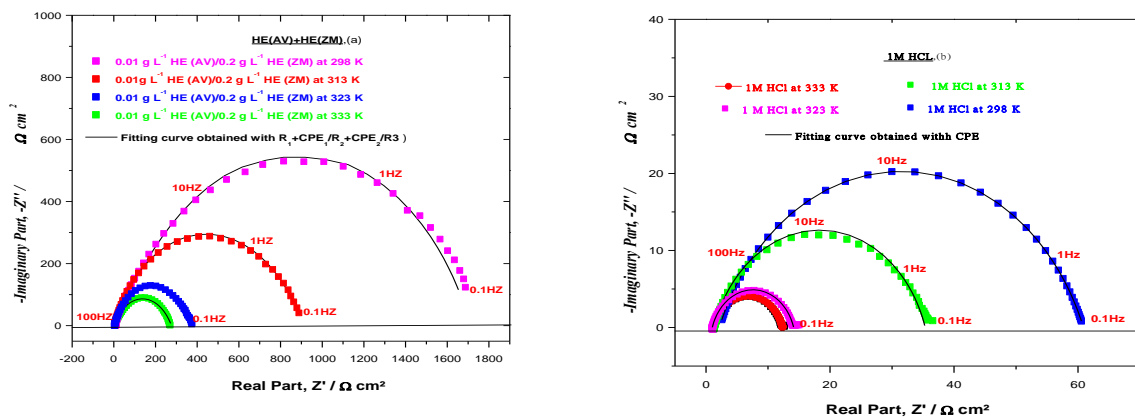


Figure 4: Nyquist (a, b) diagrams for mild steel in 1 M HCl solution at different temperatures in the absence (b) and presence(a) of mixture HE(AV)/HE(ZM)

Table 3: Electrochemical impedance parameters for mild steel in 1 M HCl in the absence and presence of 0.01 gL⁻¹ HE(AV)/0.2 gL⁻¹ HE(ZM) at different temperatures

| | T | R_s | R_{ct} | Q_{dl} | C_{dl} | R_f | Q_f | R_p | $\eta_{EIS}\%$ |
|---------|-----|-------|----------|----------|----------|-------|-------|-------|----------------|
| Blank | 298 | 1.1 | 58 | 373 | 118.8 | - | - | - | - |
| | 313 | 1.3 | 34 | 450 | 109.2 | - | - | - | - |
| | 323 | 1.1 | 13 | 604 | 127.8 | - | - | - | - |
| | 333 | 1.2 | 11 | 690 | 138.4 | - | - | - | - |
| Mixture | 298 | 6.5 | 1447 | 27 | 19.6 | 325 | 26.8 | 1703 | 96.59 |
| | 313 | 3.1 | 827 | 123 | 29.52 | 81 | 46 | 909 | 96.25 |
| | 323 | 2.6 | 354 | 170 | 30.00 | 29 | 47 | 383 | 84.85 |
| | 333 | 3.4 | 269 | 180 | 34.75 | 15 | 123 | 284 | 79.57 |

where T in K , R_f, R_{ct} , R_p and R_s in Ωcm^2 , Q_f and Q_{dl} in $\mu F s^{n-1} cm^2$, C_{dl} in $\mu F cm^{-2}$

The values of activation energy E_a are estimated using Arrhenius Equation (7):

$$\frac{1}{R_p} = A \exp\left(\frac{-E_a}{RT}\right) \quad (7)$$

where E_a is the apparent effective activation energy, R is the general gas constant, T is the absolute temperature, and A is the frequency factor.

Since it is known that the corrosion rate is inversely proportional to R_{ct} , the values of $\ln(1/R_p)$ and $\ln(R_p T)^{-1}$ were plotted as a function of $1000/T$ in Fig. 5(a,b) for the corrosion mild steel in 1 M HCl solution in the absence and presence of 0.01 gL⁻¹ HE(AV)/0.2 gL⁻¹ HE(ZM).

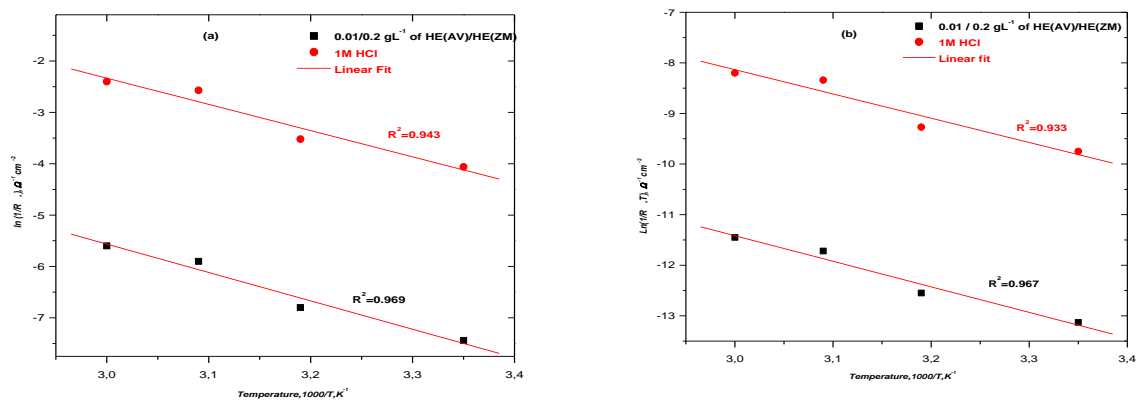


Figure 5: Arrhenius plots of mild steel obtained in 1 M HCl in the absence and presence of 0.01 HE(AV)/0.2 gL⁻¹ HE(ZM)

The kinetic parameters such as enthalpy and entropy of corrosion process may also be evaluated from the temperature effect as well as E_a are listed in Table 4. An alternative formulation of Arrhenius equation is called transition state, given by Equation (8):

$$\frac{1}{R_p T} = \frac{R}{Nh} \exp\left(\frac{\Delta S^*}{R}\right) \exp\left(\frac{-\Delta H^*}{RT}\right) \quad (8)$$

where h is Planck's constant ($h = 6.6252 \cdot 10^{-34}$ J s), N is Avogadro's number ($N = 6.023 \cdot 10^{23}$ mol⁻¹), ΔS^* is the entropy of activation and ΔH^* is the enthalpy of activation.

Table 4: Activation parameters for mild steel in 1M HCl with and without 0.01gL-1 HE(AV)/0.2 gL-1HE(ZM)

| Inhibitor | A | E_a (kJ mol ⁻¹) | ΔH^* (kJ mol ⁻¹) | ΔS^* (J K ⁻¹ mol ⁻¹) |
|-----------|-------------------|----------------------------------|---|--|
| Blank | $6.05 \cdot 10^4$ | 42.6 | 39.80 | -145.50 |
| Mixture | $4.34 \cdot 10^5$ | 45.8 | 31.07 | -239.04 |

From Table 4, we notice that the higher value of activation dissolution energy E_a and A factor in presence of inhibitor, when compared to the blank, indicates that strong inhibition action of the mixture is by increasing the energy barrier for the corrosion process, emphasizing the electrostatic character of the inhibitor (physisorption phenomenon) [29]. The positive sign of the activated enthalpy ΔH^* means that the dissolution phenomenon is of endothermic nature [30]. The entropy of activation ΔS^* in the absence and presence of the inhibitor are negatively large. This indicates that the activated complex in the rate determining step which represents an association rather than dissociation step, meaning that, a decrease in disordering is taking place on going from reactants to the activated complex [31].

IV.1.5. Immersion time

The Nyquist plots simulated by $(R_s + CPE_{dl}) / (R_{ct} + CPE_f / R_f)$ for mild steel in 1M HCl solution in the presence of 0.01 gL⁻¹HE(AV)/0.2 gL⁻¹ HE(ZM)extract at different immersion times are shown in Fig.6. As seen, in the presence mixture, the size of the semicircle which gives an indication about the charge transfer resistance of mild steel decreases with exposure time.

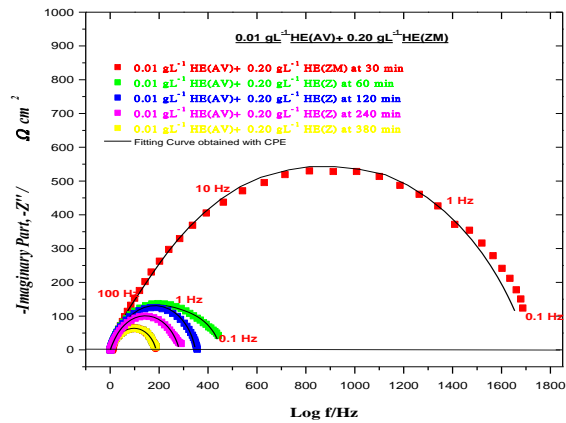


Figure 6: Nyquist plots for mild steel in 1M HCl solution containing HE (AV)/HE (ZM) at different immersion times.

Fig.6 indicates that, in the presence of mixture, the R_{ct} values show exponential decrease with immersion time. Since, the R_{ct} value is inversely proportional to corrosion rate, then the decrease in R_{ct} values or in other words the increase in the corrosion rate may be discussed on the basis that prolonged immersion of mild steel in acid solution allows the cathodic or hydrogen evolution kinetics to increase[32, 33].

IV.1.6. SEM and EDX analyses

The image of the mild steel surface by SEM with a resolution of 100 μm after 24 hours of immersion in 1M HCl alone (Fig.7A), shows that the surface of the latter is characterized by the presence of grey spots and some pitting on the surface of the metal which indicates that the steel is strongly damaged by corrosion almost widespread over the entire surface of the wall in the presence of 1 M HCl. The mild steel immersed in 1 M HCl with 0.01 HE (AV)/ 0.2 gL^{-1} HE(ZM) presents a smooth surface (Fig. 7B), indicating that the surface is protected by the formulation of 0.01 HE (AV)/0.2 gL^{-1} HE(ZM). This observation is probably due to the formation of a good protective film of mixture onto the mild steel surface [34]. The EDX analysis of mild steel immersed in 1M HCl alone and 0.01 HE (AV)/0.2 gL^{-1} HE (ZM), respectively, are given in Fig. 8 (A, B).

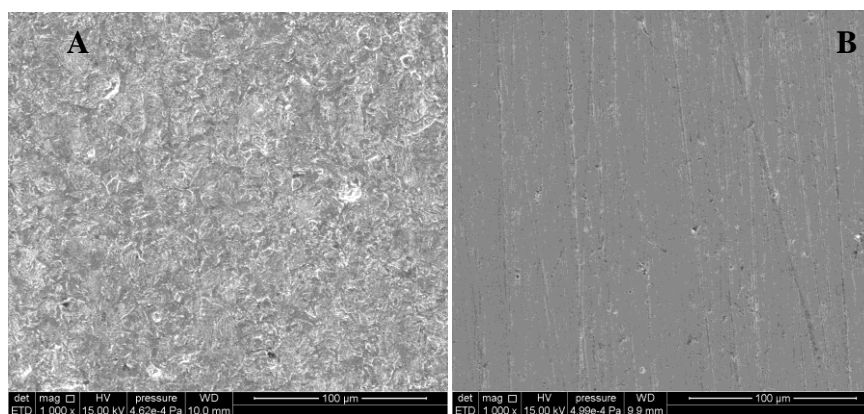


Figure 7: SEM photograph of mild steel: immersed in 1M HCl in the absence (A) and presence (B) of 0.01 HE (AV) + 0.2 gL⁻¹ HE(ZM) at 298 K

V. Conclusion

We studied the synergistic effect of the HE (AV)/HE (ZM) mixture on the inhibiting efficiency of mild steel in 1M HCl medium. The results found showed that the studied mixture is a good inhibitor of mild steel corrosion, compared to dodecylamine. The thermodynamic parameters showed that the adsorption of the inhibitors follows a physisorption mechanism. Temperature had a negative influence on inhibitory efficiency; in general, an increase in temperature significantly decreased inhibiting efficiency. This can be explained by the fact that the anodic (oxidation of steel components) and cathodic (reduction of protons in acidic environment) processes are thermally activated. The inhibiting efficiency of this mixture decreases with immersion time. The results are confirmed by scanning electron microscopy analysis coupled with EDX.

References

1. C. B. Pradeep Kumar and K. N. Mohana, "Phytochemical screening and corrosion inhibitive behavior of *Pterolobium hexapetalum* and *Celosia argentea* plant extracts on mild steel in industrial water medium," *Egyptian Journal of Petroleum*, vol. 23, no. 2, p. 251, 2014.
2. H. Ashassi-Sorkhabi, D. Seifzadeh, and M. G. Hosseini, "EN, EIS and polarization studies to evaluate the inhibition effect of 3H-phenothiazin-3-one, 7-dimethylamin on mild steel corrosion in 1 M HCl solution," *Corrosion Science*, vol. 50, no. 12, pp. 3363–3370, 2008.
3. S. A. Ali, M. T. Saeed, and S. U. Rahman, "The isoxazolidines: a new class of corrosion inhibitors of mild steel in acidic medium," *Corrosion Science*, vol. 45, no. 2, pp. 253–266, 2003.

4. L. M. Vračar and D. M. Dražić, "Adsorption and corrosion inhibitive properties of some organic molecules on iron electrode in sulfuric acid," *Corrosion Science*, vol. 44, p. 1669, 2002.
5. M. Behpour, S. M. Ghoreishi, N. Soltani, and M. Salavati-Niasari, "The inhibitive effect of some bis-N,S-bidentate Schiff bases on corrosion behaviour of 304 stainless steel in hydrochloric acid solution," *Corrosion Science*, vol. 51, no. 5, pp. 1073–1082, 2009.
6. Y. Tang, X. Yang, W. Yang, R. Wan, Y. Chen, and X. Yin, "A preliminary investigation of corrosion inhibition of mild steel in 0.5M H₂SO₄ by 2-amino-5-(n-pyridyl)-1,3,4-thiadiazole: polarization, EIS and molecular dynamics simulations," *Corrosion Science*, vol. 52, no. 5, pp. 1801–1808, 2010.
7. S. Mo, H. Q. Luo, and N. B. Li, "Plant extracts as "green" corrosion inhibitors for steel in sulphuric acid," *Chemical Papers*, vol. 70, p. 1131, 2016.
8. A. Y. El-Etre, "Khillah extract as inhibitor for acid corrosion of SX 316 steel," *Applied Surface Science*, vol. 252, no. 24, pp. 8521–8525, 2006.
9. S. Aourabi, M. Driouch, K. Ammor, M. Sfaira, and F. Mahjoubi, "Evaluation of anticorrosion and antioxidant activities of ethanolic extract of *Ammi visnaga*," *Analytical and Bioanalytical Electrochemistry*, vol. 10, no. 7, p. 912, 2018.
10. S. Aourabi, M. D. M. Sfaira, and F. Mahjoubi, "Influence of phenolic compounds on antioxidant and anticorrosion activities of *Ammi visnaga* extracts obtained ultrasonically in three solvent systems," *International Journal of Electrochemical Science*, vol. 14, pp. 6376–6393, 2019.
11. K. O. Orubite and N. C. Ngobiri, "Corn silk as corrosion inhibitor for mild steel in 0.1 M HCl medium," *IOSR Journal of Applied Chemistry*, vol. 10, no. 3, pp. 51–60, 2017.
12. G. Ogbonda, J. Echem, Tubonimi, B. I. G. Lucky, and N. Josephine, *Journal of Applied Chemistry*, vol. 11, p. 37, 2018.
13. X. Li, S. Deng, H. Fu, and X. Xie, "Synergistic inhibition effects of bamboo leaf extract/major components and iodide ion on the corrosion of steel in H₃PO₄ solution," *Corrosion Science*, vol. 78, pp. 29–42, 2014.
14. S. Aourabi, M. Driouch, M. Kadiri et al., "Valorization of *Zea mays* hairs waste extracts for antioxidant and anticorrosive activity of mild steel in 1 M HCl environment," *Arabian Journal of Chemistry*, vol. 13, no. 9, pp. 7183–7198, 2020.
15. B. Zerga, B. Hammouti, and M. Sfaira, *International Journal of Electrochemical Science*, vol. 7, p. 471, 2012.

16. S. Aourabi, M. Driouch, M. Sfaira et al., "Phenolic fraction of Ammi visnaga extract as environmentally friendly antioxidant and corrosion inhibitor for mild steel in acidic medium," *Journal of Molecular Liquids*, vol. 323, Article ID 114950, 2020.
17. Q. Qu, Z. Hao, L. Li, W. Bai, Y. Liu, and Z. Ding, "Synthesis and evaluation of Tris-hydroxymethyl-(2-hydroxybenzylidenamino)-methane as a corrosion inhibitor for cold rolled steel in hydrochloric acid," *Corrosion Science*, vol. 51, no. 3, pp. 569–574, 2009.
18. A. Popova, "Temperature effect on mild steel corrosion in acid media in presence of azoles," *Corrosion Science*, vol. 49, no. 5, pp. 2144–2158, 2007.
19. G. J. Brug, A. L. G. van den Eeden, M. Sluyters-Rehbach, and J. H. Sluyters, "The analysis of electrode impedances complicated by the presence of a constant phase element," *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, vol. 176, no. 1-2, pp. 275–295, 1984.
20. H. Cang, Z. Tang, H. Li, L. Li, J. Shao, and H. Zhang, "Study on the synergistic effect of iodide ion with the extract of artemisia halodendron on the corrosion inhibition," *International Journal of Electrochemical Science*, vol. 12, Article ID 10484, 2017.
21. M. H. Gonzalez, Thèse de Doctorat, pp. 95–100, 2012.
22. C. Zhenyu, H. Ling, Q. Yubing, and G. Xingpeng, "Inhibition effect of dodecylamine on carbon steel corrosion in hydrochloric acid solution," *Surface Review and Letters*, vol. 19, Article ID 1250060, 2012.
23. P. B. Raja and M. G. Sethuraman, "Inhibitive effect of black pepper extract on the sulphuric acid corrosion of mild steel," *Materials Letters*, vol. 62, p. 2977, 2008.
24. A. Ostovari, S. M. Hoseinie, M. Peikari, S. R. Shadizadeh, and S. J. Hashemi, "Corrosion inhibition of mild steel in 1 M HCl solution by henna extract: a comparative study of the inhibition by henna and its constituents (Lawson, Gallic acid, α -d-Glucose and Tannic acid)," *Corrosion Science*, vol. 51, no. 9, pp. 1935–1949, 2009.
25. T. Murakawa, S. Nagaura, and N. Hackerman, "Coverage of iron surface by organic compounds and anions in acid solutions," *Corrosion Science*, vol. 7, no. 2, pp. 79–89, 1967.
26. E. Gulbrandsen, M. Foss, and J. Sjöblom, "Effect of corrosion inhibitors and oil on carbon dioxide corrosion and wetting of carbon steel with ferrous carbonate deposits," *Corrosion Science*, vol. 8, Article ID 08343, 2008.
27. Lu, Y. Qiu, and X. Guo, *Acta Physico-Chimica Sinica*, vol. 24, p. 243, 2008.
28. H. Ma, S. Tao, S. Hua, and X. Li, *Thin Solid Films*, vol. 51, p. 1025, 2008.

29. B. Zerga, A. Attayibat, M. Sfaira et al., "Effect of some tripodal bipyrazolic compounds on C38 steel corrosion in hydrochloric acid solution," *Journal of Applied Electrochemistry*, vol. 40, no. 9, pp. 1575–1582, 2010.
30. M. Beniken, M. Driouch, M. Sfaira, B. Hammouti, M. EbnTouhami, and M. Mohsin, "Kinetic–thermodynamic properties of a polyacrylamide on corrosion inhibition for C-steel in 1.0 M HCl medium: part 2," *Journal of Bio- and Tribo-Corrosion*, vol. 4, p. 34, 2018.
31. A. Al-Zanki, J. L. Gill, and J. L. Dawson, "Proceedings of the Symposium of Electrochemical Meth. Corros. Res, Toulouse, France," 1985.
32. E. Khamis and B. A. Abd El-Nabey, "Impedance studies of the effect of time of immersion on the inhibition of the acid corrosion of steel," *Corrosion Prevention and Control*, vol. 127, 1990.
33. A. Y. El-Etre, M. Abdallah, and Z. E. El-Tantawy, "Corrosion inhibition of some metals using lawsonia extract," *Corrosion Science*, vol. 47, p. 385, 2004.
34. S. Perumal, S. Muthumanickam, A. Elangovan, R. Karthik, R. S. Kannan, and K. K. Mothilal, "Bauhinia tomentosa leaves extract as green corrosion inhibitor for mild steel in 1 M HCl medium," *Journal of Bio- and Tribo-Corrosion*, vol. 3, no. 2, 2017.

Conclusion générale et perspectives

Le présent travail de thèse s'inscrit dans le cadre des travaux de recherche du Laboratoire d'Ingénierie, Modélisation et Analyse des Systèmes (LIMAS) dont l'un de ses objectifs est la valorisation des substances naturelles comme sources d'antioxydants et d'inhibiteurs de corrosion. Le matériel végétal sélectionné concerne la partie aérienne de *l'A.visnaga* ainsi qu'un biodéchet de *Z. mays*. Ces espèces appartiennent respectivement à la famille des *Apiaceae* et *Poaceae* et font partie des plantes médicinales et aromatiques. L'ensemble des résultats présentés dans cette thèse constitue une contribution à l'étude de l'effet du solvant, de l'activité antioxydante et inhibitrice de corrosion des extraits et fractions d'extraits phénoliques de *l'A. visnaga* d'une part. D'autre part, la valorisation des déchets de *Z. mays* comme antioxydants et inhibiteurs de corrosion de l'acier doux en milieu HCl 1 M a été traité ainsi que l'optimisation des conditions d'extraction aux ultrasons des deux plantes moyennant des plans d'expériences. De même, qu'une mise au point d'un effet synergétique des extraits hydro-éthanoliques riches en polyphénols de *l'A.visnaga* et des stigmates de *Z. mays* pour l'inhibition de la corrosion de l'acier doux dans une solution HCl 1 M a été réalisée.

L'étude expérimentale, a débuté par la réalisation des extractions par deux techniques à savoir l'extraction par soxhlet et aux ultrasons en considérant trois solvants, l'éthanol, l'eau et la solution hydro-éthanolique à 70 % pour chacune des plantes, étudiées. Par la suite, un criblage phytochimique des métabolites secondaires ainsi qu'un dosage des polyphénols ont été réalisés sur les différents extraits obtenus.

La détermination de l'activité antioxydante de chaque extrait, le fractionnement des composés phénoliques tanins et flavonoïdes ainsi que leurs analyses par HPLC ont été effectués. L'étude de l'action inhibitrice de corrosion a été réalisée sur les différents extraits et fractions phénoliques ainsi que sur les standards dans le but d'identifier les molécules ou familles de molécules responsables de l'action inhibitrice de la corrosion. Ces études ont été menées par des techniques électrochimiques stationnaires et transitoires suivies d'une analyse de surface par microscopie électronique à balayage.

Les résultats de ce travail, montrent que le screening phytochimique réalisé sur les extraits éthanoliques, hydro-éthanoliques et aqueux de la partie aérienne de *l'A.visnaga*, révèle la présence de divers métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les tanins condensés et les coumarines et l'absence de mucilage, de stéroïde, d'alcaloïdes et de tanins galliques. Dans ce travail, nous avons noté également, que la composition chimique d'un extrait ainsi que sa teneur en composé actifs dépend de la méthode d'extraction, du solvant et de la partie considérée de la plante. Ainsi, l'extraction par soxhlet a permis d'obtenir le meilleur rendement en extrait hydro-éthanolique (25.26 %) et éthanolique (23.35 %) par rapport à

l'extraction aux ultrasons (16.24 % pour l'extrait hydro-éthanolique et 12.35 % pour l'extrait éthanolique). Ceci pourrait être dû à la solubilité élevée des composés phénoliques dans les solvants mixtes par rapport aux solvants purs. Les résultats des dosages des polyphénols montrent que les teneurs en phénols totaux (TP) dans les différents extraits produits aux ultrasons sont supérieures à celles obtenues par soxhlet. Ces teneurs, varient de 69 à 110 (mg EAG/g d'extrait), pour les extraits obtenus aux ultrasons et de 80.10 à 76.75 (mg EGA/g d'extrait), pour les extraits obtenus par soxhlet. De même, les teneurs en flavonoïdes (TF) des différents extraits d'*A.visnaga* sont inférieures à celles des phénols totaux et varient de 18 à 34 (mg EQ/g d'extrait) obtenus par la méthode d'ultrasons et de 11.75 à 30.34 (mg EQ/g d'extrait) obtenu par soxhlet et ceci dans un ordre décroissant : hydro-éthanolique > éthanolique > aqueux. Aussi, les teneurs en tanins condensés (TC) des différents extraits obtenus, aux ultrasons, sont plus élevées 20 à 65 mg de catéchine/g d'extrait que celles obtenues par soxhlet (41.03 à 50.35 mg de catéchine/g d'extraits). L'extrait hydro-éthanolique est caractérisé par une teneur plus élevée en TC suivie de l'extrait éthanolique et aqueux.

L'activité antioxydante des différents extraits de *l'A. visnaga*, déterminée par la méthode de DPPH' montre que l'extrait hydro-éthanolique obtenu aux ultrasons présente la capacité la plus élevée $IC_{50}=1.70\text{ mg/mL}$ en comparaison avec l'extrait éthanolique $IC_{50}=2.40\text{ mg/mL}$ et l'extrait aqueux $IC_{50}=3.05\text{ mg/mL}$. On note également, que les extraits obtenus aux ultrasons présentent une activité antioxydante plus importante que ceux obtenus par la méthode de soxhlet et ce pour tous les solvants d'extraction utilisés. Les données recueillies par le dosage des composés polyphénols et leurs activités antioxydantes ont montré une très bonne corrélation entre la teneur en tanins condensés et l'activité antioxydante. Afin de déterminer la famille de molécules responsables de l'activité antioxydante, nous avons réalisé le fractionnement des flavonoïdes et des tanins à partir de *l'A.visnaga*. Les résultats montrent que les rendements d'extraction les plus élevés sont obtenus pour les fractions d'acétate d'éthyle F6 (7.67 %) et n-butanolique F3 (6.33 %). Les tests phytochimiques indiquent que la fraction d'acétate d'éthyle est caractérisée par la présence des tanins condensés. La teneur en flavonoïdes la plus élevée est observée pour la fraction n-butanolique F3 ($65.79 \pm 0.40\text{ mg EQ/g d'extrait}$). La teneur en phénols totaux dans toutes les fractions varie de 241.84 à 12.98 mg EAG/g d'extrait dont la plus élevée est attribuée à la fraction n-butanolique F3 ($241.84 \pm 9.02\text{ mg EAG/g d'extrait}$), tandis que la teneur la plus faible est détectée pour la fraction d'éther de pétrole F0 ($12.98 \pm 2.40\text{ mg EAG/g d'extrait}$). Ce résultat suggère que la fraction n-butanolique F3 est riche en

composés phénoliques et que le solvant n-butanol est approprié pour extraire les composés phénoliques. Le dosage des tanins condensés (TC) montre que la fraction d'acétate d'éthyle (F6) (145.16 ± 4.30 mg de catéchine /g d'extrait) est caractérisée par la teneur la plus élevée en TC et que la fraction aqueuse F5 (12.45 ± 0.30 mg de catéchine /g d'extrait) présente la teneur en TC la plus faible. Pour la détermination de la teneur en phénols totaux contenus dans différentes fractions, il est à noter que F6 est caractérisé par la teneur la plus élevée (250.17 ± 7.20 mg EAG/g d'extrait) suivie de F5. L'évaluation de l'activité antioxydante par quatre méthodes (DPPH^{*}, FRAP, AAT et β -carotène) montre que la fraction d'acétate d'éthyle riche en tanins condensés est caractérisée par une activité très importante par rapport à la fraction n-butanolique. L'analyse par HPLC, montre que la fraction n-butanolique est caractérisée par la présence de quercétine comme molécule majoritaire avec un pourcentage de (34 %) et que la fraction d'acétate d'éthyle est caractérisée par la présence de catéchine comme molécule majoritaire avec un pourcentage de (24 %). L'étude électrochimique de l'extrait éthanolique obtenu par soxhlet ainsi que des trois extraits obtenus par ultrasons montre que les courbes de polarisation obtenues présentent une linéarité bien explicite dans le domaine cathodique, ce qui indique que la loi de Tafel est bien vérifiée et que la réaction de décharge de proton est sous contrôle d'activation pure. Suite aux résultats de la spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE), les diagrammes d'impédance se caractérisent par une seule constante de temps indiquant que le processus de corrosion est contrôlé par l'étape de transfert de charges. Il est à noter aussi que l'efficacité inhibitrice de l'extrait éthanolique obtenu par soxhlet augmente avec l'augmentation de la concentration jusqu'à atteindre une efficacité maximale de 90 % à 0.3 gL^{-1} . Tandis que, les extraits hydro-éthanolique et éthanolique obtenus aux ultrasons présentent une efficacité plus importante à une concentration plus faible (91 % à 0.01 gL^{-1}) et (89 % à 0.01 gL^{-1}) respectivement. Ceci pourrait être expliqué par la teneur élevée en phénols totaux spécialement, les tanins condensés. Pour confirmer ce résultat, nous avons étudié l'action inhibitrice de corrosion de la fraction n-butanolique riche en flavonoïdes et de la fraction d'acétate d'éthyle riche en tanins condensés ainsi que des deux standards, la quercétine et la catéchine. Les résultats indiquent que l'efficacité inhibitrice de la fraction n-butanolique de 87.56 % à 0.15 gL^{-1} est due principalement à la famille des flavonoïdes et que la quercétine joue le rôle d'un accélérateur de corrosion. La fraction d'acétate d'éthyle présente une efficacité de 93.2 % à 0.15 gL^{-1} qui est due à la molécule de catéchine présentant une efficacité de 92.32 % à $10 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. A partir de ces résultats, nous pouvons que l'action inhibitrice de *l'A. visnaga* est due à la famille des

tanins condensés spécialement la catéchine et que l'adsorption de cette molécule à la surface de l'acier doux suit l'isotherme de Temkin et celle d'El-Awady.

Les résultats de la valorisation des biodéchets des stigmates *Z.mays* montrent que le screening phytochimique des différents extraits, éthanoliques et hydro-éthanoliques obtenues par les deux méthodes d'extraction étudiées est caractérisé par la présence importante des flavonoïdes, des phénols et des glycosides et par une faible présence en alcaloïdes et en tanins. Le rendement de l'extraction aux ultrasons, en considérant les trois solvants, éthanolique, hydro-éthanolique et aqueux varie entre 18.3 % à 22.6 %, dont le plus élevé est obtenu par le solvant hydro-éthanolique à 70 %. Quant à l'extraction par soxhlet, le résultat montre le meilleur rendement par rapport l'extraction aux ultrasons (27.73 % à 32.35 %) ceci s'explique par la longue durée d'extraction et par un chauffage prolongé. Le rendement de l'extraction des composants chimiques dépend des plusieurs facteurs tels que le solvant, la durée de l'extraction, la température, le mode d'extraction ainsi que du matériel végétal et de sa partie traitée.

L'analyse quantitative montre que l'extrait hydro-éthanolique à 70 %, obtenu aux ultrasons, est caractérisé par une teneur importante en flavonoïdes (57.22 ± 3.5 mg EQ/g d'extrait) et en phénols totaux (230.94 ± 3.2 mg EAG/g d'extrait) par rapport aux extraits obtenus par soxhlet. Le fractionnement des composés phénoliques spécialement les flavonoïdes réalisés à partir de l'extrait hydro-éthanolique indique que les teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes sont importantes et montre également que la fraction n-butanolique présente un rendement de 8 % mais une teneur en phénols totaux de l'ordre de 296.20 mg EAG/g d'extrait ce qui correspond au taux le plus élevé par rapport aux autres fractions. La fraction n-butanolique est caractérisée également par une activité antioxydante très importante comparée aux autres fractions. L'analyse par HPLC montre que la molécule flavone représente le composé majoritaire de la fraction n-butanolique avec un pourcentage de 22.4 %.

Les études électrochimiques de l'extrait hydro-éthanolique (HE), de la fraction n-butanolique (FB) ainsi que du standard (flavone) a pour but de déterminer la molécule ou famille de molécules responsables de l'action inhibitrice de cet extrait

Les courbes de polarisation ne révèlent aucun comportement Tafélien dans la région anodique et que seulement les régions cathodiques ont une large gamme de linéarité, ce qui indique que la loi de Tafel est bien vérifiée et que la réduction de l'hydrogène est contrôlée par une cinétique d'activation pure. Les spectres d'impédance, obtenus en présence d'extrait hydro-éthanolique et de la fraction n-butanolique, mettent en évidence

l'apparition d'une deuxième constante de temps aux hautes fréquences et qui a été attribuée à la formation d'un film protecteur à la surface de l'acier. Tandis qu'en présence du flavone le diagramme d'impédance se caractérise par une seule constante de temps, ce qui indique que le processus de corrosion est contrôlé par l'étape de transfert de charges. Les résultats de SIE montrent que les valeurs des résistances de R_{ct} augmentent avec l'augmentation des concentrations en HE, en FB et aussi en flavone. Il est à noter que l'ajout de la fraction n-butanolique à la solution de corrosion génère une amélioration de la résistance totale avec un ordre de $626.78 \Omega \text{ cm}^2$ à 0.15 gL^{-1} contre la corrosion de l'acier doux en raison de la présence des flavonoïdes, notamment les flavones. On note qu'il n'y a pas de différence significative entre la résistance totale obtenue par la FB et la résistance obtenue par le flavone ($560.6 \Omega \text{ cm}^2$ à $1.5 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$) ce qui confirme que les flavones sont en bonne partie responsables de l'effet inhibiteur du FB. Ainsi la résistance totale obtenue par l'extrait hydro-éthanolique des stigmates de *Z.mays* est d'ordre de $974.9 \Omega \text{ cm}^2$ à 0.15 gL^{-1} . Elle est supérieure à celle obtenue par la fraction de FB.

L'étude thermodynamique nous a permis de suggérer la nature de l'interaction métal-inhibiteur. En effet, suite à l'évolution de l'efficacité inhibitrice en fonction de la température et aux paramètres cinétiques d'activation et thermodynamiques d'adsorption calculés, les molécules de flavonoïdes semblent s'adsorber à la surface de l'acier par le biais des liaisons de type chimique et ne suit aucun isotherme d'adsorption. Les résultats montrent également l'existence d'une corrélation entre l'activité antioxydante et l'activité anticorrosion des extraits étudiés. Cette corrélation est confirmée par l'étude électrochimique de l'acide ascorbique, antioxydant pur, ayant une efficacité inhibitrice de 86.01% à 0.15 mg mL^{-1} .

Notre étude a porté également sur la détermination des conditions optimales de l'extraction des polyphénols par ultrasons. Pour cela, l'évaluation de l'influence sur le rendement en extrait hydro-éthanolique et sur la teneur en phénols totaux des paramètres opératoires, en l'occurrence la concentration du solvant, le rapport masse de matière végétale sur quantité de solvant et le temps d'extraction aux ultrasons.

Les résultats de l'optimisation de l'extraction aux ultrasons des parties aériennes de *A.visnaga* ont montré que la teneur optimale en phénols totaux est de 178.58 mg EAG/g d'extrait hydro-éthanolique à 76 % pour une durée d'extraction de 36 mn et un rapport solvant/matière de 13 mL/g (~8% en matière végétale). Tandis que le rendement d'extraction optimal 18.77 % a été obtenu à une concentration en éthanol de 79 % pour une durée d'extraction de 38 min, et un rapport solvant/matière de 11 mL/g , soit 9 % en

matière végétale. Les conditions opératoires optimales d'extraction sont obtenues pour un rendement de 20.95 %, et une teneur en phénols totaux de 199.65 mg EAG/g d'extrait hydro-éthanolique à 78%, une durée d'extraction de 38 mn et un rapport solvant /matière de 12 mL/g (~8% en matière végétale). .

Les résultats d'optimisation de l'extraction des stigmates de *Z.mays* ont montré que l'état optimal en phénols totaux est de 257.88 mg EAG/g d'extrait. Il a été obtenu pour une durée d'extraction de 40 mn, une concentration en éthanol de 68 % et un rapport solvant / matière de 11 mL/g. Afin d'aboutir à un rendement maximale en extrait hydro-éthanolique (20.50 %), les paramètres opératoires sont 59 %, 47 mn et 15 mL/g pour la concentration en éthanol, le temps d'extraction et le rapport solvant/matière respectivement.

Le rendement optimal de l'extrait hydro-éthanolique (31.37 %) et de la teneur en phénols totaux (253.87 mg EAG/g d'extrait) ont été obtenues pendant un temps d'extraction de 40 mn, un rapport éthanol: eau (70:30) et un rapport solvant / matière de 11 mL/g. Les résultats d'optimisation de l'extrait hydro-éthanolique de *l'A.visnaga* et des stigmates de *Z.mays* aux ultrasons montrent que les valeurs expérimentales obtenues sont en bonne adéquation avec les valeurs prévues, confirmant ainsi l'adéquation du modèle utilisé et le succès de la MSR pour l'optimisation des conditions d'extraction.

La dernière partie de ce travail, concerne la composition d'une formulation entre deux extraits hydro-éthanoliques de *l'A.visnaga* et des stigmates de *Z.mays*, HE(AV)/HE (ZM). Les résultats montrent que cette composition agit comme inhibiteur de corrosion efficace pour l'acier doux dans un milieu HCl 1 M et son efficacité d'inhibition augmente avec l'augmentation de la concentration en extrait jusqu'à ce qu'elle atteigne une efficacité de 96.55% à la composition, 0.01gL^{-1} HE (AV)/ 0.2gL^{-1} HE (ZM). Les courbes de polarisation ont révélé que ce mélange agit comme inhibiteur de type mixte avec une action anodique prédominante. Les études SIE ont été ajustées par le modèle de deux constantes de temps. Les paramètres cinétiques montrent un caractère de chimisorption pour l'adsorption des composants du mélange HE(AV)/HE(ZM) à la surface de l'acier doux. En outre, plus la température est élevée, plus l'efficacité d'inhibition est faible, ce qui montre que l'adsorption de cette formulation à la surface de l'acier doux est de type mixte : chimisorption prédominante et physisorption faible. L'influence du temps d'immersion de ce mélange sur l'efficacité a été étudiée et les résultats montrent que l'efficacité inhibitrice diminue avec le temps d'immersion. Les analyses par microscopie électronique à balayage (MEB/EDX) ont confirmé la formation d'un film protecteur adsorbé à la surface de l'acier doux.

Nous pouvons envisager pour la poursuite de ce travail, quelques perspectives :

- ✓ Poursuivre l'analyse des différents extraits et fractions obtenus par la chromatographie liquide à haute performance couplée la spectrométrie de masse.
- ✓ Réaliser des séparations et l'identification des molécules majoritaires dans chaque fraction phénolique.
- ✓ Etudier l'activité antioxydante des différents extraits et fractions d'extraits obtenus par des méthodes électrochimiques
- ✓ Etudier l'activité anti bactérienne pour le mélange de $0.01 \text{ gL}^{-1} \text{ HE(AV)}/0.2 \text{ gL}^{-1} \text{ HE (ZM)}$
- ✓ Tester le mélange $0.01 \text{ HE(AV)}/0.2 \text{ gL}^{-1} \text{ HE (ZM)}$ en tant qu'inhibiteur de corrosion causée par les bactéries et en tant qu'additif anticorrosif dans les industries particulièrement la peinture en phase aqueuse.
- ✓ Caractériser la surface de l'acier par d'autres techniques spectroscopiques de surface telles l'XPS, l'ESCA et l'AUGER
- ✓ Calculer le coût du mélange $0.01 \text{ HE(AV)}/0.2 \text{ gL}^{-1} \text{ HE (ZM)}$ pour une éventuelle application industrielle.

Les activités scientifiques durant la formation de doctorat

➤ Articles scientifiques :

1. **Sarra Aourabi**, Majid Driouch, Kenza Ammor, Mouhcine Sfaira, Mohamed Ebn Touhami, Fatima Mahjoubi ,**Evaluation of anticorrosion and antioxidant activities of extract of *Ammi visnaga***, *Anal. Bioanal. Electrochem*, Vol. 10, No. 7, 2018, 912-929
2. **S. Aourabi**, M. Driouch, M. Sfaira, F. Mahjoubi, B. Hammouti, K.M.Emran, **Influence of phenolic compounds on antioxidant and anticorrosion activities of *Ammi visnaga* extracts obtained ultrasonically in three solvent systems**, *Int. J. Electrochem. Sci.*, 14 (2019) 6376–6393, doi: 10.20964/2019.07.02
3. **S. Aourabi**, M. Driouch, M. Sfaira, F. Mahjoubi, B. Hammouti, C.Verma, Eno E. Ebenso, L. Guo, **Phenolic fraction of *Ammi visnaga* extract as environmentally friendly antioxidant and corrosion inhibitor for mild steel in acidic medium.**, *journal of molecular liquids*, <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.114950>
4. **S. Aourabi**, M. Driouch, M. Kadiri, F. Mahjoubi, M. Sfaira, B. Hammouti, K.M. Emran; **Valorization of *Zea mays* hairs waste extracts for antioxidant and anticorrosive activities of mild steel in 1M HCl environment**, *Arabian Journal of Chemistry*, Volume 13, Issue 9, September 2020, Pages 7183-7198
5. **S. AOURABI**, S. JENNAN, M. SFAIRA and F. MAHJOUBI, **Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Ammi visnaga* using response surface methodology**, *IJPSR*, 2019; Vol. 10(6): 2693-2699. E-ISSN: 0975-8232; P-ISSN: 2320-5148
6. **S. Aourabi**, M.Sfaira and F. Mahjoubi, **Optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenols content from *Zea mays* hairs (waste)** , *The Scientific World Journal*, Volume (10) 2020, ID 5072938, <https://doi.org/10.1155/2020/5072938>
7. **S. Aourabi**, M. Driouch, M. Kadiri, F. Mahjoubi, M. Sfaira , **synergetic effect between phenolic extracts of *Ammi visnaga* and *Zea mays* formulation on the corrosion of mild steel in 1 M HCl solution**, Volume 2021, Article ID 5589175, 10 pages <https://doi.org/10.1155/2021/5589175>

➤ **Communications orales :**

Sarra Aourabi, Mouhcine Sfaira, Mohamed Ebn Touhami, Fatima Mahjoubi ,**Evaluation of anticorrosion and antioxidant activities of extract of *Ammi visnaga***, International conference on materials Environmental Science, Saidia , April 26-28,2018

Sarra Aourabi, Majid Driouch, Kenza Ammor, Mouhcine Sfaira, Mohamed Ebn Touhami, Fatima Mahjoubi, **Effect of solvent on phenolic compounds content and anticorrosion activities of extracts of *Ammi visnaga*** , V3D-2018 FEZ

Sarra Aourabi, Majid Driouch, Mouhcine Sfaira, Mohamed Ebn Touhami, Fatima Mahjoubi ,**Ethanollic extract of *Ammi visnag* as inhibitor of corrosion in acid Medium** , ICCEM'May 11-12,2017 , Al Hoceima

Sarra Aourabi, Mouhcine Sfaira, Fatima Mahjoubi, TRAMECH IX ,22-25 Novembre 2017, FEZ.

Sarra Aourabi, Mouhcine Sfaira, Fatima Mahjoubi, **Etude de l'action anticorrosion de l'extrait aqueux d'A.v collecte dans la région de Taounate**, RNE09, 18-19 Mai 2017 à Saidia.

➤ **Communications Affichées :**

Sarra.AOURABI, **FONJEC-16 –FSK** à Kenitra

Sarra Aourabi, Mouhcine Sfaira, Fatima Mahjoubi, **Inhibition de la corrosion d'un acier en milieu HCl par l'extrait éthanolique D'Av.** , RNE09,18-19 Mai 2017 à Saidia

Sarra Aourabi, Mouhcine Sfaira, Fatima Mahjoubi, **Valorisation des extraits de bio-déchets contre la corrosion de l'acier doux c38 en milieu HCl 1M**, V3D-2016

Sarra Aourabi, Mouhcine Sfaira, Fatima Mahjoubi, **5ème journée Nationale de la chimie de verte à la faculté des sciences de Tétouan** le 4-5 Novembre 2016

Sarra Aourabi, S.Jennan, Mouhcine Sfaira, Fatima Mahjoubi, **Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Ammi visnaga* using response surface Methodology** ,VAHVISTUS ,15-16 April 2019 ,FEZ

Sarra Aourabi, Mouhcine Sfaira, Fatima Mahjoubi, Etude de l'action anticorrosion de l'extrait aqueux d'A.v collecte dans la région de Taounate, RNE09, 18-19 Mai 2017 à Saida.

Sarra Aourabi, Majid Driouch, Kenza Ammor, Mouhcine Sfaira, Mohamed Ebn Touhami, Fatima Mahjoubi, Effect of solvent on phenolic compounds content and anticorrosion activities of extracts of *Ammi visnaga* , V3D-2018 Fes

